

Aus der
Klinik für Anästhesiologie
der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. Tarnow, FRCA

Wirkung von razemischem Ketamin und
S(+)-Ketamin auf die frühe ischämische
Präkonditionierung -
Untersuchung an narkotisierten Kaninchen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin

Der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Thomas Wietschorke

2003

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
gez.: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Wolfgang H.-M. Raab, Dekan

Referent: Priv.-Doz. Dr. Schlack

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Thämer

Inhaltsverzeichnis

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	4
1. Einführung	5
2. Methoden	10
2.1 CHIRURGISCHE PRÄPARATION	10
2.2 MYOKARDINFARKTPROTOKOLL	13
2.3 INFARKTGRÖßENBESTIMMUNG	14
2.4 STUDIENPROTOKOLL	15
2.5 DATENVERARBEITUNG	16
2.6 HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN	16
2.7 STATISTISCHE ANALYSEN	17
3. Ergebnisse	18
3.1 AUSSCHLUSS	18
3.2 HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN	18
3.3 RISIKOGEBIET UND INFARKTGRÖßE	22
4. Diskussion	24
4.1 METHODENKRITIK	24
4.1.1 <i>Infarktgrößenbestimmung und Dauer der Reperfusion.....</i>	<i>26</i>
4.1.2 <i>Einfluss der Infarktgröße auf die funktionelle Erholung der Herzen.....</i>	<i>27</i>
4.2 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE	28
4.2.1 <i>Hämodynamische Wirkungen.....</i>	<i>31</i>
4.2.2 <i>Beeinflussung des Reperfusionsschadens</i>	<i>32</i>
4.2.3 <i>Ketamin als Bestandteil der Narkose.....</i>	<i>33</i>
5. Ausblick	35
6. Literaturverzeichnis	37
Danksagung	42
Lebenslauf	43
Zusammenfassung	44

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabellen

TABELLE 1: HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN.....	20
TABELLE 2: GEWICHTE UND RISIKOGEBIET.....	22

Abbildungen

ABBILDUNG 1: SIGNALTRANSDUKTIONSKETTE	7
ABBILDUNG 2: INSTRUMENTIERUNG DER KANINCHENHERZEN	11
ABBILDUNG 3: VERSUCHSPROTOKOLL	15
ABBILDUNG 4: HÄMODYNAMIK	21
ABBILDUNG 5: INFARKTGRÖßEN	23

1. EINFÜHRUNG

Eine Myokardischämie, d.h. die Verminderung oder Unterbrechung der Durchblutung am Herzen, kann zu Myokardinfarkt, Herzinsuffizienz und/oder Herzrhythmusstörungen führen. Entsprechende myokardiale Ischämie-Reperfusionssituationen können im Rahmen unterschiedlicher Erkrankungen und therapeutischer Maßnahmen auftreten.

Bei dem Verschluss einer Koronararterie kommt es aufgrund des Sauerstoffmangels bereits nach einer 20-minütigen Ischämie zu Zellnekrosen, die nur durch eine möglichst frühzeitige Wiederherstellung der Koronardurchblutung verhindert werden können.¹

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass kurze vorangehende Ischämieperioden, die selbst zu kurz sind, um eine Nekrose zu verursachen, eine drastische Verzögerung des ischämischen Zellunterganges während einer nachfolgenden längeren Ischämie bewirken.

Dieser endogene Protektionsmechanismus wurde 1986 erstmalig von Murry *et al.*² beschrieben und ist seitdem als ischämische Präkonditionierung bekannt. Murry und Mitarbeiter konnten an anästhesierten Hunden zeigen, dass vier fünfminütige regionale Ischämieperioden mit jeweils nachfolgender fünfminütiger Reperfusion vor einer 40-minütigen infarktauslösenden Ischämie zu einer deutlichen Infarktreduzierung führt. Die erwartete Infarktgröße von 30% des Risikogebietes wurde dabei auf 7% reduziert.

Myokardprotektion durch ischämische Präkonditionierung konnte bisher an allen untersuchten Säugetierspezies nachgewiesen werden.^{3;4;5} Dabei konnten zwei Phasen der Protektion ermittelt werden.

Der initiale protektive Effekt der ischämischen Präkonditionierung tritt unmittelbar nach dem ischämischen Stimulus auf und schützt das Myokard für ungefähr 2 bis 3 Stunden. Diese Phase der „klassischen Präkonditionierung“ wird als *frühe* Präkonditionierung bezeichnet. Weiterführende Studien haben gezeigt, dass die Myokardprotektion der ischämischen Präkonditionierung ca. 24 Stunden nach der initialen präkonditionierenden Ischämie erneut einsetzt und das Myokard für bis zu 72 Stunden vor den Folgen einer Ischämie-Reperfusionssituation schützt.⁶ Dieses „zweite Fenster der Protektion“ wird als *späte* Präkonditionierung bezeichnet.

Sowohl *frühe* als auch *späte* Präkonditionierung können durch eine Vielzahl von Stimuli ausgelöst werden: endogen durch kurze Ischämien⁷, aber auch pharmakologisch durch Aktivierung von Adenosin-⁸, α -adrenergen-⁹, muskarinischen-¹⁰, Opiod-^{11;12} oder Bradykininrezeptoren.¹³

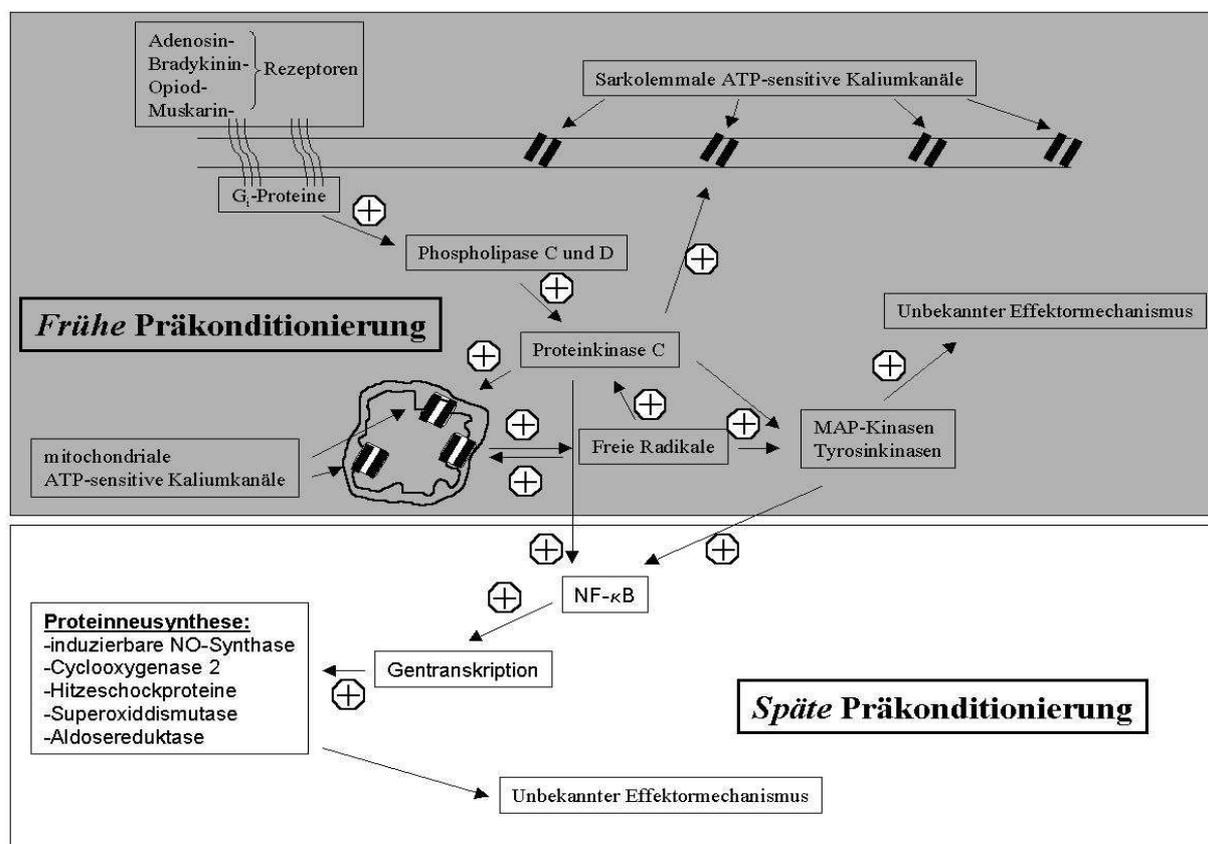
Eine Reihe von Untersuchungen legen nahe, dass auch menschliches Myokard durch Präkonditionierung geschützt werden kann. Arstall *et al.* zeigten an isolierten Herzmuskelzellen des Menschen protektive Effekte sowohl durch *frühe* als auch durch *späte* Präkonditionierung *in vitro*.¹⁴ Kloner *et al.* untersuchten in einer retrospektiven Datenauswertung Patienten mit akutem Herzinfarkt. Dabei hatten diejenigen Patienten, die vor ihrem Infarkt ereignis eine Angina-Pectoris-Symptomatik (Präinfarktangina) aufwiesen, ein signifikant kleineres Infarktareal als die Patienten der Vergleichsgruppe ohne vorausgegangene Symptomatik.^{15;16} Dies ist ein deutlicher Hinweis dafür, dass auch *späte* ischämische Präkonditionierung das menschliche Myokard schützt.

Darüber hinaus gibt es weitere klinische Beobachtungen die dafür sprechen, dass beim koronarkranken Patienten auch die *frühe* ischämische Präkonditionierung einen bedeutenden Protektionsmechanismus darstellt. Hierzu zählt unter anderem das „warm-up“-Phänomen.¹⁷ Es beschreibt die klinische Beobachtung, dass es einem Patienten möglich ist, eine initial wegen Angina pectoris abgebrochene Belastung nach einem belastungsfreien Intervall ohne Beschwerden erneut durchzuführen. Außerdem wurde beobachtet, dass bei mehrfacher Ballondilatation im Rahmen einer perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA)¹⁸ das Ausmaß der pektanginösen Beschwerdesymptomatik und der elektrokardiographisch nachweisbaren Ischämiezeichen während der zweiten und dritten Ballonangioplastie im Vergleich zur ersten signifikant vermindert ist. Diese Erkenntnis und auch das „warm-up“-Phänomen lassen sich mit Hilfe des Konzepts der *frühen* ischämischen Präkonditionierung erklären.

