

Aus der
Klinik für Anaesthesiologie
und dem
Institut für Physiologie I
Abteilung für Herz- und Kreislaufphysiologie
der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

**Das zweite Fenster der Myokardprotektion der
ischämischen Präkonditionierung wird durch das
Öffnen von Adenosintriphosphat-
sensitiven Kaliumkanälen vermittelt**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Jan Fräßdorf

2001

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Heinrich Heine Universität Düsseldorf

Gez.: Dekan der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Univ. Prof. Dr. med. Dieter Häussinger

Referent: Priv. Doz. Dr. med. Wolfgang Schlack, DEAA

Koreferent: Univ. Prof. Dr. med. Volker Thämer

ARFF und seinen Freunden.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungen und Tabellen	2
Einführung	3
Literaturübersicht	5
DIE SIGNALTRANSDUKTION DES SWOP	5
TRIGGER DES SWOP	6
? <i>NO und reaktive Sauerstoffspezies</i>	6
? <i>Adenosin A₁-Rezeptoren</i>	6
? <i>Proteinkinase C</i>	7
? <i>Tyrosinkinasen</i>	7
? <i>Mitogen aktivierte Proteinkinasen</i>	8
? <i>Die Bedeutung des Hitzeschockproteins HSP27</i>	8
? <i>Die Bedeutung des Transkriptionsfaktors NF-κB</i>	9
? <i>Induzierbare NO-Synthase</i>	9
Methoden	12
CHIRURGISCHE PRÄPARATION	12
SWOP-PROTOKOLL	13
MYOKARDINFARKTPROTOKOLL	15
INFARKTGRÖßENBESTIMMUNG	17
STUDIENPROTOKOLL	18
DATENVERARBEITUNG	20
HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN	20
STATISTISCHE ANALYSEN	21
Ergebnisse	22
HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN	22
RISIKOGEBIET UND INFARKTGRÖSSE	25
Diskussion	28
DIE BEDEUTUNG DER K _{ATP} -KANÄLE	28
MITOCHONDRIALE K _{ATP} -KANÄLE UND MITOCHONDRIALE FUNKTION	30
EINFLUß DER INFARKTGRÖßE AUF DIE FUNKTIONELLE ERHOLUNG DER HERZEN	32
FEHLENDE KORRELATION DER GRÖßEN DES RISIKOGEBIETES UND DES INFARKTES	33
Methodenkritik	35
DAUER DER ISCHÄMISCHEN PRÄKONDITIONIERUNG	35
VORTEILE EINER WACHISCHÄMIE	35
INFARKTGRÖßENBESTIMMUNG UND DAUER DER REPERFUSION	36
Ausblick	37
Literaturverzeichnis	39
Danksagung	47
Lebenslauf	48
Zusammenfassung	50

Abbildungen und Tabellen

ABBILDUNG 1. SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES SWOP-MECHANISMUS	5
ABBILDUNG 2. SIGNALTRANSDUKTIONSKETTE	11
ABBILDUNG 3. EKG WÄHREND DER WACHSCHÄMIE.....	14
ABBILDUNG 4. INSTRUMENTIERUNG DER HERZEN	16
ABBILDUNG 5. STUDIENPROTOKOLL	18
ABBILDUNG 6. HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN	23
ABBILDUNG 7. INFARKTGRÖÖE IN % DES RISIKOGEBIETES	26
ABBILDUNG 8. INFARKTGEWICHT GEGEN RISIKOGEBIET	27
TABELLE 1: HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN	24
TABELLE 2: INFARKTGEWICHTE.....	25

Einführung

Kurze subletale Perioden myokardialer Ischämien erhöhen die Toleranz des Myokards gegen die Folgen einer sich anschließenden längeren Ischämie. Dieses Phänomen wurde erstmals von Murry et. al. [1] beschrieben und ist seitdem als ischämische Präkonditionierung („preconditioning“ [PC]) bekannt. Myokardprotektion durch PC konnte bisher an allen untersuchten Säugetierspezies [2, 3, 4], einschließlich des Menschen, nachgewiesen werden [5]. Der initiale protektive Effekt der PC tritt unmittelbar nach dem ischämischen Stimulus auf und schützt das Myokard für ca. 1 bis 2 Stunden. Frühere Studien haben jedoch gezeigt, daß die Myokardprotektion der ischämischen Präkonditionierung ca. 24 Stunden nach der initialen präkonditionierenden Ischämie erneut auftritt und dann das Myokard für etwa 48 Stunden vor den Folgen einer Ischämie-Reperfusionssituation schützt [6]. Dieses Phänomen wurde als „späte Präkonditionierung“ oder „Zweites Fenster der Protektion“ („Second Window of Protection“ [SWOP]) [6] bekannt. Sowohl PC, als auch SWOP können durch eine Vielzahl von Stimuli ausgelöst werden, z.B. durch kurze Ischämien oder aber auch pharmakologisch durch Adenosin, Opioide oder Stickstoffmonoxyd-(NO-) Donatoren [7]. Daß durch das Öffnen von Adenosintriphosphat (ATP)-sensitiven Kalium (K_{ATP})-Kanälen ist wesentlich für die Kardioprotektion sowohl der frühen Phase der PC [8], als auch von pharmakologisch induziertem SWOP [9]. Unklar ist hingegen, ob auch das ischämisch induzierte SWOP über die Öffnung von K_{ATP}-Kanälen vermittelt wird.

Die Aufklärung des Pathomechanismus der PC und des SWOP hätte für den klinischen Alltag einen hohen Nutzen. Zum einen könnte möglicherweise vor einer geplanten Myokardischämie, z.B. bei einer perkutanen transluminalen coronaren Angioplastie (PTCA) oder bei der koronaren Bypasschirurgie, eine Myokardprotektion durch Medikamentengabe erzielt werden, zum anderen könnte man in einer Situation, in der mit einer Ischämie und Reperfusion zu rechnen ist Substanzen meiden, die PC und SWOP blockieren. Ziel der hier vorliegenden Studie war es zu untersuchen, welche Rolle die Öffnung von K_{ATP}-Kanälen bei der durch eine kurze Ischämie aus-

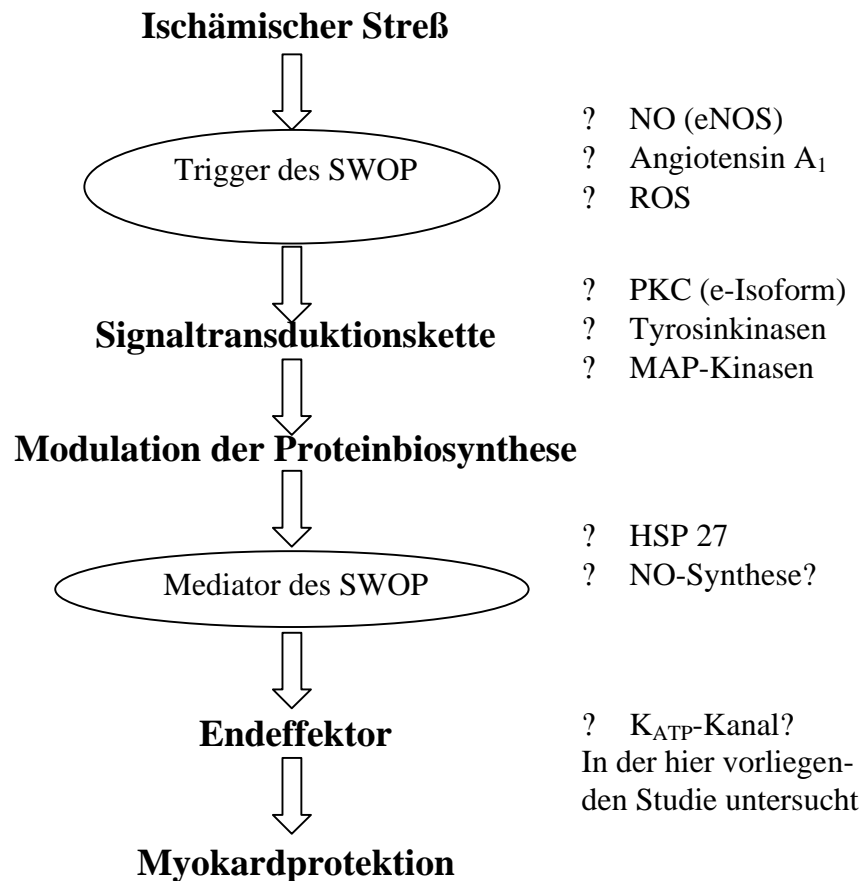
gelösten SWOP hat. Dazu wurde der spezifische K_{ATP} -Kanalblocker 5-Hydroxydecanoate (5-HD) eingesetzt.

Literaturübersicht

Die Signaltransduktion des SWOP

Trotz intensiver Untersuchungen ist die Signaltransduktionskette des SWOP bis heute nicht vollständig aufgeklärt. Diskutiert wird folgender Signaltransduktionsweg:

Abbildung 1. Schematische Darstellung des SWOP-Mechanismus



NO:	Stickstoffmonoxid
ROS:	Reaktive Sauerstoffspezies
PKC:	Protein Kinase C
MAP-Kinasen:	Mitogen-aktivierte Proteinkinasen
HSP27:	27 kD großes Hitzeschockprotein
K _{ATP} -Kanal:	ATP-sensitiver Kaliumkanal

Trigger des SWOP

? NO und reaktive Sauerstoffspezies

Die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), darunter vor allem Peroxynitrit (ONOO^-) und Hydroxylradikale ($\cdot\text{OH}$), spielt eine wichtige Rolle während der SWOP induzierenden Ischämie [7]. Stickstoffmonoxyd (NO) gilt als die „Quelle“ der ROS während der präkonditionierenden Ischämie. NO entsteht durch die Oxydation von L-Arginin durch eine Gruppe von Isoenzymen, den NO-Synthasen (NOS). Man kennt zwei konstitutive und eine induzierbare Isoform der NOS (iNOS). Die konstitutiven NOS sind zum einen die endotheliale NOS (eNOS) und zum anderen die neuronale NOS (nNOS). Die NO-Synthese wird durch Kalzium und NADPH stimuliert. Nach einer kurzen Ischämie könnte die NO Produktion durch diesen Reaktionsweg gesteigert sein, da während der Ischämie NADPH und Kalzium in der Zelle kumulieren und mit Beginn der Reperfusion der benötigte Sauerstoff als Reaktionspartner wieder zur Verfügung steht. Mit Beginn der Reperfusion entstehen vermehrt Superoxydanionen, die mit NO unter der Bildung von ONOO^- -Ionen reagieren. ONOO^- -Ionen sind sehr reaktionsfreudig und instabil. Dadurch entstehen zu Beginn der Reperfusion die oben erwähnten Hydroxylradikale. Bolli und Mitarbeiter schlußfolgern daraus, daß NO der Trigger des SWOP ist.

? Adenosin A_1 -Rezeptoren

SWOP ist nicht nur durch kurze Ischämien sondern auch pharmakologisch induzierbar. Sowohl Opiate [10] und Monophosphoryl A (ein abgeschwächtes bakterielles Endotoxin) [11], als auch Adenosinrezeptoragonisten (CCPA und Adenosin) [12] können SWOP induzieren. Inwieweit diese Rezeptoren bei der Myokardprotektion des ischämisch induzierten SWOP involviert sind, ist bislang nicht geklärt. Aus Untersuchungen zur Signaltransduktion des klassischen PC ist bekannt, daß Adenosin,

Opiate und Bradykinin über einen G-Protein gekoppelten Mechanismus die Phospholipasen C (PLC) und D (PLD) aktivieren. Dies führt zur Freisetzung von Diacylglycerol (DAG). Diacylglycerol induziert die Translokation und Aktivierung der Proteinkinase C (PKC). NO und ROS aktivieren die Proteinkinase C sowohl über die Aktivierung von PLC und PLD als auch direkt [13].

? **Proteinkinase C**

Sowohl pharmakologische, als auch ischämische SWOP-Induktion führen zu einer Translokation und somit der Aktivierung der Proteinkinase C. Die Myokardprotektion, die durch die Gabe von Adenosinrezeptoragonisten [14], Monophosphoryl A [15] und NO [16] oder durch eine präkonditionierende Ischämie [17] induziert wird, konnte durch Hemmung der PKC durch Chelerythrinchlorid blockiert werden. Die direkte Stimulation der PKC durch Phorbol-12-myristat-13-acetat (PMA) führt zu einer im Vergleich zu SWOP gleichen Infarktgrößenreduktion, ohne daß ein vorheriger ischämischer Stimulus nötig ist [7]. Von den 11 Isoformen der PKC konnte von Qiu und Mitarbeiter [17] gezeigt werden, daß die Isoform ? an der Signaltransduktion des SWOP am Kaninchenherzen beteiligt ist.