Die Aufklärung der Pathomechanismen von *früher* und *später* Präkonditionierung hätte für den klinischen Alltag einen hohen Nutzen. Zum einen könnte man in Situationen, in denen es geplant zu einer Ischämie und Reperfusion des Herzens kommt, den Einsatz von Substanzen vermeiden, welche den protektiven Effekt ischämischer Präkonditionierung blockieren, zum anderen könnte man durch gezielte Medikamentengabe eine Myokardprotektion erreichen. Darüber hinaus ließe sich

möglicherweise bei Patienten mit koronarer Erkrankung eine dauerhafte medikamentöse Myokardprotektion durch pharmakologisch induzierte Präkonditionierung erzielen.

Obwohl beide Phasen der Präkonditionierung Gegenstand zahlreicher Untersuchungen der vergangenen 15 Jahre waren, sind die zugrunde liegenden genauen Mechanismen auf zellulärer Ebene noch nicht vollständig aufgeklärt. Abbildung 1 zeigt den bislang postulierten Signaltransduktionsweg der *frühen* und *späten* Präkonditionierung.



Signaltransduktionsweg der *frühen* und *späten* Präkonditionierung; G_i-Proteine = inhibitorische G-Proteine, MAP-Kinasen = Mitogen-aktivierte Kinasen

Abbildung 1: Signaltransduktionskette

Es ist bekannt, dass für die Myokardprotektion durch *frühe* Präkonditionierung eine Öffnung der mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanäle (K_{ATP}-Kanäle) wesentlich ist. Über die Freisetzung von Sauerstoffradikalen^{19;20} kommt es zur Aktivierung der Proteinkinase C^{21;22}. Dies führt zu einer Aktivierung von Tyrosin-^{23;24}

und Mitogen aktivierten Proteinkinasen (MAP-Kinasen²⁵), die als Trigger und/oder Mediatoren der Protektion wesentlich sind.^{26;27;28}

Bekannt ist, dass der ATP-abhängige Kaliumkanal auch durch verschiedene Anästhetika beeinflusst werden kann. Deshalb wäre es bei Operationen, bei denen es geplant zu einer Myokardischämie kommt (z.B. aortokoronare Bypassoperation) wichtig zu wissen, welchen Effekt entsprechende Anästhetika auf myokardiale Präkonditionierung haben.

Die kurzzeitige Gabe aller bisher untersuchten volatilen Anästhetika (Halothan²⁹, Enfluran²⁹, Isofluran³⁰, Sevofluran^{31;32} und Desfluran³³) konnte den Protektionseffekt einer präkonditionierenden Ischämie in verschiedenen tierexperimentellen *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen imitieren und damit das Myokard pharmakologisch präkonditionieren. Außerdem zeigt eine klinische Untersuchung von Belhomme und Mitarbeitern, dass *frühe* pharmakologische Präkonditionierung durch volatile Anästhetika auch für Patienten bedeutsam ist, weil hierdurch eine Verminderung des Myokardschadens [Reduktion der postoperativen Troponin I- und Creatinkinase (CK)-MB-Freisetzung] erzielt werden kann.³⁴

Die Mechanismen, die der *frühen* pharmakologischen Präkonditionierung durch volatile Anästhetika zugrunde liegen, sind bisher nur unzureichend geklärt. Die Aktivierung von Adenosinrezeptoren³⁵, von inhibitorischen G-Proteinen³⁶, der Proteinkinase C³⁷ und die Öffnung von K_{ATP}-Kanälen³⁸ sind jedoch ebenso wesentlich wie bei der *frühen* ischämischen (endogenen) Präkonditionierung.

Für Opioide konnte nicht nur im Tierversuch sondern auch an humanem Myokard gezeigt werden, dass sie *in vitro*³⁹ und *in vivo*⁴⁰ über eine Aktivierung von δ 1-Rezeptoren, der Proteinkinase C und von K_{ATP}-Kanälen *frühe* pharmakologische Präkonditionierung auslösen.

Neben einer Kardioprotektion durch Anästhetika ist aber umgekehrt auch eine Blockade der Präkonditionierung durch Anästhetika denkbar. So konnte gezeigt werden, dass nicht nur Thiopental^{41;42}, sondern auch Ketamin⁴³ K_{ATP}-Kanäle an isolierten Herzmuskelzellen blockieren kann.

Ketamin ist ein Phencyclidinderivat, das chemisch den Halluzinogenen nahe steht. Ketamin enthält als racemisches Gemisch die beiden Enantiomere S(+)-Ketamin und R(-)-Ketamin. Die Stereoisomere weisen unterschiedliche Eigenschaften aber eine

ähnliche Kinetik auf. Das optische Isomer S(+)-Ketamin wirkt ungefähr 3mal stärker analgetisch und anästhetisch im Vergleich zum R(-)-Ketamin. Die halluzinogenen Eigenschaften sind auf das R(-)-Enantiomer zurückzuführen. Ketamin entfaltet seine Wirkung über die Interaktion mit zentralen und peripheren Rezeptoren des Nervensystems, wobei die Substanz keine absolute Selektivität für einen bestimmten Rezeptortyp aufweist.

In der Klinik findet Ketamin als intravenöses Anästhetikum Anwendung, kann aber auch i.m. appliziert werden. Ketamin ruft eine dissoziative Anästhesie hervor, d.h., dass unter Ketamin sensorische Signale zwar die primären kortikalen Brodmann-Felder erreichen, nicht aber die assoziativen Felder. Der Patient scheint von seiner Umgebung abgekoppelt zu sein, ohne dass ein normaler Schlafzustand eintritt. Dabei kommt es zu einer ausgeprägten Analgesie und Amnesie.

Ziel der hier vorliegenden Studie ist es, den Effekt von razemischem Ketamin und S(+)-Ketamin auf die *frühe* ischämische (endogene) Präkonditionierung am Kaninchenherzen *in vivo* zu untersuchen.

2. METHODEN

Die vorliegende Studie erfolgte in Übereinstimmung mit dem deutschen Tierschutzgesetz und den örtlichen Bestimmungen. Für die Untersuchung lag die Genehmigung des Regierungspräsidenten Düsseldorf vor.

Die Studie wurde prospektiv randomisiert durchgeführt.

2.1 Chirurgische Präparation

Bei 48 Kaninchen (New Zealand White Rabbit) männlichen Geschlechts mit einem Gewicht zwischen 2,6 bis 3,6 kg (Mittelwert: 3,0 kg Körpergewicht (KG)) wurde nach Lokalanästhesie mit einer lidocain- und prilocainhaltigen Salbe (Emla®) ein Seitenast einer Ohrvene punktiert. Die Tiere erhielten Propofol (Disoprivan® 10 mg/kg-KG) zur Einleitung der Narkose. Zur Aufrechterhaltung der Anästhesie und Analgesie wurde kontinuierlich α -Chloralose (40 mg/kg-KG-h) infundiert. Die Trachea wurde mit einem Woodbridge Tubus intubiert (3,0 mm Innendurchmesser) und die Lunge mit einem Neugeborenenbeatmungsbeutel beatmet. Dann wurden die Kaninchen an der linken Thoraxwand rasiert und in den Operationssaal gebracht. Dort wurden sie mit Hilfe einer Starling-Pumpe (Typ 874/052, Braun Melsungen, Deutschland) maschinell mit einer Frequenz von 30-35 Atemzügen pro Minute bei einem Atemzugvolumen von 15-20 ml beatmet. Der endexpiratorische Kohlendioxid (CO_2) Partialdruck wurde mit Hilfe eines Atemgasanalysegerätes (Datex Capnomac Ultima, Division of Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland) bestimmt und auf einen Wert von ungefähr 35 mmHg eingestellt. Blutgasanalysen sowie die Bestimmung des Hämoglobingehalts und des Hämatokrit wurden in regelmäßigen Intervallen durchgeführt (präoperativ, vor und nach der Studie). Ein Oberflächen-EKG (Siemens-Elema AB, Medicins and Technik, Selna, Schweden) wurde zu allen Aufnahmezeitpunkten angefertigt. Die ausreichende Tiefe der Narkose wurde durch Fehlen der Muskelreflexe und das Ausbleiben hämodynamischer Veränderungen während der chirurgischen Präparation sichergestellt. Bei Bedarf wurde während der Präparation zusätzlich α -Chloralose im Bolus gegeben. Zur Messung des Aortendrucks wurde ein 20 Gauge

Teflonkatheter über die linke Arteria carotis communis in den Aortenbogen vorgeschoben, mit NaCl 0,9% gefüllt und mit einem Statham-Drucktransducer (PD 23, Gould, Cleveland, OH, USA) verbunden. Über die mit einer Venenverweilkanüle (Venflon™, 1,2 mm, Becton Dickinson, Helsingborg, Schweden) punktierte rechte Vena jugularis erhielten die Tiere eine kontinuierliche Infusion von 0,9 % NaCl-Lösung mit einer Geschwindigkeit von 15 ml/kg·KG·h, um Flüssigkeitsverluste zu ersetzen. Vor der Thorakotomie wurden die Kaninchen durch eine einmalige Gabe von 0,1 mg/kg Pancuronium relaxiert.

Nach medianer Sternotomie und Pericardiotomie wurde eine Ultraschallflussonde (4S ultrasonic flow probe, T 208, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) um die Aorta ascendens gelegt, um das linksventrikuläre Schlagvolumen abzüglich des Koronarflusses zu messen. Der linksventrikuläre Druck wurde mit Hilfe eines Tipkatheters (Micro-Tip Pressure Transducer, Sensodyn S PO SF-1, Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) aufgezeichnet, der nach Punktion des linken Herzohres in den linken Ventrikel vorgeschoben wurde. Zum Zwecke der späteren Okklusion wurde eine Koronararterie mit einem Prolenefaden (5,0) umstochen und die Fadenenden durch ein kurzes Plastikröhrchen geführt, so dass sie eine Schlinge (Koronararterienokkluder) bildeten. Abbildung 2 zeigt die Instrumentierung der Kaninchenherzen.

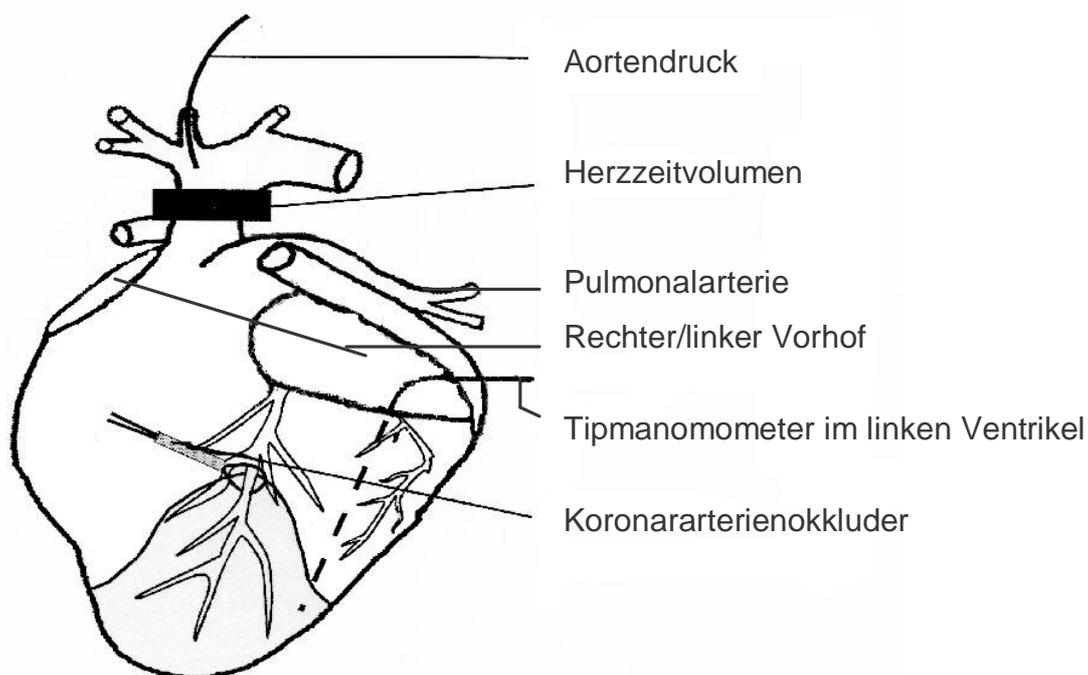


Abbildung 2: Instrumentierung der Kaninchenherzen

Nach Beendigung der Präparation wurde der nunmehr offene Thorax des Kaninchens mit einer Kunststofffolie abgedeckt, um Verdunstungs- und Strahlungswärmeverluste zu minimieren. Abschließend wurde ein Digitalthermometer (GTH 1160, Digital Thermometer, Geisinger Electronic, Deutschland) in der Perikardhöhle platziert, um die Temperatur zu messen und mit Hilfe einer Heizdecke und einer Infrarotlampe stabil zwischen 38,3° und 38,7 °C zu halten. Am Ende der Präparation wurden die Kaninchen mit 500 i.E. Heparin (Liquemin®) vollheparinisiert.

2.2 Myokardinfarktprotokoll

Nach einer 15-minütigen Stabilisierungsphase wurden die hämodynamischen Ausgangswerte registriert und bis zum Ende des Versuches in regelmäßigen Abständen erneut gemessen.

Frühe ischämische Präkonditionierung wurde durch 5-minütigen Verschluss der vorbereiteten Koronararterie (Koronararterienumstechung) induziert.

Das Vorliegen einer regionalen Myokardischämie wurde anhand einer sofort auftretenden epikardialen Zyanose im abhängigen Versorgungsgebiet sowie durch ST-Streckenhebungen im EKG verifiziert. Anschließend wurde die Koronarokklusion aufgehoben und das Myokard für 10 Minuten reperfundiert.

Die Kaninchen aller Gruppen wurden dann durch erneuten Verschluss der Koronararterie einer 30-minütigen Ischämie, gefolgt von einer 2-stündigen Reperfusion, unterzogen. Das Verschwinden der Zyanose und der ST-Streckenhebung zeigten die erfolgreiche Reperfusion an.

Während des Versuches auftretendes Kammerflimmern wurde durch sofortige interne elektrische Defibrillation (5J, DCS 261 Defibrillator, Piekser, Ratingen, Deutschland) therapiert.

Um die Wirkung von razemischem Ketamin bzw. S(+)-Ketamin auf die durch die ischämische Präkonditionierung hervorgerufene Kardioprotektion zu untersuchen, wurden die zu untersuchenden Medikamente (10 mg/kg) 5 Minuten vor der Präkonditionierung intravenös als Bolus gegeben.

Tieren einer weiteren Versuchsgruppe wurde zum entsprechenden Zeitpunkt nur razemisches Ketamin verabreicht, ohne dass sie präkonditioniert wurden. Hierdurch sollte ein eventueller Effekt des razemischen Ketamins auf den durch die Ischämie-Reperfusion induzierten Myokardschaden untersucht werden.

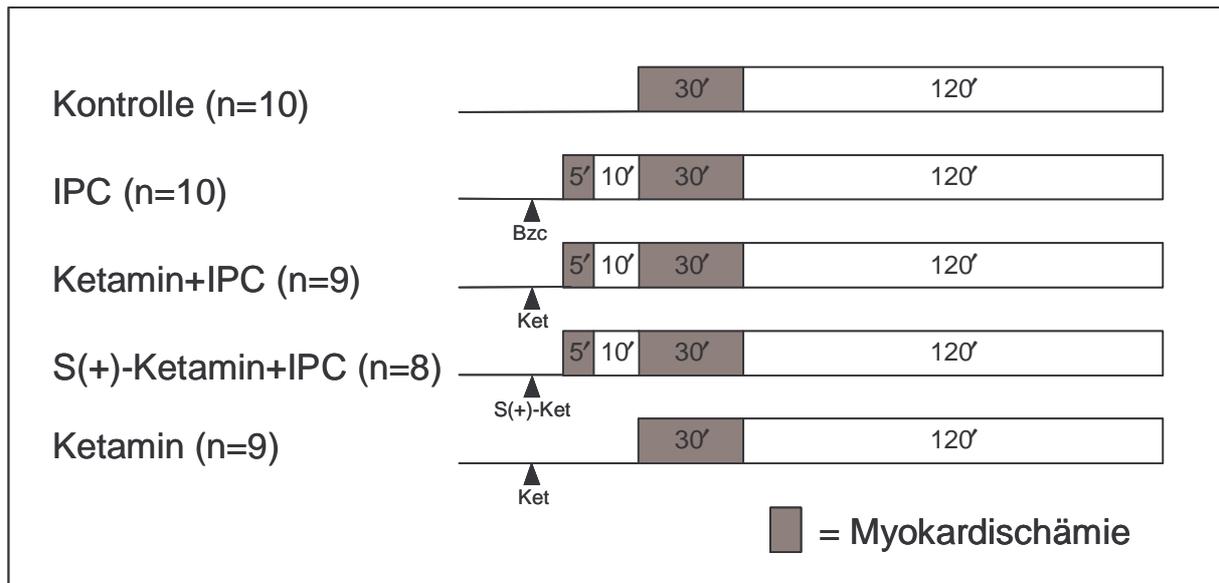
2.3 Infarktgrößenbestimmung

Nach zweistündiger 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 angeschlossen. Diese bestand aus einer Knopfkanüle und einem Dreiwegehahn, über den die Perfusionslösungen luftfrei retrograd über die Aortenwurzel in die Koronararterien perfundiert werden konnten. An dieser Apparatur wurde das Herz fünf Minuten lang mit eiskalter physiologischer Kochsalzlösung mit einem Perfusionsdruck von 40 cm Wassersäule perfundiert. Hierdurch wurden die Blutreste in den Koronargefäßen ausgewaschen. Danach wurde die Koronararterie mit dem verbliebenen Okkluder erneut verschlossen und das Herz mit einer 0,2%igen Evans-Blau-Lösung für 10 Minuten (mit einem Perfusionsdruck von 40 cm Wassersäule) perfundiert. Die intravaskuläre Evans-Blau-Lösung wurde danach durch erneute Perfusion mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen. Durch dieses Verfahren wurde das ischämisch-reperfundierte Gewebe (Risikogebiet) als ungefärbt identifiziert. Anschließend 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 erschien vitales Gewebe rot, nekrotisches Gewebe hingegen wurde nicht angefärbt. 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, um die Trockengewichte zu bestimmen.

Bei Risikogebieten mit einem geringeren Trockengewicht als 0,05g entsteht bei Kaninchenherzen kein Myokardinfarkt. Deshalb wären Versuche mit einem solchen Risikogebiet aus der Versuchsreihe ausgeschlossen worden.

2.4 Studienprotokoll

Die Tiere wurden vor der Instrumentierung randomisiert einer der fünf Versuchsgruppen zugeteilt. Alle Kaninchen wurden einer 30-minütigen regionalen Myokardischämie gefolgt von zwei Stunden Reperfusion unterzogen. Abbildung 3 zeigt die Versuchsprotokolle der einzelnen Versuchsgruppen.



IPC = ischämische Präkonditionierungs-Gruppe; Ket = razemisches Ketamin; S(+)-Ket = S(+)-Ketamin; Bzc = Benzethoniumchlorid (Konservierungsstoff)

Abbildung 3: Versuchsprotokoll

Die Tiere der Kontrollgruppe (Kontrolle, n=10) wurden keiner weiteren Behandlung vor der 30-minütigen Myokardischämie unterzogen.

Die Kaninchen der ischämischen Präkonditionierungsgruppe (IPC, n=10) wurden durch eine 5-minütige Koronarokklusion zehn Minuten vor der 30-minütigen Ischämie präkonditioniert.

Die Tiere der Ketamin-Präkonditionierungsgruppe (Ketamin+IPC, n= 9) erhielten 10 mg/kg-KG razemisches Ketamin 5 Minuten vor der präkonditionierenden Koronarokklusion als intravenösen Bolus.

Die Tiere der S(+)-Ketamin-Präkonditionierungsgruppe (S(+)-Ketamin+IPC, n= 8) wurden mit 10 mg/kg-KG S(+)-Ketamin (i.v. Bolus) 5 Minuten vor der Präkonditionierung behandelt.

Die Kaninchen der Ketamin-Gruppe (Ketamin, n=9) erhielten 10 mg/kg-KG razemisches Ketamin ohne nachfolgende Präkonditionierung.

Den Tieren der Präkonditionierungsgruppe wurden 0,1 mg/kg-KG Benzethoniumchlorid (Bzc), welches als Konservierungsmittel in der Injektionslösung von Ketamin enthalten ist, anstelle von Ketamin zum entsprechenden Zeitpunkt appliziert.

2.5 Datenverarbeitung

Der linksventrikuläre Druck, dessen erste Ableitung nach der Zeit (dP/dt), der Aortendruck (AOP) und das Herzzeitvolumen (HZV) wurden kontinuierlich auf einem 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.