? **Tyrosinkinasen**

Imagawa und Mitarbeiter [18] konnten zeigen, daß auch die Tyrosinkinasen an der Signaltransduktion des SWOP beteiligt sind. SWOP aktiviert selektiv zwei der Tyrosinkinasen (Src und Lck). Durch Blockade der PKC ist auch die Aktivierung der beiden Tyrosinkinasen nicht mehr nachweisbar. Dies deutet daraufhin, daß die Tyrosinkinasen erst nach der PKC-Translokation aktiviert werden.

? **Mitogen aktivierte Proteinkinasen**

Dana und Mitarbeiter [14] berichteten erstmalig, daß die p38-mitogen aktivierte Protein- (MAP)- Kinase (p38MAPK) Aktivität nach pharmakologisch induziertem SWOP in den so präkonditionierten Herzen signifikant erhöht ist. Für die p38MAPK- Aktivität konnte in früheren Studien gezeigt werden, daß diese durch verschiedene Streßsituationen, wie zum Beispiel Ischämie/ Reperfusion [19], und die Aktivierung von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, wie zum Beispiel dem A₁-Rezeptor, erhöht wird [20, 21, 22]. Da Dana u.a. nach Inhibition der PKC oder der Tyrosinkinasen die erhöhte Aktivität der p38MAPK nicht mehr nachweisen konnten, scheint p38MAPK distal der PKC und der Tyrosinkinasen in die Signaltransduktion des SWOP involviert zu sein.

? **Die Bedeutung des Hitzeschockproteins HSP27**

HSP27 ist ein 27 kD schweres Hitzeschockprotein. HSP 27 hat eine direkte zytoprotektive Aktivität, die durch die Phosphorylierung des HSP27 verstärkt wird. Die Zytoprotektion wird durch eine Stabilisierung des Aktin Zytoskelettons vermittelt [23]. SWOP führt nicht zu einer verstärkten Expression von HSP27 [24], sondern zu einer Freisetzung des HSP27 aus Membranen in das Zytosol. Nach pharmakologisch induziertem SWOP liegt das HSP27 überwiegend in phosphorylierter Form vor, während in nicht präkonditionierten Herzen HSP27 überwiegend nicht phosphoryliert ist. Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen HSP27 und SWOP konnte bisher nicht gezeigt werden, da zur Zeit keine selektiven Blocker des HSP27 zur Verfügung steht. Es wird aber vermutet, daß sowohl p38MAPK, als auch HSP27 die Öffnungswahrscheinlichkeit für K_{ATP}-Kanäle erhöhen [25].

? **Die Bedeutung des Transkriptionsfaktors NF- κ B**

Xuan und Mitarbeiter [26] konnten zeigen, daß der Transkriptionsfaktor NF- κ B an der Entstehung der Myokardprotektion des SWOP beteiligt ist. Die durch SWOP gesteigerte NF- κ B- Aktivität ist nach Blockade der NOS Aktivität, der ROS- Entstehung, der PKC oder der Tyrosinkinase nach ischämischer SWOP- Induktion nicht mehr nachweisbar. Xuan und Mitarbeiter schlußfolgern daraus, daß die erhöhte NF- κ B- Aktivität durch NO und ROS induziert wird und von der Anwesenheit der PKC und von Tyrosinkinase abhängig ist.

? **Induzierbare NO-Synthase**

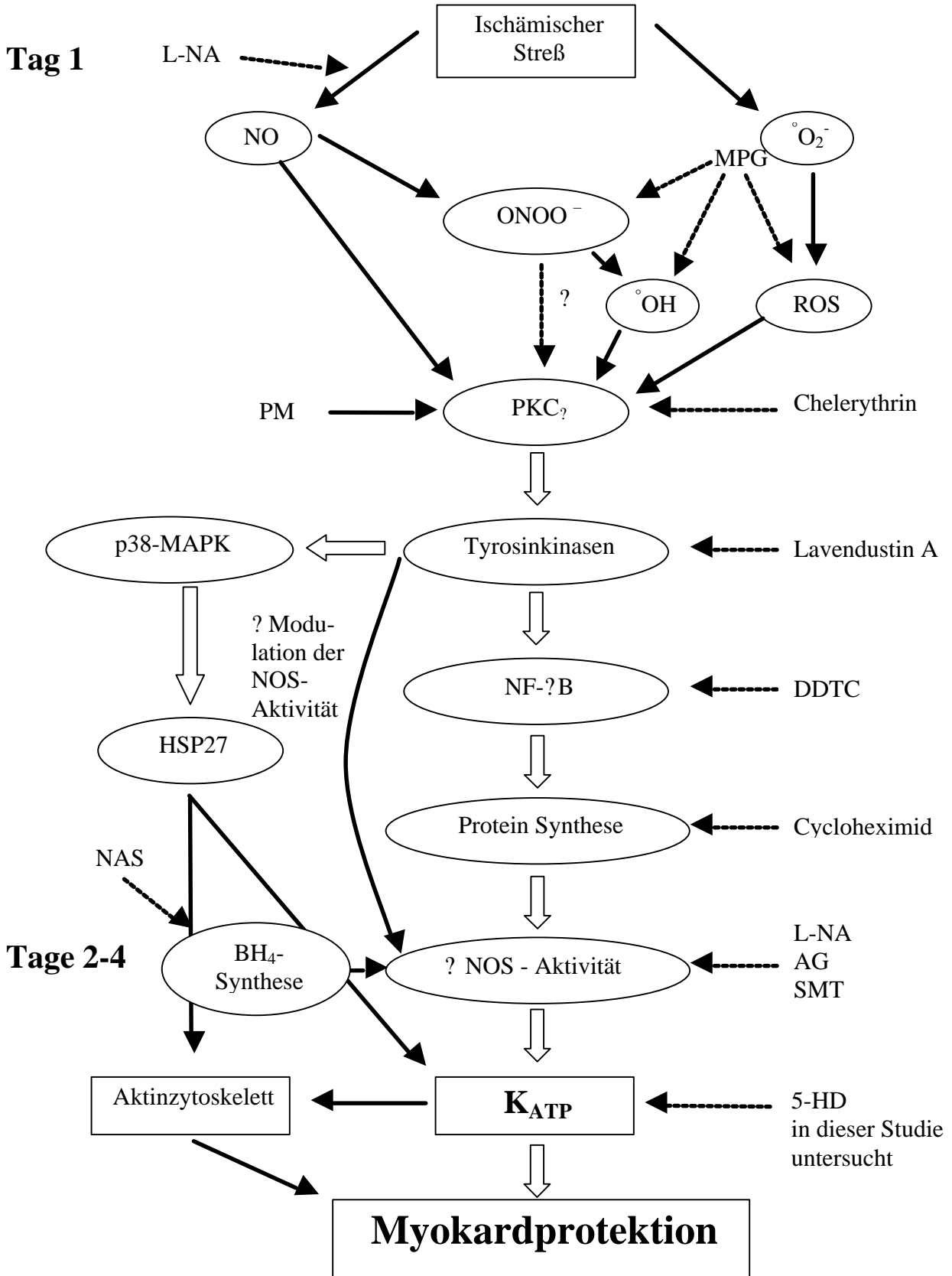
NF- κ B ist ein Hauptmodulator der iNOS Aktivität [27]. Durch eine gesteigerte NF- κ B- Aktivität wird mehr iNOS exprimiert. Dadurch wird während der zweiten, infarktinduzierenden, Ischämie mehr NO freigesetzt. Über welchen Mechanismus die gesteigerte NO-Bildung während der langen infarktinduzierenden Ischämie kardio- protektiv wirkt, war lange Zeit ungeklärt. Sasaki und Mitarbeiter konnten nachweisen, daß NO selektiv die mitochondrialen K_{ATP}-Kanäle an isolierten Myozyten öffnet [28]. Es ist also vorstellbar, daß es durch die gesteigerte NO-Freisetzung während der infarktinduzierenden Ischämie zu einer gesteigerten Öffnung von K_{ATP}-Kanälen kommt. In der hier vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von K_{ATP}-Kanälen auf die Myokardprotektion durch SWOP untersucht. Hierzu haben wir den selektiven K_{ATP}- Kanalblocker 5-HD eingesetzt.

Zusammenfassend ist auf der folgenden Seite schematisch die wahrscheinliche Signaltransduktionskette des SWOP dargestellt [Abbildung: 2].

Folgende Abkürzungen werden in der Graphik verwendet:

Tag 1:	SWOP induzierende Ischämie
Tage 2-4:	Myokardinfarkt induzierende Ischämie
NO:	Stickstoffmonoxyd
L-NA:	N-nitro-L-Arginin, NO-Synthase Inhibitor
$^{\circ}\text{O}_2^-$:	Sauerstoffradikal
ONOO^- :	Peroxynitrit
$^{\circ}\text{OH}$:	Hydroxylradikal
ROS:	reaktive Sauerstoffspezies
MPG:	Mercaptopropionylglyzin (Inhibiert die Bildung von ONOO^- , $^{\circ}\text{OH}$ und ROS)
PMA:	Phorbol-12-myristat-13-acetat, Direkte Aktivierung der PKC
PKCe:	Protein Kinase C Isoform e
p38-MAPK:	38 kD große mitogen- aktivierte Proteinkinase
NF- κ B:	Transkriptionsfaktor
DDTC:	Diethyldithiocarbamat, NF- κ B Inhibitor
HSP27:	27 kD großes Hitzeschockprotein
AG:	Aminoguanidin, relativ selektiver iNOS- Inhibitor
SMT:	S-Methylisothioharnstoff; relativ selektiver iNOS- Inhibitor
BH_4 :	Tetrahydrobiopterin, Agens der NO- Biosynthese
NAS:	N-acetylserotonin, Sepiaterinreduktase Inhibitor, Sepiaterinreduktase ist an der Synthese von BH_4 beteiligt
NOS:	NO-Synthase
5-HD:	5-Hydroxydecanoate, selektiver Blocker der K_{ATP} -Kanäle

Abbildung 2. Signaltransduktionskette



Die vorliegende Studie wurde nach Genehmigung durch den Regierungspräsidenten Düsseldorf durchgeführt.

Methoden

Chirurgische Präparation

Nach Lokalanästhesie mit einer Lidocain- und Prilocainhaltigen Salbe (EMLA[?]) wurde bei 36 weißen Neuseeländerkaninchen mit einem Gewicht von 2,7 - 3,4 kg (Mittelwert 2,9 kg) Körpergewicht (KG) die laterale Ohrvene punktiert. Die Anästhesie wurde dann intravenös (i.v.) mit Xylazin (STRESNIL[?], 6 mg/ kg KG), Ketamin (KETANEST[?], 6 mg/ kg KG) und Propofol (DISOPRIVAN[?], 10 mg/ kg KG) eingeleitet. Die Trachea wurde intubiert (Tubus 3,0 mm innerer Durchmesser) und die Lungen mit einem Neugeborenenbeatmungsbeutel beatmet. Die linke Thoraxwand wurde rasiert und die Haut mit einem Antiseptikum (BRAUNOL[?]) desinfiziert. Die Tiere wurden dann in den Operationssaal gebracht und die Lungen maschinell ventiliert (Sulla 808, Dräger AG, Lübeck, Deutschland). Die Beatmungsfrequenz lag zwischen 30 - 35 / min und das Tidalvolumen zwischen 15 und 20 ml. Die Beatmung wurde so eingestellt, daß der endexpiratorisch gemessene Kohlendioxidpartialdruck bei 35 mmHg (Datex Capnomac Ultima, Division of Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland) lag. Die Anästhesie wurde durch die Beimengung von 2 - 4 Vol% Isofluran (ISOFLURAN[?]) zum Atemgasgemisch aufrechterhalten. Alle chirurgischen Eingriffe an den Kaninchen wurden unter Einhaltung steriler Kautelen durchgeführt. Cephazolin (GRAMAXIN[?], 35 mg / kg KG i.v.) wurde zur antibiotischen Prophylaxe gegeben. Nach linksseitiger lateraler Thorakotomie im vierten Intercostralaum wurde das Perikard durch eine kleine Inzision eröffnet. Ein Hauptast der linken Koronararterie wurde identifiziert und mit zwei 5-0 Prolenenähten mit einer atraumatischen Nadel (Ethicon 5/0, 1-metrisch, TF) umstochen. Der Abstand der

beiden Nähte betrug maximal 1mm. Im Regelfall wurde der Hauptast der linken Koronararterie im ersten Viertel der Strecke von der Herzbasis zur Herzspitze umstochen. Ein Spiraltubus (2,5 mm innerer Durchmesser, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland) wurde nach subkutanem Tunneln zwischen den beiden Schulterblättern ausgeleitet und an der Haut fixiert. Das „interne“ Ende des Tubus wurde in der Nähe der beiden Koronararterienumstechungen intrathorakal plaziert und mit dem Perikard vernäht und so fixiert. Die beiden Fädenpaare wurden durch den Tubus gezogen und so nach außen geleitet. Dann wurde das Lumen des Tubus mit Vaseline gefüllt, um die Ausbildung eines Pneumothoraxes zu verhindern. Nach Luftaspiration wurde der Thorax schichtweise verschlossen und die Wunde mit einem sterilen Verband versorgt. Postoperativ erhielten die Tiere Piritramid (DIPIDOLOR[®], 2 mg / kg KG) zur Analgesie und Amoxicillin (DUPHAMOX[®], 15 mg / kg KG) zur Infektionsprophylaxe. Die Wunde und der Tubus mit den ausgeleiteten Fäden wurden mit einer Weste (Kaninchen Weste, Größe M, Byron, Grand Island, NY, USA) geschützt.