2.6 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 steile Anstieg des dP/dt_{max} markiert das Ende der Diastole. Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDD) und die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation (τ) wurden zur Beurteilung der linksventrikulären diastolischen Funktion herangezogen. Die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation wurde anhand folgender Formel errechnet:

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

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

Das Produkt aus Herzfrequenz (HF) und linksventrikulärem Spitzendruck (LVSD) ist eine wesentliche Determinante des myokardialen Sauerstoffverbrauches und wird als Frequenz-Druck-Produkt (FDP) angegeben.

Der systemische vaskuläre Widerstand (SVR) wurde aus dem mittleren Aortendruck (AOP_{mean}) und dem HZV berechnet, unter der Annahme, dass bei geöffnetem Thorax der rechtsatriale Druck 0 mmHg beträgt.

2.7 Statistische Analysen

Alle Daten sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Zur Ermittlung von statistischen Unterschieden wurde eine Zwei-Wege-Varianzanalyse entlang der Zeit und zwischen den Gruppen durchgeführt. Zeigten sich hierbei statistische Unterschiede in Bezug auf zeitliche Veränderungen, folgte ein Dunnett's Test als post-hoc-Test (vs. Ausgangswerte). Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen wurden ebenfalls mittels Dunnett's Test untersucht (vs. IPC-Gruppe). Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0,05$ betrachteten wir als signifikant.

3. ERGEBNISSE

3.1 Ausschluss

Im Verlauf der Studie wurden insgesamt 48 Tiere instrumentiert. Zwei Tiere starben während der Koronarokklusion an therapierefraktärem Kammerflimmern. Von den restlichen 46 Tieren wurden komplette Datensätze erhoben. (Kontrolle, n=10; IPC, n=10; Ketamin+IPC, n= 9; S(+)-Ketamin+IPC, n= 8; Ketamin, n=9)

3.2 Hämodynamische Variablen

Die hämodynamischen Variablen sind in Tabelle 1 (S. 19) zusammengefasst. Abbildung 4 (S. 20) zeigt die Hämodynamik (Verlauf von HF, LVSD und HZV) über den Zeitverlauf der Ischämie-Reperfusionversuche für alle 5 Versuchsgruppen.

Hinsichtlich der HF, des HZV's und des LVSD waren unter Ausgangsbedingungen keine signifikanten Unterschiede zwischen den 5 Versuchsgruppen feststellbar.

Das FDP als eine der Hauptdeterminanten des myokardialen Sauerstoffverbrauches unterschied sich zwischen den einzelnen Gruppen nicht.

LVSD und HZV nahmen nach Gabe von Ketamin (LVSD um $16 \pm 18\%$, $P = 0,02$ vs. Ausgangswert; HZV um $11 \pm 12\%$, $P = 0,7$ vs. Ausgangswert) und S(+)-Ketamin (LVSD um $17 \pm 18\%$, $P = 0,12$ vs. Ausgangswert; HZV um $13 \pm 11\%$, $P = 0,77$ vs. Ausgangswert) ab.

Die 5-minütige Koronarokklusion (ischämische Präkonditionierung) führte zu einer weiteren Abnahme des HZV um $8 \pm 12\%$ in der Ketamin+IPC-Gruppe und um $12 \pm 12\%$ in der S(+)-Ketamin+IPC-Gruppe. In der IPC-Gruppe hatte die Präkonditionierung nur einen geringen Effekt auf den LVSD (Abnahme um $4 \pm 9\%$, $P = 1,0$ vs. Ausgangswert) und das HZV (Abnahme um $8 \pm 14\%$, $P = 1,0$ vs. Ausgangswert).

Während der ischämischen Präkonditionierung stieg τ in der IPC-Gruppe um $21 \pm 15\%$ ($P = 0,79$ vs. Ausgangswert), in der Ketamin+IPC-Gruppe um $12 \pm 12\%$ ($P = 0,96$ vs. Ausgangswert) und in der S(+)-Ketamin+IPC-Gruppe um $41 \pm 18\%$ ($P <$

0,01 vs. Ausgangswert) als Zeichen einer eingeschränkten diastolischen Herzfunktion an.

Während der 10-minütigen Reperfusion im Anschluss an die ischämische Präkonditionierung erholte sich der LVSD in der Ketamin-Präkonditionierungsgruppe auf $92 \pm 11\%$ ($P = 0,84$ vs. Ausgangswert), in der S(+)-Ketamin-Präkonditionierungsgruppe um $89 \pm 13\%$ ($P = 0,73$ vs. Ausgangswert) und in der Präkonditionierungsgruppe auf $96 \pm 9\%$ ($P = 1,0$ vs. Ausgangswert).

Die 30-minütige Koronarokklusion führte in allen Gruppen zu einer Reduktion des LVSD um $17 \pm 14\%$ ($P < 0,01$ vs. Ausgangswert), des dP/dt_{max} um $24 \pm 21\%$ ($P < 0,01$ vs. Ausgangswert) und des HZV um $16 \pm 19\%$ ($P < 0,01$ vs. Ausgangswert).

Hinsichtlich des FDP gab es zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

In Bezug auf die linksventrikuläre Relaxation stieg τ während der Koronarokklusion im Mittel um $18 \pm 19\%$ ($P < 0,01$ vs. Ausgangswert) und der LVEDD um $75 \pm 77\%$ ($P < 0,01$ vs. Ausgangswert) an (alle Werte nach 30-minütiger Koronarokklusion).

Nach 2-stündiger Reperfusion blieb die linksventrikuläre Funktion in allen Gruppen eingeschränkt: der LVSD blieb um $23 \pm 19\%$ im Vergleich zu den Ausgangswerten und dP/dt_{max} um $37 \pm 20\%$ in allen Versuchsgruppen reduziert.

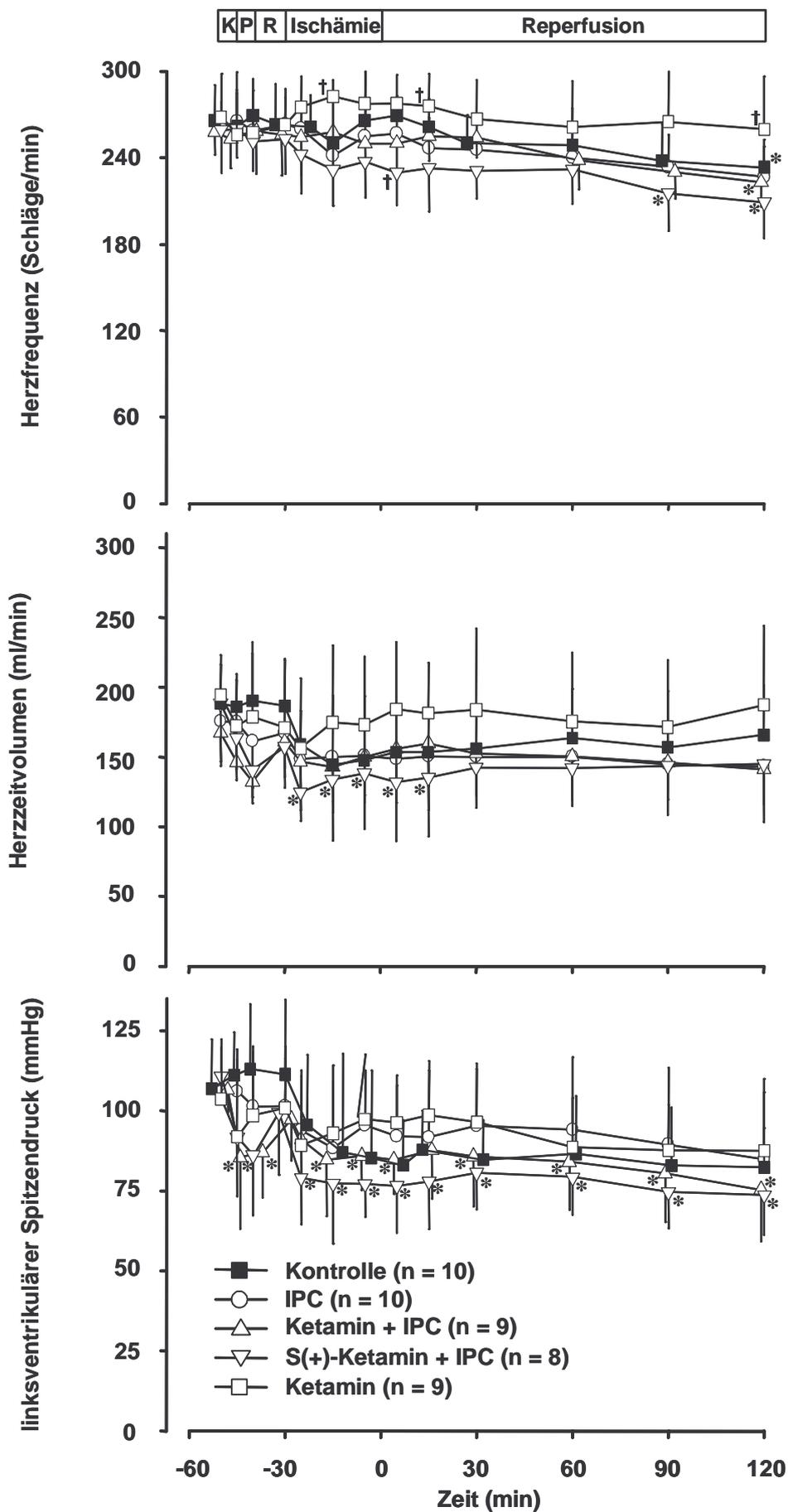
Die HF fiel in allen Gruppen während des Versuches um $11 \pm 11\%$ ($P < 0,01$ vs. Ausgangswert). Hierdurch und bedingt durch den Abfall des LVSD kam es zu einer Verringerung des FDP im Mittel um $31 \pm 22\%$ ($P < 0,01$ vs. Ausgangswert). Dabei gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen der IPC-Gruppe und den anderen Versuchsgruppen.

Auch die diastolische Herzfunktion blieb während der Reperfusionsphase reduziert. τ war im Mittel um $31 \pm 33\%$ ($P < 0,01$ vs. Ausgangswert) verlängert und auch der LVEDD blieb bis zum Ende des Experiments erhöht ($2,3 \pm 2,3$ mmHg, $P < 0,09$ vs. Ausgangswert).