SWOP-Protokoll

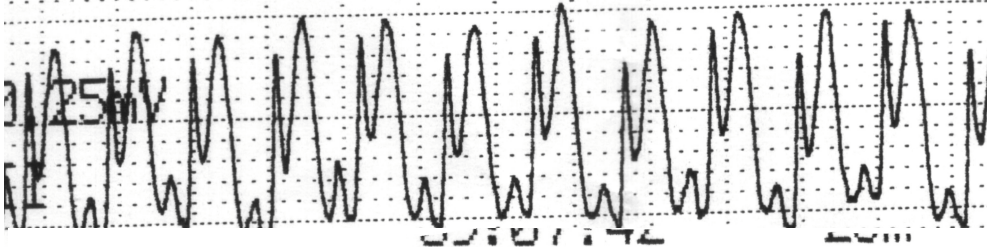
Innerhalb von 7 - 10 Tagen erholten sich die Kaninchen von dem operativen Eingriff. Nach dieser Erholungsphase wurde unter elektrokardiographischer (EKG)-Kontrolle (SC 9000, Siemens AG, Düsseldorf, Deutschland) ein Paar der Fäden für fünf Minuten zugezogen. Dadurch kam es zu einer Okklusion der Koronararterie mit nachfolgender Ischämie des abhängigen Versorgungsgebietes. Das Auftreten der Ischämie wurde anhand sofort auftretender ST-Strecken-Hebungen erkannt. Am Ende der fünfminütigen Koronararterienokklusion wurden die Fäden entfernt, um eine sichere Reperfusion sicherzustellen. Diese wurde durch die Rückbildung der EKG-Veränderungen innerhalb von 5 Minuten bei jedem Tier erkannt (s. Abb. 3).

Abbildung 3. EKG während der Wachischämie (25mm/s, 0,25mV/cm)

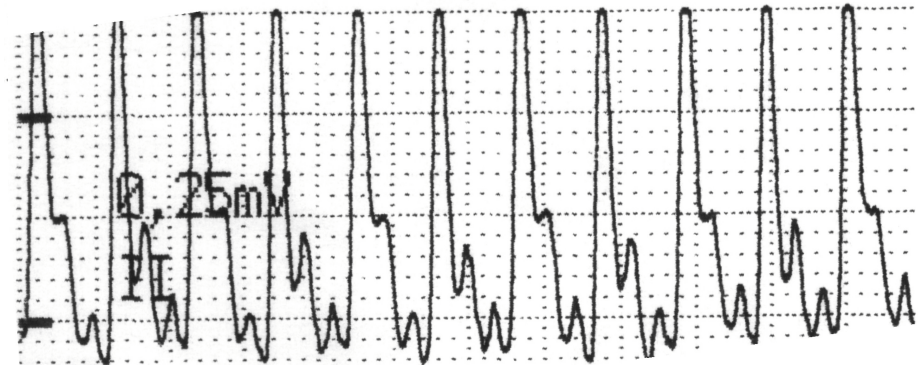
Ausgangsbedingungen



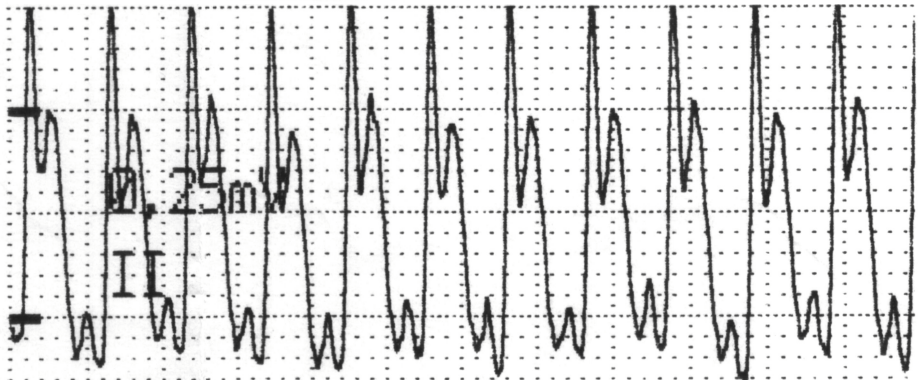
1 Minute Okklusion



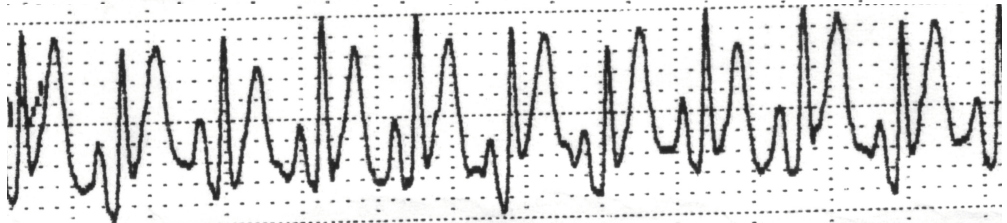
3 Minuten Okklusion



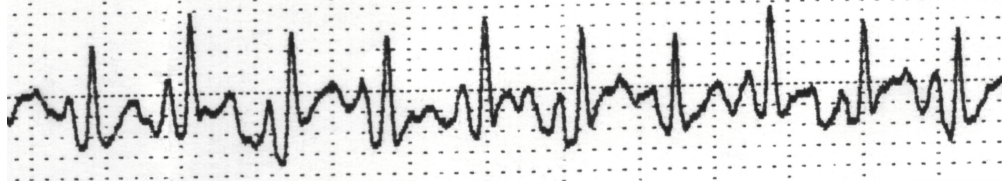
5 Minuten Okklusion



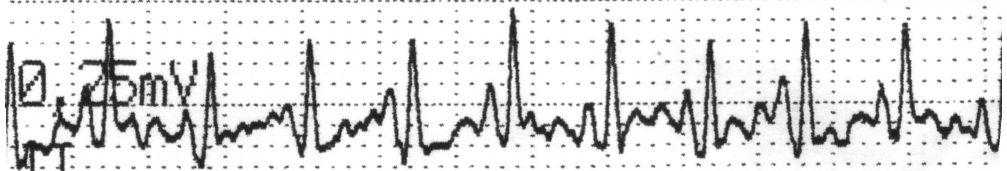
1 Minute Reperfusion



3 Minuten Reperfusion



5 Minuten Reperfusion



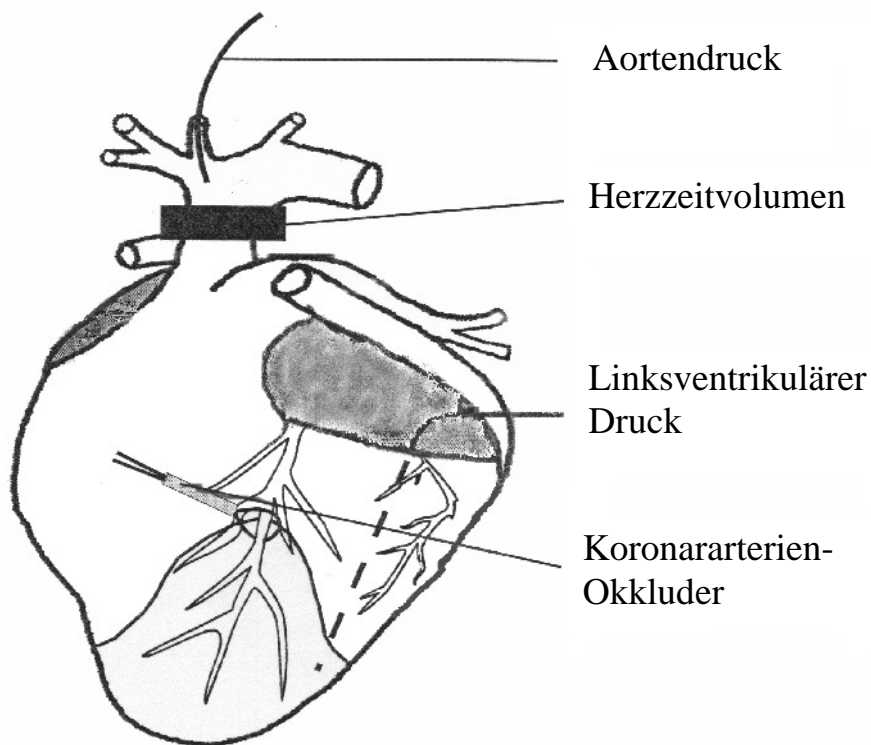
Myokardinfarktprotokoll

Nach Anlage eines venösen Zuganges (s. Chirurgische Präparation) wurde die Anästhesie bei den Kaninchen durch Propofol (10 mg / kg KG) eingeleitet und durch eine kontinuierliche Infusion von α -Chloralose (40 mg/ kg KG min) aufrechterhalten. Die Tiere wurden dann erneut endotracheal intubiert und maschinell beatmet (s. oben). Blutgasanalysen sowie die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration und des Hämatokrits wurden in regelmäßigen Intervallen durchgeführt (präoperativ, vor und nach der Studie). Eine suffiziente Narkosetiefe wurde anhand des Fehlens von Muskelbewegungen und des Ausbleibens von hämodynamischen Reaktionen auf chirurgische Stimuli nachgewiesen.

Bei den Tieren wurde erneut ein Oberflächen-EKG abgeleitet. Zur Messung des Aortendruckes wurde ein 20-Gauge Teflonkatheter über die linke Arteria carotis communis in den Aortenbogen eingeführt, mit Flüssigkeit (NaCl 0,9%) gefüllt und mit einem Drucktransducer (PD 23, Gould, Cleveland, Ohio, USA) verbunden. Nach Kanülierung der rechten Vena jugularis communis mit einer Venenverweilkanüle (VenflonTM, 1,2 mm, Becton Dickinson, Helsingborg, Schweden) erhielten die Tiere eine kontinuierliche Infusion einer physiologischen NaCl-Lösung (5 ml / kg KG h), um intraoperative Flüssigkeitsverluste zu ersetzen. Nach medianer Thorakotomie und Eröffnung des Perikardes wurde ein Ultraschallflußmeßkopf (4S, T208, Transonic System Inc., Ithaca, NY, USA) um die Aorta ascendens angebracht. Damit wurde das Herzzeitvolumen minus Koronardurchblutung (HZV) gemessen. Zur Messung des linksventrikulären Druckes wurde ein Katheterspitzenmanometer (Sensodyn S PO SF-1, Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) über den linken Vorhof in den linken Ventrikel eingebracht. Das verbliebene zweite Paar Fäden wurde durch den Tubus wieder in den Thorax gezogen. Anschließend wurde über die Fäden ein Plastikröhrchen gezogen. Mit diesem Okkluder konnte die Koronararterie später für 30 Minuten verschlossen werden. Die Temperatur wurde im Herzbeutel gemessen (GTH 1160, Digital Thermometer, Geisinger Elektronik, Deutschland) und mittels

einer Wärmematte und einer Infrarotlampe zwischen 38,3 °C und 38,7 °C konstant gehalten. Am Ende der Präparation wurden die Kaninchen mit 500 i.E. Heparin (LIQUEMIN[®]) heparinisiert. Nach einer 15 minütigen Stabilisierungsphase wurden die hämodynamischen Ausgangswerte registriert. Bis zum Ende des Versuches wurden die hämodynamischen Parameter in regelmäßigen Abständen erneut gemessen. Durch Verschluss der Koronararterie wurde bei allen Tieren eine 30 minütige Koronarschämie ausgelöst. Die Ischämie wurde anhand einer sofort auftretenden epikardialen Zyanose im abhängigen Versorgungsgebiet, sowie durch ST-Streckenhebungen im EKG verifiziert. Eventuell auftretendes Kammerflimmern wurde durch sofortige interne elektrische Defibrillation (5J, DCS 261 Defibrillator, Piekser, Ratingen, Deutschland) therapiert. Am Ende der 30 minütigen Koronarklusion wurde die erfolgreiche Reperfusion anhand des Sistierens der Zyanose und des Auftretens einer reaktiven Hyperämie identifiziert.

Abbildung 4. Instrumentierung der Herzen

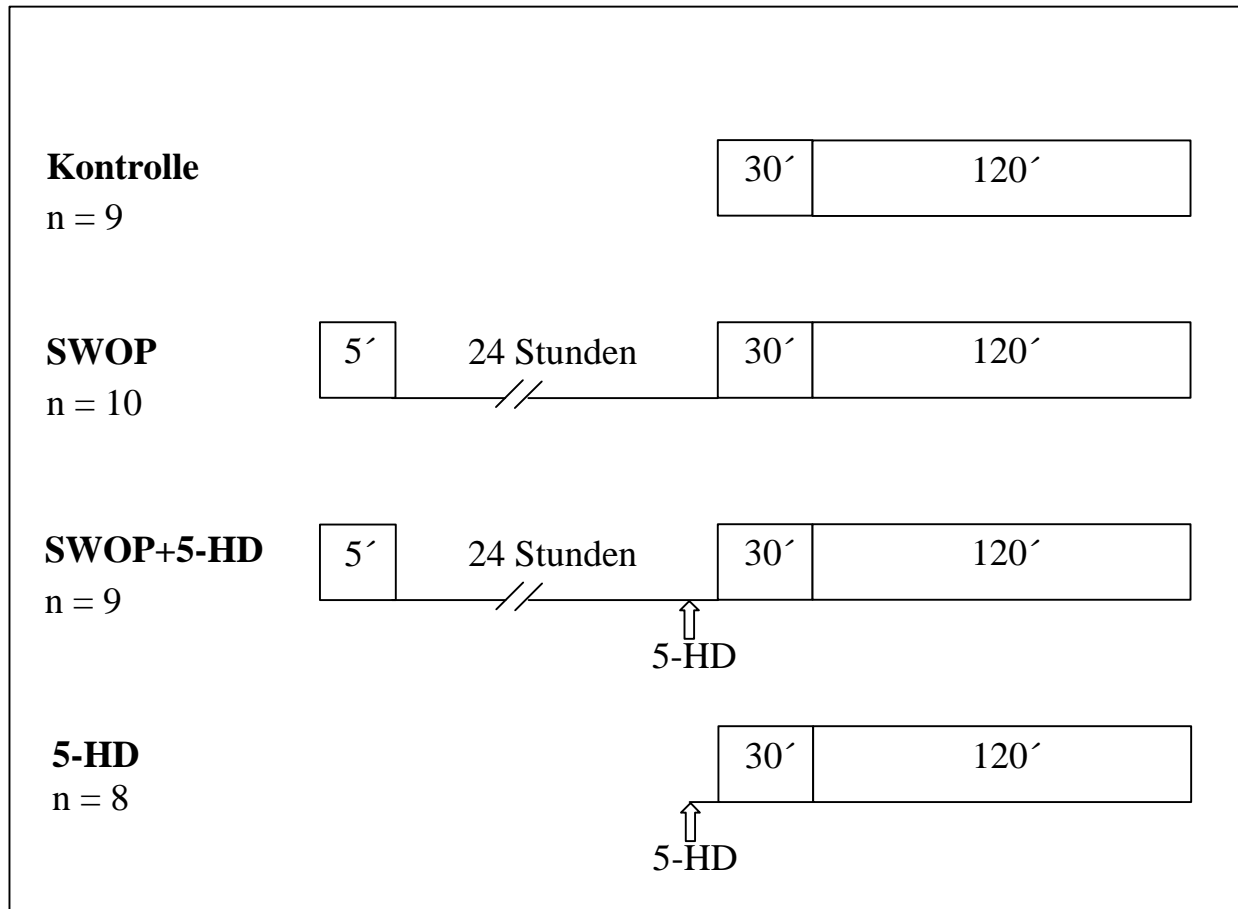


Infarktgrößenbestimmung

Nach zwei Stunden Reperfusion wurde das Herz durch Injektion von 20 ml eiskalter Kaliumchloridlösung (16 mmol/l) in den linken Vorhof stillgestellt, schnell entnommen und an eine modifizierte Langendorff-Apparatur überführt. An dieser wurde das Herz für fünf Minuten mit physiologischer Kochsalzlösung mit einem Perfusionsdruck von 40 cm Wassersäule perfundiert. Dadurch wurden Blutreste aus den Koronargefäßen ausgewaschen. Dann wurde die Koronararterie mit dem verbliebenen Okkluder erneut verschlossen und das Herz mit einer 0,2%igen Evans-Blau-Lösung für 10 min mit einem Perfusionsdruck von 40 cm Wassersäule perfundiert. Intravasculäre Evans-Blau-Lösung wurde danach durch erneute Perfusion mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen. Durch dieses Verfahren wurde das ischämisch-reperfundierte Gewebe (Risikogebiet) als ungefärbt identifiziert. Danach wurden die Herzen durch transversale Schnitte in 2 mm dicke Scheiben geschnitten und für 15 Minuten in einer gepufferten 0,75%igen Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung bei 38°C inkubiert. Durch diese Färbung erscheint vitales Gewebe rot während nekrotisches Gewebe nicht angefärbt wird. Die Größe des linken Ventrikels, des Risikogebietes und des Infarktes wurde mittels EDV-unterstützter Planimetrie bestimmt. Nach dem Trocknen (24 Stunden im Wärmeschrank bei 45°C) wurden alle Scheiben gewogen und so die Trockengewichte bestimmt. Die durch die Planimetrie bestimmten Flächen wurden dann im entsprechenden Verhältnis zum Trockengewicht der entsprechenden Scheibe als Gewichte errechnet.

Studienprotokoll

Abbildung 5. Studienprotokoll



5'	5 minütige präkonditionierende Myokardischämie
30'	30 minütige regionale Myokardischämie
120'	120 minütige Reperfusion
5-HD	i.v. Bolus von 5-HD (5 mg/ kg KG)

Die Tiere wurden vor dem ersten Eingriff randomisiert einer der vier Versuchsgruppen zugeteilt. Alle Kaninchen wurden einer 30 minütigen Myokardischämie, gefolgt von zwei Stunden Reperfusion unterzogen (s. Abb. 5). Die Tiere der Kontrollgruppe (KON, n = 9) wurden nicht ischämisch präkonditioniert. Auch die Tiere der 5-HD-Gruppe (5-HD, n = 8) wurden nicht präkonditioniert, erhielten aber 5 mg/ kg KG des K_{ATP} -Kanal Blockers 5-HD als Bolusinjektion 5 Minuten vor der 30 minütigen

Ischämie intravenös. In der SWOP-Gruppe (SWOP, n = 10) wurde SWOP durch eine 5 minütige Myokardischämie 24 Stunden vor der 30 minütigen Myokardischämie an wachen Tieren induziert.

Die Kaninchen der SWOP + 5-HD-Gruppe (n = 9) wurden wie die Tiere der SWOP-Gruppe präkonditioniert, erhielten aber fünf Minuten vor der 30 minütigen Ischämie 5 mg/ kg KG 5-HD als Bolusinjektion intravenös.

Datenverarbeitung

Der Linksventrikuläre Druck, dessen erste Ableitung nach der Zeit (dP/dt), der Aortendruck (AoP) und das HZV wurden kontinuierlich auf einen Mehrkanaltintenschreiber (Recorder 2800, Gould Inc., Cleveland, Ohio, USA) registriert. Zu den Meßzeitpunkten wurden die Daten mittels eines Analog-Digital-Konverters (Data Translation, Marlboro, MA, USA) digitalisiert und an einem Personalcomputer weiterverarbeitet.

Hämodynamische Variablen

Der Linksventrikuläre Spitzendruck (LVSD) und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{\max}) wurden als Maß für die globale systolische Funktion gemessen. Das Minimum des dP/dt (dt/dt_{\min}) definiert das Ende der Systole. Der Beginn des steilen Anstiegs des dP/dt_{\max} markiert das Ende der Diastole. Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDD) und die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation (?) wurden zur Beurteilung der linksventrikulären diastolischen Funktion herangezogen. Die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation berechnet sich aus:

$$P(t) = P_0 \odot \exp(-t/t)$$

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

Das Produkt aus Herzfrequenz (HF) und LVSD (RPP) wurde als wesentliche Determinante des myokardialen Sauerstoffverbrauches während der Okklusionen berechnet. Der systemische vaskuläre Widerstand (SVR) wurde aus dem mittleren AoP (AoP_{mean}) und dem HZV berechnet, unter der Annahme, daß bei geöffnetem Thorax der zentralvenöse Druck 0 mmHg beträgt.

Statistische Analysen

Vor Beginn der Studie führten wir eine Power-Analyse zur Berechnung der notwendigen Gruppengröße durch (Instat V 2.04a; Graph Pad Software, San Diego, Kalifornien, USA). Diese Berechnung ergab eine Gruppengröße von 10 Tieren pro Gruppe, um einen Unterschied der Infarktgröße von 33% mit einer Power von 95% nachweisen zu können.

Alle Daten sind als Mittelwert (MW) mit Standardabweichung (SD) angegeben. Um den Einfluß von K_{ATP} auf SWOP zu untersuchen führten wir eine zwei-Wege Varianzanalyse für Zeit- und Behandlungs- (Gruppen-) Effekte durch. Wenn ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen gefunden wurde, führten wir zu jedem Zeitpunkt eine Ein-Wege Varianzanalyse, gefolgt von Dunnets Post-Hoc-Test durch, wobei die SWOP-Gruppe als Referenzgruppe diente. Zeiteffekte innerhalb der Gruppen wurden mit einer Ein-Wege Varianzanalyse gefolgt von Dunnets Post-Hoc-Test mit den Ausgangswerten als Referenz untersucht. Unterschiede wurden ab einem P-Wert kleiner 0,05 als signifikant erachtet.

Ergebnisse

Ausschluß

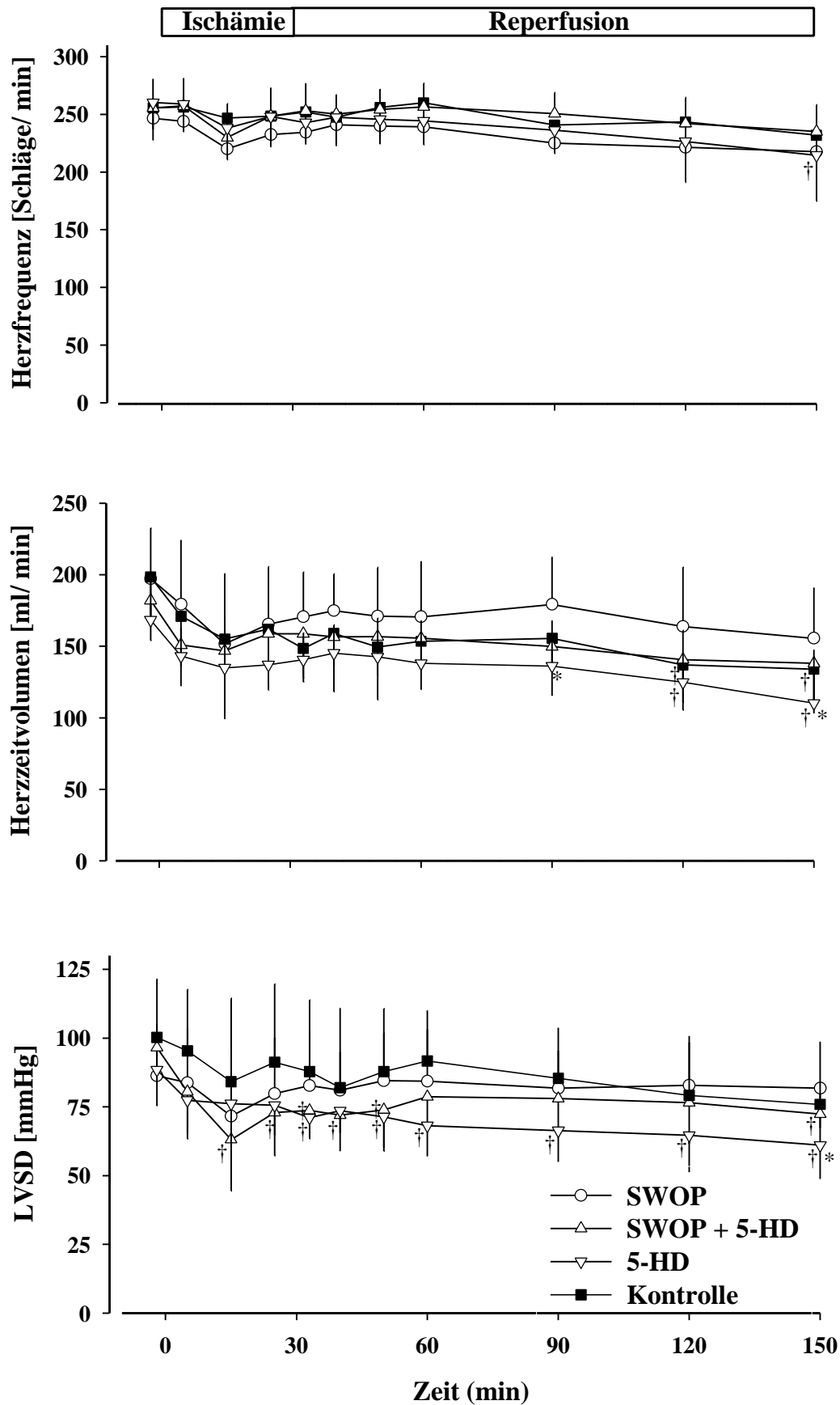
Insgesamt 40 Tiere wurden instrumentiert. 3 Tiere starben während, oder unmittelbar nach dem ersten operativen Eingriff (je 1 Tier SWOP+5HD, KON und 5-HD). Ein Tier der 5-HD-Gruppe verstarb während der langen Ischämie an therapierefraktärem Kammerflimmern. Von den restlichen 36 Tieren wurden komplette Datensätze erhoben.