	Kontrolle	Ischämie			Reperfusion			
		Ket/LSG	IPC	Rep	30 min	5 min	30 min	120 min
LVEDD (mmHg)								
Kontrolle	7.4 ± 1.7	8.2 ± 1.7	9.1 ± 3.8	9.3 ± 4.4	14.0 ± 5.2	14.5 ± 7.3*	12.7 ± 6.7	11.4 ± 3.5
IPC	9.3 ± 2.4	8.9 ± 2.2	11.5 ± 3.2	9.0 ± 3.1	12.3 ± 3.4	12.0 ± 4.9	10.4 ± 3.8	11.2 ± 5.1
Ketamin	8.6 ± 2.8	9.0 ± 2.6	12.2 ± 3.1	10.3 ± 2.6	14.2 ± 3.6	12.6 ± 3.7	12.2 ± 2.5	12.8 ± 4.4
S(+)-Ketamin + IPC	10.6 ± 5.3	10.5 ± 5.2	13.4 ± 6.7	11.1 ± 6.2	15.2 ± 8.4	13.4 ± 7.7	9.4 ± 1.2	11.4 ± 3.7
Ketamin	7.2 ± 4.3	7.8 ± 4.0	7.3 ± 4.2	7.5 ± 4.1	10.0 ± 3.5	11.9 ± 5.0	8.3 ± 4.5	9.4 ± 6.1
dP/dt_{max} (mmHg s⁻¹)								
Kontrolle	5287 ± 1061	5501 ± 786	5548 ± 1009	5307 ± 879	3794 ± 1106*	2706 ± 496* [†]	3365 ± 803*	3192 ± 860*
IPC	5876 ± 1216	6047 ± 1241	5121 ± 1079	4619 ± 889	4765 ± 1212	3842 ± 847*	4227 ± 1161*	3767 ± 1411*
Ketamin + IPC	5660 ± 603	4183 ± 1130* [†]	4079 ± 910*	4183 ± 698*	4009 ± 931*	3547 ± 1041*	3959 ± 1174*	3352 ± 1103*
S(+)-Ketamin + IPC	5289 ± 884	3801 ± 808* [†]	3196 ± 751* [†]	3451 ± 541* [†]	3029 ± 830* [†]	2468 ± 755* [†]	2946 ± 422* [†]	2715 ± 642*
Ketamin	4770 ± 999	3428 ± 1047 [†]	3951 ± 1038	4190 ± 1028	4426 ± 1197	3648 ± 1322	4205 ± 1059	3505 ± 1522
SVR (mmHg min l⁻¹)								
Kontrolle	467 ± 75	490 ± 72	481 ± 68	475 ± 69	435 ± 102 [†]	427 ± 82	440 ± 73	382 ± 89
IPC	544 ± 130	535 ± 121	581 ± 145	532 ± 127	577 ± 177	544 ± 159	563 ± 158	467 ± 148
Ketamin + IPC	570 ± 83	478 ± 134	567 ± 125	527 ± 101	501 ± 78	468 ± 92	482 ± 122	411 ± 84*
S(+)-Ketamin + IPC	522 ± 70	465 ± 117	521 ± 108	562 ± 79	476 ± 70	474 ± 93	481 ± 115	413 ± 78
Ketamin	489 ± 123	485 ± 186	533 ± 219	571 ± 231	527 ± 177	484 ± 154	488 ± 180	422 ± 163
FDP (mmHg min⁻¹ 10³)								
Kontrolle	28.4 ± 4.7	29.0 ± 4.2	30.5 ± 6.7	29.4 ± 7.2	20.7 ± 7.8*	21.4 ± 3.4	21.5 ± 3.4	19.2 ± 3.1*
IPC	27.8 ± 6.4	28.1 ± 5.4	26.2 ± 4.7	26.7 ± 4.7	24.4 ± 5.2	23.8 ± 6.0	23.3 ± 4.9	19.4 ± 6.5*
Ketamin + IPC	27.5 ± 2.6	21.8 ± 6.9	22.2 ± 4.2	25.0 ± 4.5	21.5 ± 3.2*	21.1 ± 2.9*	21.8 ± 4.4	16.9 ± 4.0*
S(+)-Ketamin + IPC	28.7 ± 3.6	23.8 ± 5.1*	21.6 ± 4.7*	25.3 ± 6.1	18.4 ± 3.3*	17.6 ± 3.7* [†]	18.6 ± 3.1*	15.5 ± 3.8*
Ketamin	27.8 ± 5.3	23.8 ± 7.6	25.6 ± 7.2	26.6 ± 6.1	27.1 ± 6.3	26.8 ± 4.7	25.7 ± 5.0	22.8 ± 6.6
τ (ms)								
Kontrolle	18.0 ± 3.8	16.4 ± 3.9	17.3 ± 4.9	17.5 ± 4.5	21.3 ± 3.3 [†]	22.2 ± 3.8 [†]	20.8 ± 4.1	21.1 ± 3.5
IPC	14.8 ± 3.7	14.7 ± 3.5	17.8 ± 4.4	15.9 ± 4.0	16.9 ± 4.1	16.9 ± 4.3	17.3 ± 4.5	19.8 ± 7.3
Ketamin + IPC	19.4 ± 3.5 [†]	19.4 ± 4.2 [†]	21.6 ± 4.1	19.4 ± 2.6	20.5 ± 2.7	20.5 ± 4.9	21.1 ± 4.4	22.5 ± 4.2
S(+)-Ketamin + IPC	15.9 ± 1.3	18.4 ± 2.4	22.3 ± 1.9*	18.8 ± 1.9*	20.8 ± 2.5*	21.4 ± 2.3*	21.5 ± 1.9*	25.5 ± 2.8*
Ketamin	14.9 ± 2.3	15.1 ± 3.2	15.5 ± 3.0	15.7 ± 3.3	16.8 ± 3.7	16.0 ± 2.9	15.4 ± 2.8	18.3 ± 5.8

Daten als Mittelwert (MW) ± Standardabweichung (SD). LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Druck; dP/dt_{max} = maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit; SVR = systemischer vaskulärer Widerstand; FDP = Frequenz-Druck-Produkt; τ = Zeitkonstante der isovolumetrischen linksventrikulären Relaxation. Ket/LSG = Ketamin bzw. Lösungsmittel; IPC = ischämische Präkonditionierung; Rep = Reperfusion. [†]P < 0,05 vs. Anfangswerte; *P < 0,05 vs. IPC-Gruppe.

Tabelle 1: Hämodynamische Variablen



K = Ketamingabe; P = Präkonditionierung; R = Reperfusion; IPC = ischämische Präkonditionierung; †P < 0,05 vs. Anfangswerte; *P < 0,05 vs. IPC-Gruppe

Abbildung 4: Hämodynamik

3.3 Risikogebiet und Infarktgröße

Zur Bestimmung der Risikogebiete und der Infarktgrößen wurde nur der linke Ventrikel ausgewertet. Die Daten der einzelnen Gruppen sind in Tabelle 2 dargestellt.

	Kontrolle	IPC	Ketamin+IPC	S(+)-Ket.+IPC	Ketamin
Körpergewicht (kg)	3,10 ± 0,06	2,82 ± 0,03	2,77 ± 0,03	3,09 ± 0,03	2,90 ± 0,04
LV-Gewicht (g)	0,80 ± 0,08	0,79 ± 0,23	0,75 ± 0,16	0,77 ± 0,08	0,71 ± 0,10
Risikogebiet (g)	0,39 ± 0,10	0,47 ± 0,17	0,32 ± 0,12	0,37 ± 0,17	0,34 ± 0,15
Risikogebiet/LV (%)	48,8 ± 9,02	60,3 ± 18,1	43,7 ± 16,5	48,7 ± 22,0	48,7 ± 21,3
Infarktgröße (g)	0,17 ± 0,07	0,11 ± 0,08	0,14 ± 0,07	0,09 ± 0,06	0,16 ± 0,06

Daten sind Mittelwerte (MW) ± Standardabweichung (SD). LV = linker Ventrikel; IPC = ischämische Präkonditionierung; S(+)-Ket = S(+)-Ketamin

Tabelle 2: Gewichte und Risikogebiet

Das mittlere linksventrikuläre Trockengewicht betrug $0,77 \pm 0,15$ g und unterschied sich somit nicht signifikant zwischen den fünf Versuchsgruppen.

Das mittlere Trockengewicht des Risikogebietes betrug $0,37 \pm 0,14$ g und hatte somit einen Anteil von 49 ± 16 % am linken Ventrikel. Auch hier gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

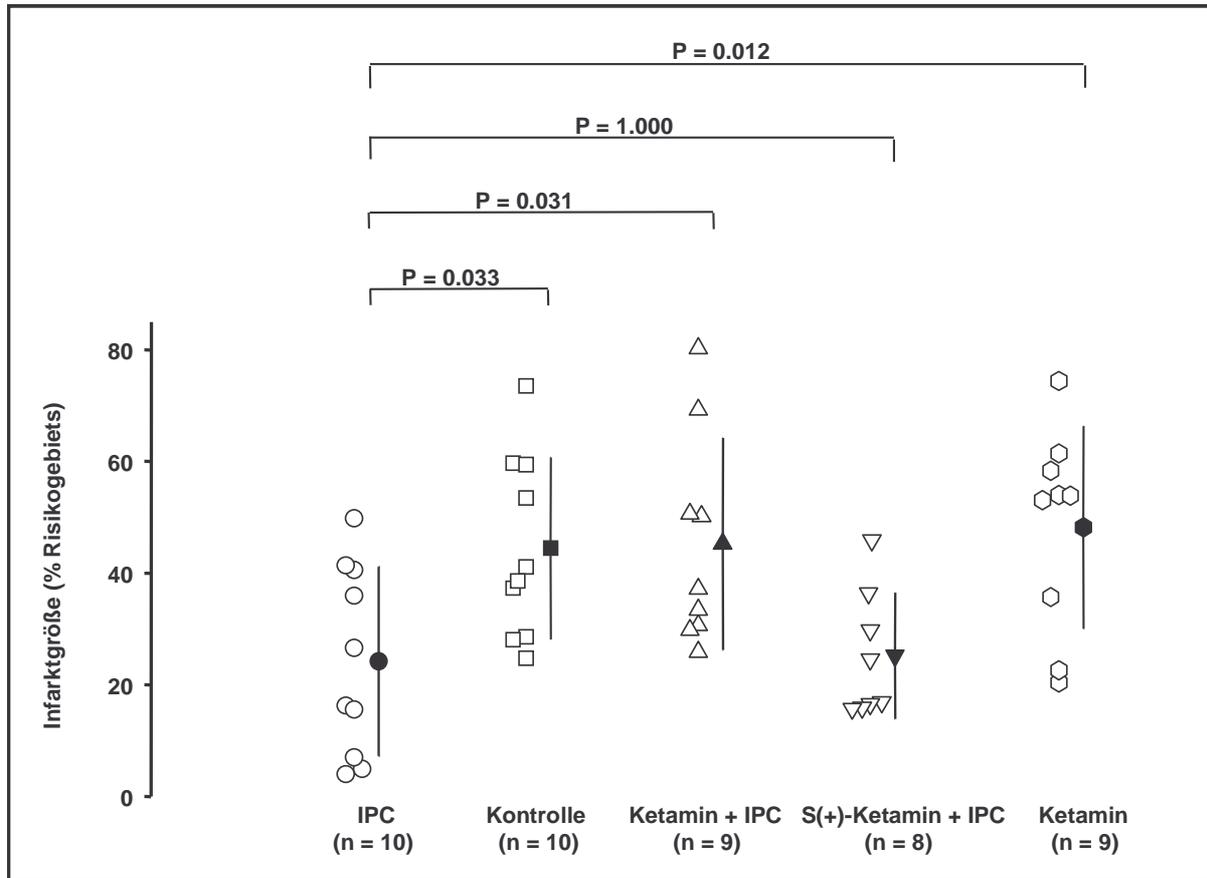
Die ischämische Präkonditionierung reduzierte die Infarktgröße von 45 ± 16 % des Risikogebietes (Kontrollgruppe) auf 24 ± 17 % ($P = 0,03$).