Hämodynamische Variablen

Die hämodynamischen Daten sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Unter Ausgangsbedingungen unterschieden sich die Gruppen hinsichtlich des LVSD, des HZV und der Herzfrequenz (HF) nicht (s. Abb. 4). Die Bolusinjektion von 5 mg/ kg KG 5-HD führte zu einer Zunahme des AOP_{mean} von 75 ± 18 mmHg auf 79 ± 15 mmHg und des SVR von 420 ± 72 mmHg min L^{-1} auf 450 ± 64 mmHg min L^{-1} . In allen Gruppen führte die Koronarokklusion zu einer ähnlichen Verminderung des LVSD um $15 \pm 16\%$, des dP/dt_{max} um $22 \pm 20\%$ und des HZV um $17 \pm 17\%$ der Ausgangswerte. Hinsichtlich des RPP gab es keine Unterschiede während der 30 minütigen Koronarokklusion zwischen den Gruppen (alle Werte angegeben nach 25 min Koronarokklusion).

Nach zwei Stunden Reperfusion gab es keine Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich der hämodynamischen Parameter, mit Ausnahme des LVSD und des HZV in der 5-HD-Gruppe, welche statistisch signifikant niedriger waren im Vergleich zur SWOP-Gruppe (LVSD: 61 ± 12 mmHg versus 75 ± 23 mmHg, HZV: 110 ± 37 ml/ min versus 134 ± 25 ml/ min, jeweils 5-HD versus SWOP, $P < 0,05$).

Abbildung 6. Hämodynamische Variablen



* $P < 0,05$ versus SWOP, † $P < 0,05$ versus Ausgangsbedingungen

SWOP: späte Präkonditionierung, 5-HD: 5-Hydroxydecanoate

Tabelle 1: **Hämodynamische Variablen**

	Versuchsbeginn	Myokardischämie		Reperfusion			
		5′	25′	5′	15′	30′	120′
LVEDD [mmHg]							
Kontrolle	4,6 ± 2,7	7,3 ± 3,9	8,4 ± 4,7*	11,0 ± 6,5	8,1 ± 4,8*	6,4 ± 4,6	5,9 ± 3,5*
SWOP	7,1 ± 3,6	9,8 ± 3,2	14,7 ± 5,5 [†]	13,1 ± 4,0 [†]	13,1 ± 4,6 [†]	11,2 ± 3,3	12,5 ± 4,9
SWOP + 5-HD	9,1 ± 3,9	9,4 ± 2,0	9,9 ± 2,8	9,6 ± 2,3	9,8 ± 2,6	9,4 ± 3,4	9,9 ± 3,6
5-HD	6,0 ± 3,0	8,0 ± 3,8	9,6 ± 3,3	10,9 ± 3,0 [†]	9,5 ± 2,6	8,8 ± 1,7*	7,4 ± 2,4*
dP/ dt_{max} [mmHg s⁻¹]							
Kontrolle	5270 ± 1828	4517 ± 1894	4423 ± 1770	3377 ± 1732	3949 ± 1497	4403 ± 1158	3162 ± 1021
SWOP	4416 ± 1300	3750 ± 1157	3151 ± 896 [†]	3144 ± 687 [†]	3561 ± 597	3640 ± 752	3152 ± 641 [†]
SWOP + 5-HD	4750 ± 1615	3925 ± 1274	3753 ± 1012	3621 ± 1204	3741 ± 1052	3903 ± 1116	3623 ± 621
5-HD	4566 ± 957	3338 ± 698 [†]	3450 ± 780	2828 ± 433 [†]	2962 ± 612 [†]	3052 ± 697 [†]	2837 ± 970 [†]
SVR [mmHg min l⁻¹]							
Kontrolle	423 ± 127	495 ± 170	480 ± 111	462 ± 133	486 ± 112	497 ± 88	458 ± 129
SWOP	322 ± 81	385 ± 66	383 ± 54	369 ± 63	392 ± 41	392 ± 46	424 ± 86 [†]
SWOP + 5-HD	441 ± 72*	454 ± 98	383 ± 73	385 ± 85	393 ± 86	403 ± 77	401 ± 102
5-HD	455 ± 45*	482 ± 58	473 ± 60	417 ± 43	389 ± 31	397 ± 61	412 ± 99
RPP [mmHg min⁻¹10³]							
Kontrolle	25,8 ± 7,1	24,5 ± 6,2	23,1 ± 7,7	20,0 ± 7,7	21,9 ± 6,3	23,8 ± 5,3	17,9 ± 6,8
SWOP	20,9 ± 6,3	20,2 ± 6,2	18,2 ± 4,9	19,1 ± 4,2	20,6 ± 3,4	20,0 ± 3,8	17,8 ± 3,6
SWOP + 5-HD	25,0 ± 3,1	20,8 ± 4,3	18,4 ± 5,4 [†]	18,4 ± 4,0 [†]	18,8 ± 2,6	20,5 ± 3,6	17,4 ± 3,2 [†]
5-HD	23,0 ± 4,2	20,1 ± 3,7	18,9 ± 3,8	17,2 ± 2,5 [†]	17,1 ± 3,2 [†]	16,8 ± 3,7 [†]	13,5 ± 4,7 [†]
t [ms]							
Kontrolle	15,4 ± 6,2	16,4 ± 2,3	16,5 ± 3,2	19,7 ± 8,4	17,9 ± 3,4	15,6 ± 3,9	18,9 ± 5,1
SWOP	17,6 ± 4,1	19,8 ± 4,1	21,7 ± 5,0	19,2 ± 4,3	18,8 ± 3,7	18,3 ± 3,9	21,8 ± 4,8
SWOP + 5-HD	19,0 ± 3,9	20,7 ± 3,6	17,2 ± 3,2	18,2 ± 3,7	19,0 ± 1,7	19,5 ± 3,7	24,9 ± 10,1
5-HD	17,1 ± 3,3	20,0 ± 1,4	19,8 ± 2,0	19,1 ± 0,7	19,1 ± 1,9	20,3 ± 2,9	25,6 ± 6,2 [†]

Daten als MW ± SD. LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Druck; dP/ dt_{max} = maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit; SVR = Systemischer Widerstand; RPP = Herzfrequenz-Druck-Produkt; t = Zeitkonstante der isovolumetrischen links-ventrikulären Relaxation. SWOP = späte Präkonditionierung; 5-HD = 5-Hydroxydecanoate. [†] P<0,05 versus Ausgangsbedingungen; * P<0,05 versus SWOP-Gruppe

Risikogebiet und Infarktgröße

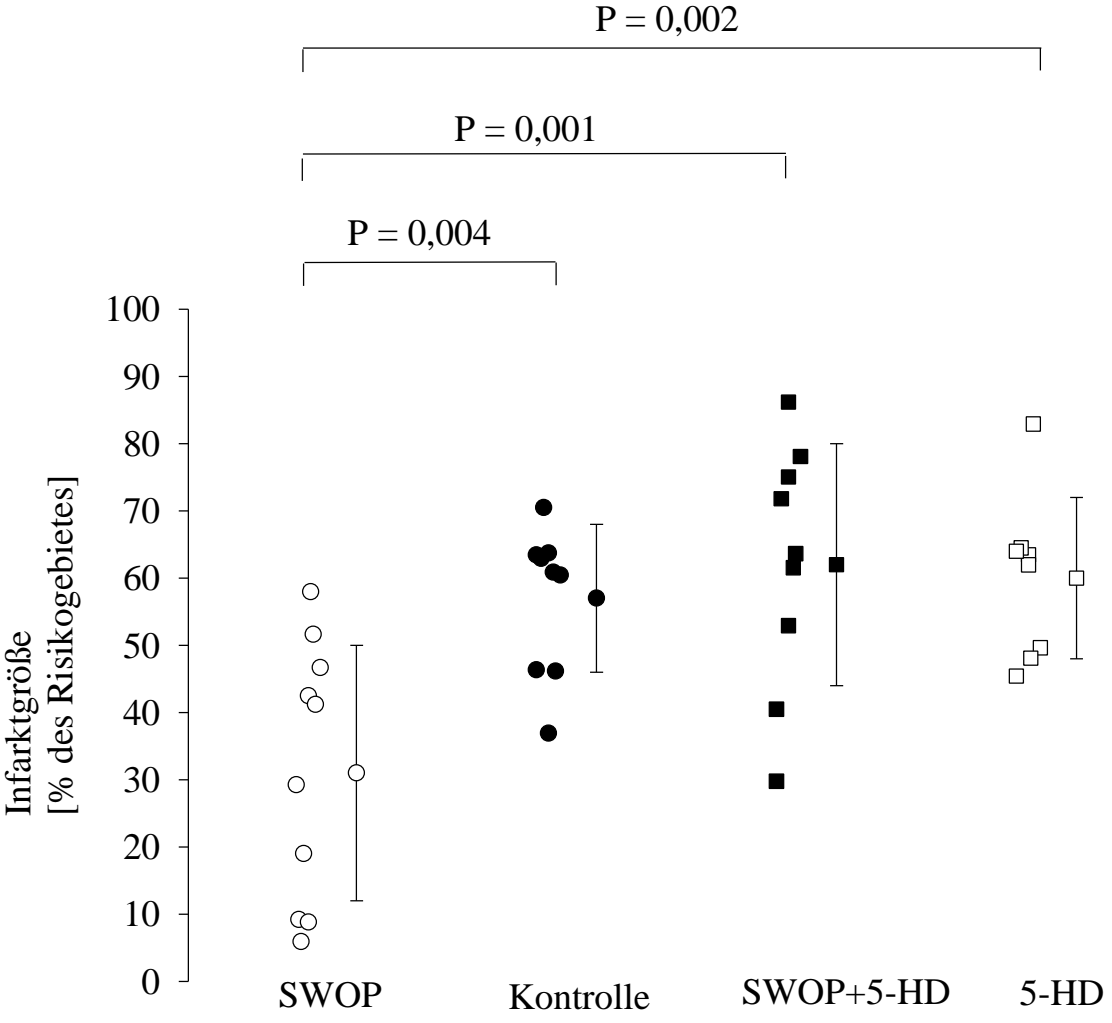
Das mittlere linksventrikuläre Trockengewicht betrug $0,82 \pm 0,23$ g und unterschied sich nicht innerhalb der vier Versuchsgruppen (Daten der einzelnen Gruppen in Tabelle 2). Das mittlere Trockengewicht des Risikogebietes betrug $0,36 \pm 0,17$ g und somit 45 ± 18 % des linken Ventrikels. SWOP reduzierte die Infarktgröße von 57 ± 11 % des Risikogebietes in der Kontrollgruppe auf 31 ± 19 % in der SWOP-Gruppe ($P = 0,004$; siehe Abb. 7). Die Gabe von 5-HD hatte in nicht präkonditionierten Tieren keinen Einfluß auf die Infarktgröße (60 ± 12 %: $P = 0,002$ vs. SWOP) blockierte aber in präkonditionierten Tieren den kardioprotektiven Effekt des SWOP (SWOP + 5-HD: 62 ± 18 %; $P = 0,001$ vs. SWOP).

Tabelle 2: Infarktgewichte

	Kontrolle	SWOP	SWOP + 5-HD	5-HD
Körpergewicht [g]	2833 ± 188	2854 ± 83	2943 ± 75	2837 ± 132
LV-Gewicht [g]	$0,81 \pm 0,11$	$0,89 \pm 0,36$	$0,89 \pm 0,19$	$0,66 \pm 0,10$
Risikogebiet [g]	$0,34 \pm 0,13$	$0,36 \pm 0,27$	$0,42 \pm 0,13$	$0,32 \pm 0,11$
Risikogebiet/ LV [%]	$44,1 \pm 19,0$	$40,4 \pm 21,9$	$48,0 \pm 14,8$	$49,8 \pm 17,8$
Infarktgröße [g]	$0,19 \pm 0,08$	$0,10 \pm 0,07$	$0,26 \pm 0,11^*$	$0,20 \pm 0,09$

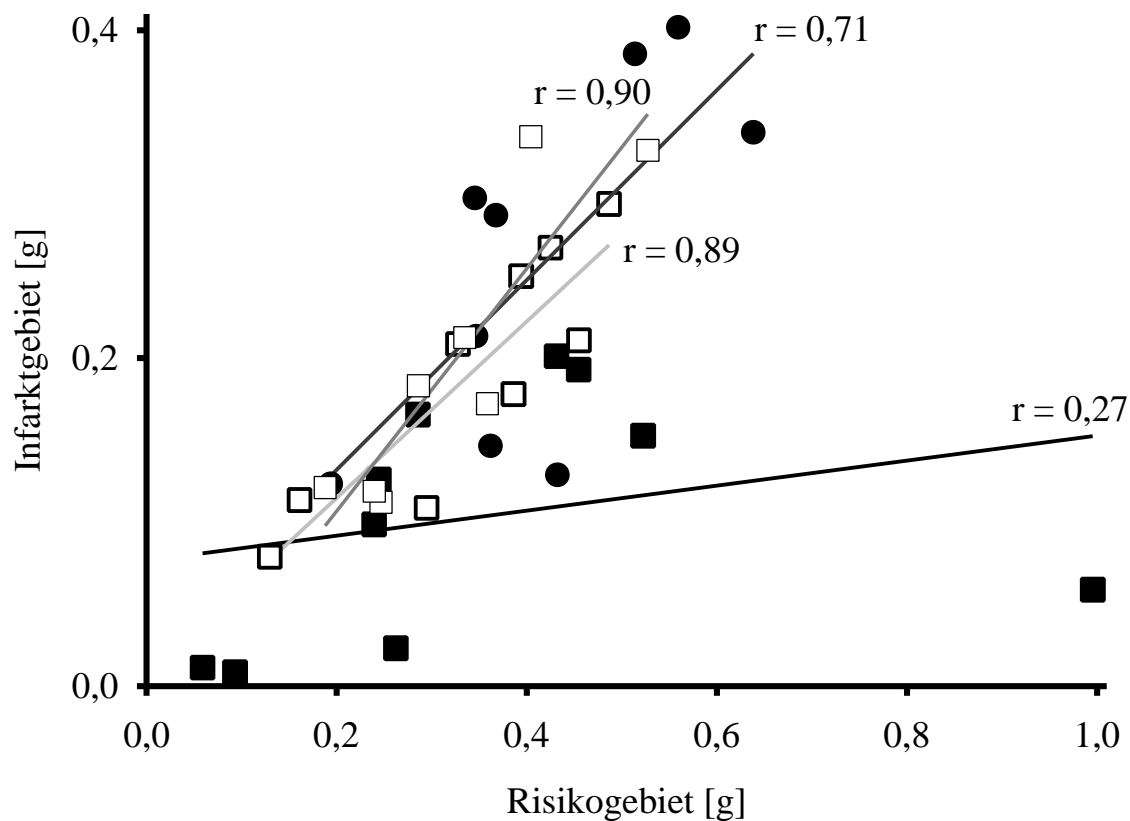
Daten sind MW \pm SD. LV = Linker Ventrikel; SWOP = Späte Präkonditionierung; 5-HD=5-Hydroxydecanoate. * $P < 0,05$ versus SWOP.

Abbildung 7. Infarktgröße in % des Risikogebietes



In Abbildung 8 ist das Infarktgewicht gegen das Gewicht des Risikogebietes aufgetragen. Die Steigungen der Regressionsgeraden der SWOP+5-HD-; 5-HD- und der Kontroll-Gruppe waren signifikant von null unterschiedlich ($P = 0,0014 - 0,0307$), die der SWOP-Gruppe dahingegen nicht ($P = 0,4453$). Der Korrelationskoeffizient betrug für die Kontrollgruppe 0,89, für die SWOP + 5-HD-Gruppe 0,71, für die 5-HD-Gruppe 0,90 und für die SWOP-Gruppe 0,27.

Abbildung 8. Infarktgebiet gegen Risikogebiet



- SWOP
— $y = 0,98 \pm 1,2 x + 0,26 \pm 0,15, r = 0,27$
- Kontrolle
— $y = 1,46 \pm 0,29 x + 0,06 \pm 0,06, r = 0,89$
- SWOP + 5-HD
— $y = 0,88 \pm 0,33 x + 0,19 \pm 0,09, r = 0,71$
- 5-HD
— $y = 1,09 \pm 0,05 x + 0,11 \pm 0,05, r = 0,90$

Diskussion

Wesentliches Ergebnis dieser Studie ist, daß die Myokardprotektion durch späte ischämische Präkonditionierung durch die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen vermittelt wird.

Als Endeffektor des pharmakologisch induziertem SWOP wurden, wie beim klassischen PC die K_{ATP} -Kanäle identifiziert [9]. Da die K_{ATP} -Kanäle durch verschiedene Pharmaka blockiert (Gilbenclamid [29], razemisches Ketamin [30]) bzw. geöffnet werden (Isofluran [29], Sevofluran [31]), eröffnet sich über diesen Mechanismus die Perspektive den stärksten bisher bekannten endogenen myokardialen Protektionsmechanismus gezielt pharmakologisch auszulösen. Wir haben in der vorliegenden Arbeit die Hypothese überprüft, ob die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen auch die Myokardprotektion des ischämisch induzierten SWOP vermittelt. Durch Behandlung von ischämisch präkonditionierten Kaninchen mit dem K_{ATP} -Kanalblocker 5-HD 24 Stunden nach der präkonditionierenden Ischämie konnten wir die SWOP vermittelte Myokardprotektion unterdrücken. 5-HD hat bei nicht präkonditionierten Kaninchen keinen Einfluß auf die Infarktgröße. Die Unterschiede in den Infarktgrößen zwischen den Versuchsgruppen waren nicht auf Unterschiede in der Hämodynamik, der Temperatur oder der Größe des Risikogebietes zurückzuführen. Die Myokardprotektion des ischämisch induzierten SWOP wird demnach, wie auch das pharmakologisch induzierte SWOP, durch das Öffnen von K_{ATP} -Kanälen vermittelt.

Die Bedeutung der K_{ATP} -Kanäle

K_{ATP} -Kanäle kommen ubiquitär im Körper vor und konnten bisher im Gehirn, dem Pankreas, dem Herz, der Niere und der Skelettmuskulatur nachgewiesen werden [32]. In den Zellen sind diese Rezeptoren sowohl in sarkolemmalen, als

auch in mitochondrialen Membranen nachweisbar [32]. Der K_{ATP}-Kanal besteht aus zwei Komponenten. Die eine Komponente ist eine einwärtsgerichtete Kaliumkanaleinheit (Kir). Vier dieser Einheiten bilden eine Kanalpore. Zur Zeit sind zwei verschiedene Kir-Typen (Kir6.1 und Kir6.2) identifiziert worden, die an K_{ATP}-Kanälen in verschiedenen Organen oder Zellelementen beteiligt sind [57]. Die zweite Komponente wird durch Sulfonylurearezeptoren (SUR) gebildet. Auch von SUR sind bisher zwei Subtypen, die SUR1 und SUR2, identifiziert worden. Die SUR sind als Regulatoren an der K_{ATP}-Kanal Öffnung beteiligt und verantwortlich für die Sensitivität der Kanäle für Pharmaka. Diese Kombination aus Kir und SUR scheint für die Selektivität einiger Kanalöffner bzw. Kanalblocker für K_{ATP}-Kanäle sowohl in verschiedenen Organen (z.B. Pankreas, Herz) als auch in verschiedenen Membranen (Sarkolemm versus Mitochondrien) verantwortlich zu sein. Das Öffnen von myokardialen sarkolemmlen K_{ATP}-Kanälen verkürzt die Aktionspotentialdauer und vermindert den Kalziumeinstrom in die Myozyten. Dadurch kommt es zu einer Abnahme der Kontraktilität des Myokards [33]. Dieser Mechanismus wurde lange Zeit als Wirkmechanismus der Myokardprotektion durch PC angesehen [34]. Yao und Gross konnten zeigen, daß PC durch einen K_{ATP}-Kanalöffner, Bimakalin, induziert werden kann, ohne daß die Aktionspotentialdauer verkürzt ist [35]. Munch-Ellingsen und Mitarbeiter und Grover und Mitarbeiter untersuchten die Bedeutung der Aktionspotentialverkürzung für die PC. Durch Gabe von Dofetilide, einem Klasse III Antiarrhythmikum (Kaliumkanalblocker), wurde die Aktionspotentialdauer während der infarktinduzierenden Ischämie verlängert. Trotzdem wurde die Myokardprotektion des PC dadurch nicht unterdrückt [36, 37]. Mit dem Kaliumkanalöffner Diazoxide konnten Garlid und Mitarbeiter eine der PC ähnliche Myokardprotektion induzieren [38]. Dabei zeigte sich, daß Diazoxide etwa 1000 mal sensitiver mitochondriale K_{ATP}-Kanäle öffnet, als sarkolemmlen [38]. Daher scheint die Myokardprotektion der PC am ehesten durch die Öffnung mitochondrialer K_{ATP}-Kanäle (mito K_{ATP}) vermittelt zu sein.

Bernardo und Mitarbeiter konnten zeigen, daß 5-HD die Verkürzung von Aktionspotentialen während einer Koronarokklusion bei Kaninchen *in vivo* verhindert [39]. Dies würde darauf hinweisen, daß 5-HD an sarkolemmalen K_{ATP} -Kanäle wirkt. Demzufolge müßte die Blockade der sarkolemmalen K_{ATP} -Kanäle durch 5-HD einen direkten proischämischen Effekt zeigen. Dies konnten wir in unserer Arbeit nicht zeigen, da die Infarkte in der 5-HD-Gruppe genauso groß waren, wie in unserer Kontrollgruppe. Darüber hinaus konnten mehrere andere Arbeitsgruppen zeigen, daß 5-Hydroxydecanoate ein K_{ATP} -Kanalb blocker ist, der eine große Spezifität für $mitoK_{ATP}$ zeigt [40, 38]. Daher bestätigen unsere Ergebnisse nicht nur die These, daß die Myokardprotektion des SWOP durch das Öffnen von K_{ATP} vermittelt wird, sondern vermutlich auch das Öffnen von mitochondrialen K_{ATP} -Kanäle für die Myokardprotektion des SWOP verantwortlich ist.

K_{ATP} -Kanäle konnten auch an glatten Muskelzellen von Gefäßen nachgewiesen werden [41]. Hier führt die Aktivierung dieser Kanäle zu einer Vasodilatation. Die Blockade der K_{ATP} -Kanäle durch 5-HD sollte demzufolge zu einer Vaskonstriktion führen. In unserer Studie führte die Injektion von 5 mg/ kg Körpergewicht 5-HD zu einer temporären Zunahme des AoP_{mean} und des systemischen Gefäßwiderstandes. Diese temporäre Zunahme kann durch die Wirkung von 5-HD auf das Gefäßsystem erklärt werden und spricht somit gegen eine ausschließliche Wirkung von 5-HD an myokardialen $mitoK_{ATP}$ -Kanal. Die Wirkung war aber nur von kurzer Dauer, da dieser Effekt mit Beginn der 30 minütigen Ischämie nicht mehr nachweisbar war.

Mitochondriale K_{ATP} -Kanäle und mitochondriale Funktion

Unter physiologischen Bedingungen wird der elektrochemisch begünstigte K^+ -Einstrom in die Mitochondrien durch den K^+/H^+ -Austauscher ausgeglichen und so das Matrixvolumen reguliert [42]. Das Öffnen von $mitoK_{ATP}$ würde zu einem netto Kaliumionen Einstrom in die Mitochondrien und so zu einer Schwellung

der Mitochondrien führen. Durch den K⁺/H⁺-Austauscher könnte aber auch der K⁺-Einstrom zu einem Zusammenbruch des Membranpotentials führen und so den Elektronentransfer entkoppeln. Dies könnte während einer Ischämie für die Zellen von Vorteil sein, da dies die ATP-Hydrolyse hemmt [38] und den elektrischen Gradienten reduziert, der den Kalziumioneneinstrom begünstigt [40]. Die mitochondriale Kalziumüberladung ist ein Pathomechanismus des ischämischen Zellschadens [43]. Somit könnte der stabilisierende Einfluß der mitoK_{ATP} auf die Kalziumhomoöostase der Mitochondrien während Ischämie und Reperfusion die Zellen schützen.

Auf welchem Weg die Öffnung mitochondrialer ATP-sensitiver Kaliumkanäle die Myokardprotektion des SWOP letztendlich vermittelt, ist jedoch nach wie vor ungeklärt.