Mit Hilfe der Infarktgrößenbestimmung konnten wir nachweisen, dass racemisches Ketamin den protektiven Effekt der *frühen* ischämischen Präkonditionierung aufhebt und es daher nicht zu einer Reduzierung der Infarktgröße in der Ketamin+IPC-Gruppe kommt (45 ± 19 %; $P = 0,03$ vs. IPC-Gruppe).

Im Gegensatz dazu beeinflusst S(+)-Ketamin die durch ischämische Präkonditionierung induzierte Infarktgrößenreduzierung nicht (25 ± 11 %; $P = 1,0$ vs. IPC-Gruppe).

Die Vorbehandlung mit racemischem Ketamin zeigte bei den Tieren, die nicht präkonditioniert wurden (Ketamin-Gruppe), keinen Effekt in Bezug auf die Infarktgröße (48 ± 18 %).

Abbildung 5 zeigt die Infarktgrößen der einzelnen Versuchsgruppen als prozentualen Anteil des Risikogebiets.



IPC = ischämische Präkonditionierung; Es sind für jede Gruppe Einzelwerte (offene Symbole) und Mittelwerte (geschlossene Symbole) \pm Standardabweichung dargestellt.

Abbildung 5: Infarktgrößen

4. DISKUSSION

Als wesentliches Ergebnis dieser Untersuchung lässt sich feststellen, dass die einmalige Gabe von racemischem Ketamin die durch *frühe* ischämische Präkonditionierung induzierte Myokardprotektion am Kaninchenherzen *in vivo* blockiert.

Das Isomer S(+)-Ketamin beeinflusst die durch *frühe* ischämische Präkonditionierung hervorgerufene Myokardprotektion hingegen nicht.

Demnach ist die die endogene ischämische Präkonditionierung blockierende Wirkung von racemischem Ketamin stereospezifisch und wird durch das R(-)-Isomer verursacht.

4.1 Methodenkritik

Für die Entwicklung eines Myokardinfarktes sind die Dauer der Ischämie, der myokardiale Sauerstoffverbrauch während der Ischämie, der kollaterale Blutfluss und die Myokardtemperatur wichtige Determinanten.

Da Kaninchenherzen nur eine sehr schwach ausgebildete Kollateraldurchblutung besitzen⁴⁴, war es nicht erforderlich den Kollateralblutfluß im Ischämiegebiet zu bestimmen.

Neben dem arteriellen kollateralen Blutfluss besitzt das Kaninchenherz aber weitere Mechanismen der alternativen Sauerstoffversorgung. Hier sind in früheren Studien⁴⁵ die Diffusion und der retrograde Blutfluss durch Thebesii-Venen genannt worden. Das Ausbleiben der Infarzierung sehr kleiner Ischämiegebiete lässt sich hierdurch erklären. Bei sehr kleinen Ischämiegebieten sind die Diffusionsstrecken und die Strecken, die das Blut durch Thebesii-Venen zurücklegen muss, sehr kurz und ermöglichen deshalb eine Sauerstoffversorgung des Myokards.

Bei Risikogebieten kleiner als 0,05 g Trockengewicht entsteht bei Kaninchenherzen kein Myokardinfarkt. Deshalb wären Versuche mit einem Risikogebiet kleiner als 0,05 g Trockengewicht aus der Versuchsreihe ausgeschlossen worden.

Die Körpertemperatur der Kaninchen wurde während des gesamten Versuches innerhalb des Perikards gemessen und bei $38,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ konstant gehalten. Dies war notwendig, da eine Temperaturabweichung von 1°C bereits zu einer Veränderung der Infarktgröße von ungefähr 10% führen kann.⁴⁶

Alle Tiere wurden mit α -Chloralose anästhesiert. Diese Form der Anästhesie wird häufig in physiologischen und pharmakologischen Studien eingesetzt.⁴⁷

In vorausgegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass α -Chloralose keine antiischämischen Eigenschaften besitzt^{48;49;50} und keine störenden Einflüsse auf die Signaltransduktionskette zu erwarten sind.

Im Gegensatz dazu konnte die kurzzeitige Gabe aller bisher untersuchten volatilen Anästhetika den Protektionseffekt einer präkonditionierenden Ischämie in verschiedenen tierexperimentellen *in vitro*- und/oder *in vivo*-Untersuchungen imitieren und damit das Myokard pharmakologisch präkonditionieren.

Barbiturate wie Thiopental hingegen können die ischämische Präkonditionierung blockieren, da gezeigt werden konnte, dass Thiopental^{41;42} K_{ATP} -Kanäle an isolierten Herzmuskelzellen blockiert.

4.1.1 Infarktgrößenbestimmung und Dauer der Reperfusion

Die Bestimmung der Infarktgröße mittels der Triphenyltetrazoliumchlorid(TTC)-Färbung ist eine anerkannte und zuverlässige Methode zur Anfärbung von Myokardinfarkten.^{51;52} 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 fehlen diese Ko-Faktoren, so dass die Reduzierung des TTC und somit die Bildung des roten Farbkomplexes verhindert wird. Bei älteren Infarkten spielt darüber hinaus das Fehlen der Diaphorasen und Dehydrogenasen eine wichtige Rolle bei dieser Färbetechnik.

Mit Beginn der Reperfusion werden die Ko-Faktoren aus nekrotischen Zellen ausgewaschen. Dadurch werden nur vitale Zellen, die noch intakte Zellmembranen besitzen, rot gefärbt.

Ist die Reperfusionszeit zu kurz, werden nicht alle Ko-Faktoren aus den nekrotischen Zellen ausgewaschen, so dass fälschlicherweise zu kleine Infarktgebiete bestimmt werden könnten.

4.1.2 Einfluss der Infarktgröße auf die funktionelle Erholung der Herzen

In unserer Studie war die Reduktion der Infarktgröße durch *frühe* ischämische Präkonditionierung nicht mit einer besseren funktionellen Erholung der Herzen verbunden. Wir konnten keine hämodynamisch relevanten Unterschiede zwischen den Tieren der einzelnen Versuchsgruppen feststellen.

Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen der Studie von Cohen und Mitarbeitern.⁵³ Sie präkonditionierten die Kaninchen ihrer Versuchsreihe durch eine 5-minütige Ischämie, gefolgt von einer 30-minütigen Koronarischämie, wodurch Myokardinfarkte nachweisbar waren.

Die Tiere wurden drei Tage lang nachbeobachtet und der Verlauf der Wandverdickungsfraction registriert. Die Wandverdickungsfraction wurde als Maß für die kontraktile Myokardfunktion bestimmt.

Eine bessere funktionelle Erholung der Herzen nach ischämischer Präkonditionierung und folgender 30-minütiger regionaler Myokardischämie war frühestens nach einem Tag Reperfusion zu beobachten.

Nach Ansicht Cohens *et al.* befanden sich die Herzen nach der Ischämie im Stadium der reversiblen kontraktiven Dysfunktion (Stunning). Erst nach etwa 24 Stunden bildete sich das Stunning zurück und es konnten Unterschiede hinsichtlich der Funktionserholung registriert werden. Eine verbesserte Funktionserholung resultierte aus kleineren Infarktgebieten, die bei ischämisch präkonditionierten Tieren gemessen wurden.

Cohen *et al.* machten in ihrer Studie keine Angaben zur globalen Herzfunktion, zum Ventrikeldruck oder dP/dt_{max} .

In der vorliegenden Studie wurden keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen hinsichtlich der oben genannten hämodynamischen Parameter beobachtet. Grund hierfür könnte die kurze Reperfusionsdauer von nur 2 Stunden gewesen sein. Cohen *et al.* zufolge befanden sich die Herzen zu diesem Zeitpunkt noch im Stadium des Stunning. Unterschiede in der Funktionserholung hätten laut Cohen *et al.* erst nach einer Reperfusionsdauer von 24 Stunden registriert werden können.

Die kleineren Infarktgebiete, die wir bei den Tieren der Gruppen mit ischämischer Präkonditionierung (IPC, S(+)-Ketamin+IPC, Ketamin+IPC) nach einem Zeitraum von zwei Stunden Reperfusion beobachten konnten, haben somit keinen Einfluss auf die globale hämodynamische Funktion der Herzen.

4.2 Interpretation der Ergebnisse

Kurze subletale Perioden myokardialer Ischämien gefolgt von einer kurzen Reperfusion bieten einen starken endogenen Schutz des Myokards gegen die Folgen einer längeren Ischämie. Dieses Konzept, das als *ischämische Präkonditionierung* bekannt ist, wurde sowohl bei allen untersuchten Tieren^{3;4;5}, als auch beim Menschen beobachtet.

Obwohl der Signalübertragungsweg der ischämischen Präkonditionierung noch nicht vollständig aufgeklärt ist, legt eine Vielzahl von Untersuchungsergebnissen die Vermutung nahe, dass der K_{ATP} -Kanal ein wichtiger Bestandteil in der Signaltransduktionskette ist.^{14;15;16}

Ko und Mitarbeiter wiesen an isolierten Kardiomyozyten nach, dass das intravenöse Anästhetikum Ketamin konzentrationsabhängig die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen blockiert.⁴³ Demnach stellten wir die Hypothese auf, dass racemisches Ketamin die Kardioprotektion durch *frühe* ischämische Präkonditionierung aufheben könnte.