Einfluß der Infarktgröße auf die funktionelle Erholung der Herzen

Die Infarktgrößenreduktion durch SWOP war nicht mit einer besseren funktionellen Erholung der Herzen verbunden. Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen von Bolli und Mitarbeiter [44], die zeigen konnten, daß Kaninchenherzen nach ischämischer SWOP Induktion eine verringerte kontraktile Dysfunktion (Stunning) haben. Im Unterschied zu unserem Modell setzte Bolli die Herzen aber keiner längeren infarktinduzierenden Ischämie aus. In dem von Bolli eingesetzten Modell wurden die Kaninchen an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils sechs Zyklen von vier Minuten Koronarokklusion gefolgt von vier Minuten Reperfusion ausgesetzt. Dies führte zu keinem Infarkt aber an den Tagen zwei und drei zu einer besseren funktionellen Erholung der kontraktilen Funktion. Als Maß der kontraktilen Funktion wurde von Bolli und Mitarbeitern die Wandverdickungsfraction mittels Ultraschall-dopplerkristallen gemessen. Auch von Cohen und Mitarbeiter [45] wurde die regionale Wandfunktion nach ischämischer Präkonditionierung als Maß der kontraktilen Myokardfunktion gemessen. Im Gegensatz zu Bolli und Mitarbeiter untersuchte Cohen dies aber nach klassischer früher Präkonditionierung. Cohen präkonditionierte die Tiere durch eine fünf minütige Ischämie 10 Minuten vor einer 30 minütigen Koronarischämie, wodurch Infarkte nachweisbar waren. Die Tiere wurden dann noch drei Tage lang nachbeobachtet und die funktionelle Erholung (bzw. Zunahme) der Wandverdickungsfraction registriert. Cohen und Mitarbeiter stellten fest, daß eine bessere funktionelle Erholung der Herzen nach ischämischer Präkonditionierung und einer 30 minütigen regionalen Myokardischämie frühestens nach einem Tag Reperfusion zu erwarten ist. Cohen erklärte dies damit, daß sich die Herzen nach der Ischämie im Stadium der reversiblen kontraktilen Dysfunktion (Stunning) befinden und dieses erst nach etwa 24 Stunden soweit rückläufig ist, daß es zu Unterschieden hinsichtlich der Funktion kommt. Die verbesserte Funktion resultiere dann aus dem kleineren Infarkt der Herzen, die ischämisch präkonditio-

niert wurden. Weder Bolli noch Cohen machen Angaben zu einer globalen Herzfunktion wie Blutdruck oder Ventrikeldruck. In der hier vorliegenden Studie konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich dieser Parameter beobachtet werden. Dies bedeutet, daß in dem von uns beobachteten Zeitraum die Reduktion der Infarktgröße durch ischämische Präkonditionierung nicht zu einer Verbesserung der globalen hämodynamischen Funktion der Herzen führt. Als mögliche Ursache kommt auch hier die reversible kontraktile Dysfunktion (Stunning) in Frage, da laut Cohen frühestens 24 Stunden nach der infarktinduzierenden Ischämie eine verbesserte myokardiale Kontraktilität bei präkonditionierten Herzen zu erwarten ist. Zudem betrug der Infarktgrößenunterschied zwischen der Kontroll- und der SWOP-Gruppe nur etwa 12% der gesamten Masse des linken Ventrikels. Möglicherweise ist dieser Unterschied zu klein, als daß daraus eine verbesserte linksventrikuläre Funktion resultieren würde.

Fehlende Korrelation der Größen des Risikogebietes und des Infarktes

Die Größe eines Myokardinfarktes wird unter anderem durch die Größe des Gebietes beeinflusst, daß der Ischämie ausgesetzt war [46]. Für Kaninchen konnte gezeigt werden, daß die Korrelation von Risikogebiet und Infarktgröße nicht für sehr kleine und sehr große Risikogebiete gilt. So kann man bei sehr kleinen Risikogebieten keine Infarkte nachweisen, da diese auch während einer Okklusion der versorgenden Koronararterie durch Diffusion oder durch retrograden Fluß über die Vv.thebesei mit Sauerstoff und Substraten versorgt werden [46]. Bei sehr großen Risikogebieten läßt sich hingegen keine weitere Zunahme der Infarktgröße trotz steigender Größe des Risikogebietes nachweisen. Daher ist die Beziehung von Risikogebiet und Infarktgröße beim Kaninchen nicht linear, sondern sigmoidal. Im mittleren Bereich verhalten sich sigmoidale Kurven annähernd wie eine Gerade. Da die Risikogebiete in dieser Studie sich im mittleren

Bereich der Kurve befanden, finden wir auch bei drei (KON, SWOP + 5-HD und 5-HD) unserer vier Versuchsgruppen eine sehr gute Korrelation ($r = 0,71-0,9$) von Infarktgröße und Größe des Risikogebietes. Die schlechte Korrelation in der SWOP-Gruppe ($r = 0,27$) kann durch die Myokardprotektion nach ischämischer Präkonditionierung erklärt werden: anscheinend wird durch die Präkonditionierung der Zusammenhang von Größe des Risikogebietes und Infarktgröße aufgehoben, d.h. die zunehmende Größe des Risikogebietes führt nicht zu einer linear zunehmenden Infarktgröße.

Methodenkritik

Dauer der ischämischen Präkonditionierung

Ischämische Präkonditionierung kann nicht nur am Herzen beobachtet werden, sondern auch an Nieren [47], Gehirnen [48] und Skelettmuskulatur [49]. Der Stimulus, der benötigt wird, um diese Gewebe ischämisch zu präkonditionieren ist unterschiedlich. Skelettmuskulatur muß z.B. drei mal einer 10 minütigen Ischämie gefolgt von 10 Minuten Reperfusion ausgesetzt werden um den protektiven Effekt der ischämischen Präkonditionierung zu erzielen [49]. Um SWOP bei Kaninchen zu induzieren ist eine fünf minütige Ischämie ausreichend. Weitere präkonditionierende Ischämien haben keine weitere Protektion des Myokardes zur Folge [50].

Vorteile einer Wachischämie

Bernardo und Mitarbeiter [39] konnten zeigen, daß die protektive Wirkung von SWOP durch 5-HD und Gilbenclamid aufgehoben wird. Bernardo und Mitarbeiter induzierten jedoch intraoperativ das ischämische SWOP bei mit Ketamin und Xylazin anästhesierten und thorakotomierten Kaninchen. Dieses experimentelle Vorgehen erschwert die Interpretation der Ergebnisse, da zum einen Ketamin sowohl K_{ATP}-Kanäle [51], als auch ischämische PC [30] blockiert, zum anderen durch das Operationstrauma die NOS stimuliert werden kann, und so die Signaltransduktionskette gestört sein könnte. Diese Störeinflüsse wurden in unserem Versuchsprotokoll berücksichtigt, da die das SWOP induzierende Ischämie an wachen Tieren durchgeführt wurde, und wir mit α -Chloralose ein Anästhetikum gewählt haben, von dem keine störenden Einflüsse auf die Signaltransduktionskette bekannt sind. Die Tiere wurden 14 Tage lang vor dem

ersten operativen Eingriff an die Situation der Wachischämie gewöhnt. Dadurch war es möglich, bei ruhigen wachen Tieren in einer Pyrobox die Wachischämie durchzuführen. Hierdurch wurden potentielle Beeinflussungen der Signaltransduktionskette durch „Streß“ vermindert.

Infarktgrößenbestimmung und Dauer der Reperfusion

Die Bestimmung der Infarktgröße mittels der Triphenyltetrazoliumchlorid-(TTC) Färbung ist eine anerkannte und gebräuchliche Methode zur Anfärbung von Myokardinfarkten [52, 53]. In vitalem Myokard wird TTC zu einem roten Formazanfarbstoff reduziert. Hierbei reagiert TTC mit membranständigen Diaphorasen, die NADH und NADPH als Ko-Faktoren benötigen. Bei frischen Infarkten wird durch das Fehlen der Ko-Faktoren die Reduzierung des TTC und somit die Bildung des roten Farbkomplexes verhindert. Bei älteren Infarkten spielt darüber hinaus das Fehlen der Diaphorasen und auch der Dehydrogenasen eine Rolle bei dieser Färbetechnik von Myokardinfarkten [54]. Mit Beginn der Reperfusion werden die Ko-Faktoren aus nekrotischen Zellen ausgewaschen. Dadurch werden nur vitale Zellen, also solche, die noch intakte Zellmembranen haben, rot angefärbt. Wenn die Reperfusion zu kurz ist, werden nicht alle Ko-Faktoren aus den nekrotischen Zellen ausgewaschen, so daß man falsch kleine Infarkte bestimmen würde.

Ausblick

Myokardiale ischämische Präkonditionierung ist weiterhin ein experimentelles Phänomen. An humanen Kardiomyozyten konnte die ischämische Präkonditionierung in vitro nachgewiesen werden [5]. Es gibt starke klinische Hinweise, daß PC koronarkranke Patienten schützt. So haben zum Beispiel Patienten, die vor einem Herzinfarkt Angina pectoris-Anfälle hatten ein besseres „Outcome“ [55] oder eine bessere Ischämietoleranz während wiederholter Ischämien im Rahmen einer perkutanen transluminalen koronaren Angioplastie [56].

Durch die Ergebnisse unserer Studie wurden die K_{ATP}-Kanäle als Mediator der Protektion durch späte ischämische Präkonditionierung identifiziert. Wie die Myokardprotektion durch das Öffnen der Kanäle vermittelt wird, ist allerdings bis jetzt nicht bekannt.

Einige Medikamente interagieren mit ATP-sensitiven Kaliumkanälen. Die Zusammensetzung des K_{ATP}-Kanals aus verschiedenen Untereinheiten eröffnet für die selektive Pharmakotherapie von Ischämie- Reperfusionsschäden an verschiedenen Organen, vor allem am Herzen, weitreichende Möglichkeiten. Schon heute ist bekannt, daß Antidiabetika der Gruppe der Sulfonylharnstoffe und das Anästhetikum Ketamin die Myokardprotektion der ischämischen Präkonditionierung unterdrücken [39, 51]. Andere Medikamente, wie z.B. Diazoxide, Nitrate, Nicorandil und die volatilen Anästhetika Isofluran und Sevofluran öffnen die K_{ATP}-Kanäle und lösen so eine pharmakologisch induzierte Myokardprotektion aus [29, 31]. Bei koronarkranken Patienten ist davon auszugehen, daß diese aufgrund rezidivierender Angina pectoris Anfälle ischämisch präkonditioniert sind. Hier kann durch die Wahl eines pharmakologischen Therapeutikums der natürliche Schutz der ischämischen Präkonditionierung unterstützt oder blockiert werden. Vor geplanten Myokardischämien in der Herzchirurgie könnte durch die Wahl eines geeigneten Anästhetikums eine Myokardprotektion indu-

ziert werden, oder aber durch die Wahl eines ungeeigneten Medikamentes blockiert werden.

Ziel weiterer Studien ist es, diese neuen Möglichkeiten der gezielten Organprotektion zu überprüfen. Ein weiterer Schwerpunkt der Forschung in diesem Themenkreis liegt derzeit auf möglichen Interaktionen von früher ischämischer Präkonditionierung und dem Zweiten Fenster der ischämischen Präkonditionierung. Bisher nicht veröffentlichte Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe belegen einen additiven Effekt dieser beiden endogenen myokardialen Protektionsmechanismen.

Literaturverzeichnis

1. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-1136
2. Liu Y, Downey JM. Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am J Physiol* 1992; 263: H1107-H1112
3. 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.
4. 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.
5. 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;30:1019-1025.
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. 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. *Basic Res Cardio.* 1998;93:325-338.
8. Gross GJ, Fryer RM. Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels and myocardial preconditioning. *Circ Res.* 1999;84:973-979.

9. Stambaugh K, Elliott GT, Jacobson KA, Liang BT. Additive effects of late preconditioning produced by monophosphoryl lipid A and the early preconditioning mediated by adenosine receptors and K_{ATP} channel. *Circulation* 1999;99:3300-3307.
10. Fryer RM, Hsu AK, Eells JT, Nagase H, Gross GJ. Opioid-induced second window of cardioprotection - Potential role of mitochondrial K_{ATP} channels. *Circ Res.* 1999;84:846-851.
11. Mei DA, Elliot GT, Gross GJ. K_{ATP} channels mediate late preconditioning against infarction produced by monophosphoryl lipid A. *Am J Physiol.* 1996;271:H2723-H2729.
12. Baxter GF, Yellon DM. ATP-sensitive K^+ channels mediate the delayed cardioprotective effect of adenosine A_1 receptor activation. *J Mol Cell Cardiol.* 1999; 31:981-989.
13. Baines CP, Cohen MV, Downey JM. Signal transduction in ischemic preconditioning: The role of kinases and mitochondrial K_{ATP} channels. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999; 10: 741-754.
14. Dana A, Skarli M, Papakrivopoulou J, Yellon-DM. Adenosine A_1 receptor induced delayed preconditioning in rabbits. *Circ Res* 2000; 86: 989-997
15. Elliott GT. Monophosphoryl lipid A induces delayed preconditioning against cardiac ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 3-17
16. Banerjee-S, Tang XL, Qiu Y, Takano H, Manchikalapudi S, Dawn B, Shirk G, Bolli R. Nitroglycerin induces late preconditioning against myocardial stunning via a PKC-dependent pathway. *Am J Physiol* 1999; 277: H2488-H2494
17. Qiu Y, Ping P, Tang XL, Manchikalapudi S, Rizvi A, Zhang J, TakanoH, Wu WJ, Teschner S, Bolli R. Direct evidence that protein kinase C plays an essential role in the

development of late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits and that epsilon is the isoform involved. *J Clin Invest* 1998; 101: 2182-2198