Diese Vermutung wird in der vorliegenden Untersuchung bestätigt. Racemisches Ketamin blockiert in klinisch relevanter Konzentration den schützenden Effekt der *frühen* ischämischen Präkonditionierung am Kaninchenherzen *in vivo*. Die Verabreichung derselben Dosis von racemischem Ketamin bei fehlender Präkonditionierung hat keinen Effekt auf die Infarktgröße.

Ketamin ist ein racemisches Cyclohexanonderivat (Phencyclidin-[PCP]-Derivat). Es handelt sich um eine 1:1 Mischung von zwei optisch aktiven Enantiomeren (S(+)-Ketamin und R(-)-Ketamin) mit unterschiedlicher Wirkung auf Herz-⁵⁴ und zentralnervöse Rezeptoren⁵⁵.

Die Stereoisomere weisen unterschiedliche Eigenschaften, aber eine ähnliche Kinetik auf. Dabei zeigt sich der Effekt der Stereoselektivität. Allgemein ausgedrückt bedeutet dies, dass das wirksamere Isomer eine höhere Affinität gegenüber speziellen (makromolekularen) Rezeptoren aufweist.

Beim Ketamin ist die analgetische und anästhetische Potenz von S(+)-Ketamin etwa dreifach größer im Vergleich zu der des R(-)-Ketamins (bzw. doppelt so hoch wie die des Razemats). Um die gleiche Wirkung zu erreichen, ist mit S(+)-Ketamin

eine Dosisreduzierung auf die Hälfte möglich.⁵⁶ Die unterschiedliche Wirkung der beiden Isomere auf die IPC lässt vermuten, dass die Blockade der ischämischen Präkonditionierung durch razemisches Ketamin stereospezifisch ist.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass die Verabreichung von S(+)-Ketamin vor der präkonditionierenden Ischämie die schützende Wirkung der Präkonditionierung *in vivo* nicht beeinflusst. Die Infarktgrößen der Tiere in dieser Versuchsgruppe (S(+)-Ketamin+IPC-Gruppe) unterscheiden sich nicht von den Infarktgrößen der Tiere der IPC-Gruppe.

Die Infarktgrößen der Tiere die razemisches Ketamin vor der Präkonditionierung (Ketamin+IPC-Gruppe) verabreicht bekommen hatten unterschieden sich hingegen nicht von den Infarktgrößen der Tiere der Kontrollgruppe (keine ischämische Präkonditionierung). Die schützende Wirkung der Präkonditionierung wurde demnach blockiert.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die blockierende Wirkung des razemischen Ketamins stereospezifisch ist. In der vorliegenden Studie wurde die isolierte Wirkung des R(-)-Isomer allerdings nicht überprüft. Unsere Daten können somit nicht belegen, dass der Effekt des R(-)-Ketamin durch blockierende Wirkung am K_{ATP} -Kanal verursacht wird.

Versuche an isolierten Rattenherzen konnten jedoch belegen, dass R(-)-Ketamin die kardioprotektive Wirkung der ischämischen Präkonditionierung blockiert.⁵⁷

Die Stereospezifität des die ischämische Präkonditionierung blockierenden Effekts deutet auf einen rezeptorvermittelten Mechanismus hin. Ein möglicher Rezeptor, der hierbei in Frage kommt, könnte der Sulfonylharnstoffrezeptor des K_{ATP} -Kanals sein. Eine aktuelle Untersuchung von Zaugg und Mitarbeitern kann diese Vermutung bestätigen. In klinisch relevanten Konzentrationen blockiert R(-)-Ketamin im Gegensatz zu S(+)-Ketamin mitochondriale K_{ATP} -Kanäle isolierter Kardiomyozyten des Rattenherzens.⁴³

Das Ergebnis der vorliegenden Studie stimmt auch mit einer *in-vitro*-Studie unserer Arbeitsgruppe überein.⁵⁷ In dieser Studie wird die Wirkung von razemischem Ketamin, R(-)-Ketamin und S(+)-Ketamin auf die ischämische Präkonditionierung an isolierten Rattenherzen untersucht, die nach erfolgter Präkonditionierung einer 30-minütigen Ischämie unterzogen wurden. Die verbesserte Erholung der myokardialen

Funktion und die reduzierte Freisetzung von Kreatinkinase die in dieser Studie nach ischämischer Präkonditionierung beobachtet werden konnte, wurde durch die Gabe von 20 µg/ml racemischem Ketamin blockiert. Die Konzentration von 20 µg/ml tritt bei Patienten in der Klinik als Spitzenspiegel nach einer Bolusinjektion auf. Die Gabe von 2 µg/ml racemischem Ketamin, dies entspricht dem Blutspiegel, der bei Patienten während kontinuierlicher Ketamininfusion gemessen werden kann, konnte keinen gleichartigen Effekt erzeugen. Die Gabe von S(+)-Ketamin in beiden Dosierungen hatten hingegen keinen Einfluss auf die ischämische Präkonditionierung. R(-)-Ketamin führte jedoch in beiden Konzentrationen zur Blockade der Protektion durch Präkonditionierung. Molojavyi *et al.* konnten somit eindeutig belegen, dass die Blockade der ischämischen Präkonditionierung durch das R(-)-Enantiomer hervorgerufen wurde, während S(+)-Ketamin keine Wirkung auf die Präkonditionierung hatte.

Man sollte allerdings nicht außer Acht lassen, dass die Pathophysiologie von ischämischer (endogener) Präkonditionierung und myokardialen Ischämie-Reperfusionssituation *in vivo* weitaus komplexer ist. Daher sollten auch andere Effekte von Ketamin, wie z.B. hämodynamische (Neben-)Wirkungen, die Tiefe der Anästhesie und die Beeinflussung des Reperfusionsschadens in Betracht gezogen werden.

4.2.1 Hämodynamische Wirkungen

Ketamin wirkt sympathomimetisch. Dieser Effekt von Ketamin ist nicht nur zentral vermittelt; peripher hemmt die Substanz die Katecholaminwiederaufnahme (Reuptake) in die Präsynapse (Kokainwirkung) und führt so zu einer Zunahme der Katecholaminkonzentration im synaptischen Spalt. Auch hier zeigt sich durch erhöhte Verfügbarkeit von Katecholaminen eine stärkere Potenz des S(+)-Ketamin.

Trotz des sympathomimetischen Effekts hat Ketamin auch eine direkte myokarddepressive Wirkung. *In vitro* Untersuchungen legen nahe, dass Ketamin dosisabhängig⁵⁸ eine direkte negativ inotrope und chronotrope Wirkung, die bei Überdosierung überwiegt und zu Blutdruckabfällen führt, zeigt. Durch eine Verringerung der myokardialen Inotropie könnte es zu einer erhöhten Toleranz des Herzens gegen die Folgen einer Ischämie kommen.

Aufgrund der erhöhten Verfügbarkeit von Katecholaminen bewirkt S(+)-Ketamin eine geringere kardiodepressive Wirkung als razemisches Ketamin.⁵⁹

Die Gabe von razemischem Ketamin und von S(+)-Ketamin bewirken zwar zunächst eine (gleichgroße) Abnahme von LVSD und HZV, beide Parameter erholen sich jedoch vor der 30-minütigen Ischämie wieder auf Ausgangswerte. Das Frequenz-Druck-Produkt - eine der Hauptdeterminanten für den myokardialen Sauerstoffbedarf - unterscheidet sich bei den einzelnen Gruppen während der 30-minütigen Ischämie nicht signifikant.

Hieraus folgt, dass Unterschiede der hämodynamischen Variablen höchstwahrscheinlich nicht zu den Unterschieden in Bezug auf die Infarktgröße beigetragen haben.

Zusätzlich kann auch die Stimulation von adrenergen Herzrezeptoren eine Präkonditionierung bewirken. Es ist bekannt, dass α -Sympathomimetika über eine Erhöhung des Katecholaminspiegels im synaptischen Spalt IPC induzieren können. Vermittelt wird dieser Prozess aufgrund einer möglichen Verbindung zwischen adrenergen Rezeptoren und K_{ATP} -Kanälen.⁶⁰

Aus diesem Grund ist es durchaus möglich, dass ein durch S(+)-Ketamin hervorgerufener erhöhter Katecholaminspiegel zur Aufrechterhaltung der Kardioprotektion beigetragen hat.

4.2.2 Beeinflussung des Reperfusionsschadens

Die Wiedereröffnung eines zuvor verschlossenen Herzkranzgefäßes, ein an sich wegen der damit einhergehenden Wiederherstellung der Sauerstoff- und Nährstoffversorgung der Herzmuskelzellen erwünschter Vorgang, kann weitere Schädigungsmechanismen aktivieren (Reperfusionsschaden) und dadurch das Ausmaß eines Infarkts erhöhen. Die Zellen werden dabei vor allem durch den exzessiven Anstieg der zytosolischen Kalzium-Konzentration und der Bildung freier Radikale geschädigt, was die Nekrotisierung von Muskel- und Endothelzellen beschleunigt.

Es ist bekannt, dass einige Anästhetika den Mechanismus des Reperfusionsschadens unmittelbar beeinflussen.^{61;62} Die direkte Wirkung von Ketamin auf den myokardialen Reperfusionsschaden wurde bislang nicht ausreichend untersucht.

Postischämische endotheliale Ablagerungen von Neutrophilen im Koronarsystem sind wesentlich an der Entstehung des Reperfusionsschadens beteiligt.⁶³ Szekely *et al.* berichten in ihrer Studie an isolierten Meerschweinchenherzen von einer durch S(+)-Ketamin hervorgerufene Abnahme postischämischer Ablagerungen Neutrophiler im Koronarsystem, während es durch R(-)-Ketamin zu einer Zunahme der Ablagerungen kommt.⁶⁴ Dies hat eine Zunahme des Reperfusionsschadens bei mit R(-)-Ketamin behandelten Tieren zur Folge.

Die Verringerung des Reperfusionsschadens könnte somit bei mit S(+)-Ketamin behandelten Tieren zur Reduktion der Infarktgröße *in vivo* beigetragen haben.

4.2.3 Ketamin als Bestandteil der Narkose

In verschiedenen früheren Studien wurde racemisches Ketamin als Bestandteil der Narkoseführung zur Untersuchung von ischämischer (endogener) Präkonditionierung verwendet. Erstaunlicherweise war die Induktion der Präkonditionierung dennoch möglich.