18. Imagawa J, Baxter G, Yellon DM. Genistein, a tyrosine kinase inhibitor, blocks the „second window of protection“ 48 h after ischemic preconditioning in the rabbit. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 1885-1893
19. Sugden PH, Clerk A. „Stress-responsive“ mitogen-activated protein kinases (c-Jun N-terminal kinases and p38 mitogen-activated protein kinases) in the myocardium. *Circ Res* 1998; 83: 345-352
20. Nagarkatti DS, Sha'afi RI. Role of p38MAP kinase in myocardial stress. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30:1651-1664
21. Haq SE, Clerk A, Sugden PH. Activation of mitogen-activated protein kinases (p38-MAPKs, SAPKs/ JNKs and ERKs) by adenosine in the perfused rat heart. *FEBS Lett* 1998; 434: 305-308
22. Clerk A, Michael A, Sugden PH. Stimulation of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in neonatal rat ventricular myocytes by the G protein-coupled receptor agonists, endothelin-1 and phenylephrine: a role in cardiac myocyte hypertrophy? *J Cell Biol* 1998; 142: 523-535
23. Landry J, Huot J. Regulation of actin dynamics by stress-activated protein kinase 2 (SAPK2)-dependent phosphorylation of heat-shock protein of 27 kDa (HSP27). *Biochem Soc Symp* 1999;64: 79-89
24. Heads RJ, Baxter GF, Latchman DS, Marber MS, Yellon DM. Hsp and cytoskeletal protein expression and localisation during delayed preconditioning in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30:A20

25. Baines CP, Liu GS, Birincioglu M, Critz SD, Cohen MV, Downey JM. Ischemic preconditioning depends on interaction between mitochondrial K_{ATP} channels and actin cytoskeleton. *Am J Physiol* 1999; 276: H1361-H1368
26. Xuan YT, Tang XL, Banerjee S, Takano H, Li RCX, Han H, Qui Y, Li JJ, Bolli R. Nuclear factor κ B plays an essential role in the late phase of ischemic preconditioning in conscious Rabbits. *Circ Res* 1999; 84: 1095-1109
27. Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF- κ B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 141-179
28. Sasaki N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B, Marban E. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation* 2000;101:439-445.
29. Kersten JR, Gross GJ, Pagel PS, Warltier DC. Activation of adenosine triphosphate-regulated potassium channels. *Anesthesiology* 1998; 88:495-513
30. Fräßdorf J, Müllenheim J, Preckel B, Thämer V and Schlack W. Racemic ketamine, but not S-ketamine, blocks ischaemic preconditioning in rabbit hearts in vivo. *EJA*. 2000;Supp 19:A170.
31. Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases the time threshold for ischemic preconditioning in dogs. TollerWG, Kersten JR, Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC. *Anesthesiology* 1999; 91: 1437-1446
32. Grover GJ, Garlid KD. ATP-Sensitive Potassium Channels: A review of their cardioprotective pharmacology. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 677-695
33. Nichols CG, Ripoll C, Lederer WJ. ATP sensitive potassium channel modulation of the guinea pig ventricular action potential and contraction. *Circ Res* 1991; 68: 280-287

34. Gross GJ, Yao Z, Auchampach JA. Role of ATP-sensitive potassium channels in ischemic preconditioning. In: Przyklenk K, Kloner RA (Hrsg.): Ischemic preconditioning: The concepts of endogenous cardioprotection. Boston, Mass. USA. Kluwer Academic Publishers; Developments in Cardiovascular Research, 1994; 148:125-135
35. Yao Z, Gross GJ. Effects of the K_{ATP} channel opener bimakalim on coronary blood flow, monophasic action potential duration, and infarct size in dogs. *Circulation* 1994; 89: 1769-1775
36. Munch-Ellingsen, Bugge E, Lokebo JE, Ytrehus K. Potassium channel blocker defetilide does not abolish ischaemic preconditioning. *Scand J Clin Lab Invest* 1997; 57: 13-20
37. Grover GJ, D'Alonzo AJ, Dzwonczyk S, Parham CS, Darbenzio RB. Preconditioning is not abolished by the delayed rectifier K⁺ blocker dofetilide. *Am J Physiol* 1996; 271: H1207-H1214
38. 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; 81(6): 1072-1082
39. 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.
40. Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: Novel effectors of cardioprotection? *Circulation* 1998;97:2463-2469.

41. Standen NB, Quayle JM, Davies NW, Bryden JE, Huang, Y, Nelson MT. Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle. *Science* 1989; 245: 177-180
42. Garlid KD. Cation transport in mitochondria - the potassium cycle. *Biochem Biophys Acta* 1996; 1275: 123-126
43. Ferrari R, Pedersini P, Bongrazio M, Gaia G, Bernocchi P, Di Lisa F, Visioli O. Mitochondrial energy production and cation control in myocardial ischemia and reperfusion. *Basic Res Cardiol* 1993; 88: 495-512
44. 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.
45. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. Smaller infarct after preconditioning does not predict extent of early functional improvement of reperfused heart. *Am J Physiol.* 1999;277:H1754-H1761.
46. Ytrehus K, Liu Y, Tschida A, Miura T, Liu GS, Yang X-M, 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- H 2390.
47. Lee HT, Emala CW. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A(1) and A(3) receptors. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: F380-387
48. Barone FC, White RF, Spera PA, Ellison J, Currie RW, Wang X, Feuerstein GZ. Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, pro-

- tein synthesis requirement, and interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression. *Stroke* 1998; 29: 1937-1950
- 49.** Papanastasiou S, Estdale SE, Homer Vanniasinkam S, Mathie RT. Protective effect of preconditioning and adenosine pretreatment in experimental skeletal muscle reperfusion injury. *Br J Surg.* 1999; 86: 916-922
- 50.** Baxter GF, Goma FM, Yellon DM. Characterisation of the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: timecourse and dose-dependency studies in rabbit myocardium. *Basic Res Cardiol* 1997; 92: 159-167
- 51.** Ko SH, Lee SK, Han 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
- 52.** 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
- 53.** Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ. Triphenyltetrazolium staining of irreversible Ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am J Pathol* 1985; 121: 522-530
- 54.** Klein HH, Puschmann S, Schaper J, Schaper W. The mechanism of the tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction. *Virchows Arch [Pathol Anat]* 1981; 393: 287-297
- 55.** 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: an ancillary study in TIMI-9B. *Circulation* 1998;97:1042-1045.

56. Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld JW Jr., Herrmann HC, Laskey WK.

Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic and metabolic features. *Circulation* 1990;82:2044-2051.

57. Inagaki N, Gonoi T, Clement JP, Namba N, Inazawa J, Gonzales G, Aguilar-Bryan L,

Seino S, Bryan J. Reconstitution of IK_{ATP} : an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor [see comments]. *Science* 1995; 270: 1166-1170

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Schlack und Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Thämer für die Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung und kritische Begleitung während der Durchführung der Studie.

Herrn Dr. med. Jost Müllenheim danke ich für seine Geduld und Freundschaft.

Nicht unerwähnt soll die Mitarbeit von Herrn Dr. med. Preckel, Herrn Dr. Dirk Ebel und stellvertretend für alle anderen Mitdoktoranden von Herrn André Heinen bleiben.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Frau Dr. med. Christel Lorenz bedanken, die mich an die Arbeitsgruppe heranführte.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei all denen, insbesondere meiner Mutter und meinem Bruder, bedanken, die es mir ermöglicht haben diese Arbeit fertig zu stellen.

Zu guter Allerletzten einen herzlichen Dank meiner Freundin Livia für ihre Geduld und ihr Verständnis. Oftmals musste sie mich auch darauf hinweisen, daß Labore nicht nur Ein-, sondern auch Ausgänge haben.

Lebenslauf

Name: Jan Fräßdorf
Geburtsdatum: 20. Oktober 1969
Geburtsort: Mönchengladbach

Schulischer Werdegang:

8/ 1976 – 12/ 1976: Grundschule Frimmersdorf
1/ 1977 – 7/ 1980: Gemeinschaftsgrundschule Düsseldorf
Fürstenwall
8/ 1980 – 7/ 1986: Städtische Realschule an der
Luisenstraße; Düsseldorf
8/ 1986 – 5/ 1989: Marie-Curie-Gymnasium Neuss

Ausbildungen:

8/ 1986 – 5/ 1989: Staatlich Geprüfter Chemisch-
Technischer-Assistent
8/ 1987 – 7/ 1989: Rettungssanitäter
1/ 1993: Anerkennung als Rettungsassistent

Zivildienst:

8/ 1989 – 10/ 1990: Johanniter-Unfall-Hilfe
Krankentransport und Rettungsdienst
Kreisverband Mettmann

Studium:

4/ 1991 – 11/ 1998: Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Promotion: seit 10/ 1998: Arbeitsgruppe von
Herrn Univ.-Prof. Dr. med. V. Thämer &
Herrn Priv.-Doz. Dr. med. W. Schlack

Berufliche Aktivitäten:

- 01.07.1999 – 31.12.1999 Arzt im Praktikum am Institut für Physiologie I, Abteilung für Herz- und Kreislaufphysiologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- 01.01.2000 – 31.12.2000 Arzt im Praktikum an der Klinik für Anaesthesiologie, Medizinische Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- seit dem 01.01.2001 Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik für Anaesthesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

Sonstige Aktivitäten:

- 1992 – 1997: Fachschaftsrat, Fachschaftsvertretung und Erstsemester Arbeitsgemeinschaft (ESAG) der Fachschaft Medizin der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (HHUD)
- 1993 – 1994: Stellvertretender Vorsitzender des Allgemeinen Studierendenausschusses der HHUD
- 1996 – 1997: Mitglied des Konvents der HHUD
Mitglied des Senats der HHUD
- 1995 – 1997: Mitglied des Fakultätsrates der Medizinischen Fakultät der HHUD
- 1995 – 1997: Mitglied der Senatskommission für Planung & Finanzen des Senates der HHUD

Düsseldorf, den 15. Januar 2001

Jan Fräßdorf

Zusammenfassung

Das zweite Fenster der Myokardprotektion der ischämischen Präkonditionierung wird durch das Öffnen von Adenosintri-phosphat-sensitiven Kaliumkanälen vermittelt

Fragestellung: Kurze Myokardischämien können das Herz gegen die Folgen einer nachfolgenden längeren Myokardischämie schützen (ischämische Präkonditionierung, PC). Während der initiale protektive Effekt nur 2-3 Stunden anhält, kommt es 24 Stunden später zu einem „2. Fenster“ der Myokardprotektion (SWOP), das ca. 2 Tage anhält. Patienten mit rezidivierenden Angina pectoris Anfällen werden durch diesen Protektionsmechanismus vor den Folgen einer erneuten und längeren Myokardischämie geschützt. Während für die erste Phase der PC die Öffnung ATP-sensitiver Kalium-(K_{ATP}) Kanäle, auf die auch viele Anästhetika wirken, als Endeffektormechanismus bekannt ist, ist der Mechanismus des SWOP bislang ungeklärt. Läßt sich SWOP durch einen spezifischen K_{ATP} -Kanal-Blocker [5-Hydroxydecanoate (5-HD)] aufheben?

Methodik: 36 Kaninchen wurden anästhesiert und mit einem Koronararterienokkluder instrumentiert. Nach 10 Tagen Erholungszeit wurde SWOP am wachen Tier durch 5 min Koronarokklusion in der Präkonditionierungs- (SWOP, n=10) und in der Behandlungsgruppe (SWOP+5-HD, n=9), nicht jedoch in der Kontroll- (KON, n=9) und der 5-HD-Gruppe (5-HD, n=8), die allein den K_{ATP} -Kanal-Blocker erhielt, induziert. 24 h später wurden die Tiere mit α -Chloralose anästhesiert, thorakotomiert und einer 30 min Koronarokklusion und 120 min Reperfusion unterzogen. SWOP+5-HD und 5-HD erhielten 5 mg/kg 5-HD i.v. 5 min vor der 30 min Koronarischämie. Linksventrikulärer Druck (LVD, Katheterspitzenmanometer), Herzzeitvolumen (HZV, Ultraschallflußmeßkopf) und Infarktgröße (Triphenyltetrazoliumfärbung) wurden bestimmt. Statistik: Varianzanalyse, Dunnett's Test als post-hoc Test mit SWOP als Bezugsgruppe, Mittelwert \pm Standardabweichung.

Ergebnisse: Die hämodynamischen Ausgangswerte waren in allen Gruppen gleich. Nach 2 Stunden Reperfusion fiel die HF in allen Gruppen um 10-13% gegenüber Ausgangswerten. SWOP senkte die Infarktgröße von 57% (KON) auf 31% (SWOP) des Risikogebietes. In nicht präkonditionierten Herzen hatte 5-HD keinen Einfluß auf die Infarktgröße (5-HD: 59%). Die Gabe von 5-HD bei präkonditionierten Tieren blockierte den kardioprotektiven Effekt von SWOP (SWOP+5-HD: 62%).

Interpretation: Die Ergebnisse zeigen, daß SWOP durch ischämische Präkonditionierung über die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen vermittelt wird.

Gesehen und genehmigt