Cason *et al.*⁶⁵ sowie Ismaeil *et al.*⁶⁶ untersuchten pharmakologisch induzierte Präkonditionierung bei Kaninchen, die präoperativ mit $70 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i.m. Ketamin sediert worden waren. Für die restliche Zeit der Untersuchung wurde die Narkose mit Propofol i.v. aufrechterhalten.

Hässler *et al.*⁶⁷ verwendeten $67 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i.m. Ketamin zur Einleitung der Narkose gefolgt von einer stetigen Ketamininfusion von $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ während der Untersuchung.

In allen genannten Studien kam es trotz der Applikation von racemischem Ketamin zur Induktion der Präkonditionierung.

Obwohl die Plasmakonzentration von Ketamin weder in den oben genannten noch in der vorliegenden Studie gemessen wurde, ist davon auszugehen, dass die Ketaminplasmakonzentration in der vorliegenden Studie 5 Minuten nach intravenöser Ketamin-Bolusgabe ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) höher war, als bei den Untersuchungen, bei denen trotz Ketamingabe eine Präkonditionierung ausgelöst werden konnte. Dies lässt den Schluss zu, dass es sich um eine Frage der Konzentration handelt, ob Ketamin die Präkonditionierung blockiert oder nicht.

Diese Vermutung wird auch von Molojavyi *et al.*⁵⁷ gestützt. Sie konnten an isolierten Rattenherzen nachweisen, dass die Gabe von racemischem Ketamin in geringer Konzentration ($2 \mu\text{g}/\text{ml}$) vor der ischämischen Präkonditionierung die Kardioprotektion nicht beeinflusst. Bei der Ketamingabe in höherer Konzentration ($20 \mu\text{g}/\text{ml}$) kam es dagegen zu einer Blockade der Präkonditionierung und einem damit verbundenen größeren Zellschaden.

Walsh *et al.*⁶⁸ berichten, dass im Kaninchenmodell während einer Narkose mit Ketamin($1,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}$)-Xylazin($0,75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}$) Glibenclamid eine die Präkonditionierung blockierende Wirkung hat, nicht aber bei einer Narkose mit Pentobarbital.

Ein ähnliches Ergebnis liefert eine Studie von Thornton *et al.*⁶⁹. Demzufolge kann die die Präkonditionierung blockierende Wirkung des K_{ATP} -Kanalblocker Glibenclamid nicht während einer Narkose mit Pentobarbital nachgewiesen werden.

Im Gegensatz dazu berichten Toombs *et al.*⁷⁰, anhand eines beinahe identischen Kaninchenmodells, dass Glibenclamid die Präkonditionierung blockiert. Die einzige Abweichung im Versuchsablauf - im Vergleich zu den Versuchen von Thornton *et al.* - bestand darin, dass die Narkose durch wiederholte intramuskuläre Injektionen von Ketamin ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) und Xylazin ($2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) aufrechterhalten wurde.

Die scheinbar widersprüchlichen Ergebnisse der Studien von Walsh, Thornton und Toombs werden durch eine Studie von Morita *et al.*⁷¹ erklärt. Diese Studie zeigt, dass die Narkose mit Ketamin die blockierende Wirkung von Glibenclamid auf die K_{ATP} -Kanäle verstärkt.

Übereinstimmend belegen alle Studien, dass die Gabe von Glibenclamid nur dann die Präkonditionierung blockiert, wenn sie in Kombination mit Ketamin als Basisanästhetikum verwendet wird.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass racemisches Ketamin in klinisch relevanter Konzentration die Kardioprotektion durch *frühe* ischämische Präkonditionierung *in vivo* aufhebt. Dieser Effekt ist stereospezifisch und wird durch das R(-)-Isomer verursacht, während S(+)-Ketamin die Protektion nicht beeinflusst. Wenngleich unsere Daten nicht beweisen, dass der Effekt des R(-)-Ketamin durch eine blockierende Wirkung am K_{ATP} -Kanal verursacht wird, so deutet die Stereospezifität des Effektes auf einen rezeptorvermittelten Mechanismus hin.

5. AUSBLICK

Die myokardiale ischämische Präkonditionierung ist ein experimentelles Phänomen. Für die protektive Wirkung beim Menschen gibt es jedoch deutliche Hinweise. So konnte die ischämische Präkonditionierung an humanen Kardiomyozyten nachgewiesen werden.¹⁴

Generell kann man davon ausgehen, dass koronarkranke Patienten aufgrund rezidivierender Angina pectoris Anfälle ischämisch präkonditioniert sind. Angina pectoris Anfälle bewirken somit eine myokardiale Präkonditionierung und stellen einen wesentlichen Protektionsmechanismus dar. Diesem Protektionsmechanismus kommt bei koronarkranken Patienten besonders in der perioperativen Phase eine besondere Bedeutung zu.

Ziel ist es, die durch eine ischämische (endogene) Präkonditionierung induzierte Protektion nicht nur zu erhalten, sondern möglicherweise noch zu verstärken. Die Verwendung geeigneter Anästhetika bewirkt eine pharmakologische Präkonditionierung, die die Folgen einer geplanten Myokardischämie reduzieren oder aber die Prognose eines Myokardinfarktes, wie er gerade perioperativ gehäuft beim koronarkranken Patienten auftritt, verbessern könnte. So könnte zum Beispiel in der Herzchirurgie vor geplanten Myokardischämien die Wahl eines geeigneten Anästhetikums eine Myokardprotektion induzieren bzw. verstärken.

Grundlage sowohl für eine pharmakologische Präkonditionierung als auch für die Erhaltung bzw. die Verstärkung der Protektion durch eine ischämische Präkonditionierung ist die Kenntnis der zugrunde liegenden zellulären Mechanismen.

Tierexperimentellen Untersuchungen ergaben, dass die Öffnung ATP-sensitiver Kaliumkanäle ein wesentlicher Bestandteil der Signaltransduktionskette der *frühen* ischämischen Präkonditionierung ist. Um nachteilige Effekte einer K_{ATP} -Kanal-Blockade zu vermeiden und um einen Schutz der Organe intraoperativ zu gewährleisten sind demnach K_{ATP} -Agonisten zur Narkoseführung zu empfehlen. Zu dieser Gruppe zählen alle bisher untersuchten volatilen Anästhetika (Enfluran²⁹, Isofluran^{30;34;65}, Sevofluran^{31;32} und Desfluran³³) sowie die Opiate.^{39;40} Alle diese Anästhetika konnten den Protektionseffekt der klassischen Präkonditionierung in verschiedenen *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen imitieren und damit das Myokard pharmakologisch präkonditionieren.

Das Ziel weiterer Studien sollte daher sein, diese neuen Möglichkeiten der gezielten Organprotektion zu überprüfen.

Weitere Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe zeigen, dass verschiedene Anästhetika durch Interaktion mit zentralen Mechanismen der Signaltransduktionskette eine myokardiale Präkonditionierung nicht nur induzieren können, sondern auch zu blockieren vermögen. Demnach lässt sich durch die Auswahl geeigneter Anästhetika möglicherweise auch Einfluss auf die perioperative Morbidität bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung nehmen.

Ein weiterer Schwerpunkt der Forschung in diesem Themenkreis liegt derzeit auf der Untersuchung einer möglichen Beeinflussung der Myokardprotektion durch Hyperglykämie bzw. Diabetes mellitus, da diese Krankheitsbilder häufig in enger Beziehung zur koronaren Herzkrankheit stehen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- ¹ Strasser R, Vogt A; Schaper W: Myokardprotektion durch Präkonditionierung. Experimentelle und klinische Bedeutung. Zeitschrift für Kardiologie 1996; 85: 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. Circulation Research 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. Circulation Research 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. Circulation Research 1996; 78: 1100-4
- ¹² McPherson BC, Yao Z: Signal transduction of opioid-induced cardioprotection in ischemia-reperfusion. Anesthesiology 2001; 94: 1082-8
- 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: 1019-1025

- 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: 1042-5
- 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: 2044-2051
- 19 Yao ZH, Tong J, Tan XH, Li CQ, Sha ZH, 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-H2509
- 20 McPherson BC, Yao ZH: Morphine mimics preconditioning via free radical signals and mitochondrial K_{ATP} channels in myocytes. *Circulation* 2001; 103: 290-5
- 21 Yang XM, Sato H, Downey JM, Cohen MV: Protection of ischemic preconditioning is dependent upon a critical timing sequence of protein kinase C activation. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 915-20
- 22 Gopalakrishna R, Anderson WB: Ca^{2+} - and phospholipid-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-H2015
- 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: 272-274
- 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-H1074
- 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-H1864
- 29 Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, Downey JM: Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 1997; 86: 699-709

- ³⁰ Kersten JR, Schmelting 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
- ³¹ 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
- ³² 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
- ³³ Toller WG, Gross ER, Kersten JR, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate-dependent potassium channels - Mechanism of desflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 2000; 92: 1731-9
- ³⁴ 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
- ³⁵ Kersten JR, Orth KG, Pagel PS, Mei DA, Gross GJ, Warltier DC: Role of adenosine in isoflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 1997; 86: 1128-39
- ³⁶ 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: 1400-7
- ³⁷ 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 Signaling Pathways. *Anesthesiology* 2002; 97: 4-14
- ³⁸ Kohro S, Hogan QH, Nakae Y, Yamakage M, Bosnjak ZJ: Anesthetic Effects on Mitochondrial ATP-sensitive K^+ Channel. *Anesthesiology* 2001; 95: 1435-40
- ³⁹ Bell SP, Sack MN, Patel A, Opie LH, Yellon DM: Delta opioid receptor stimulation mimics ischemic preconditioning in human heart muscle. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 2296-302
- ⁴⁰ Schultz JJ, Hsu AK, Gross GJ: Ischemic preconditioning and morphine-induced cardioprotection involve the delta (δ)-opioid receptor in the intact rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 2187-95
- ⁴¹ Kozlowski RZ, Ashford MLJ: Barbiturates inhibit ATP- K^+ channels and voltage-activated currents in CRI-G1 insulin-secreting cells. *Br J Pharmacol* 1991; 103: 2021-9
- ⁴² 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
- ⁴³ 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

- ⁴⁴ Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM: Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Circulation Research* 1987;21:737-746
- ⁴⁵ 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-H2390
- ⁴⁶ Chien GL, Wolff RA, Davis RF, van WD: "Normothermic range" temperature affects myocardial infarct size. *Cardiovasc.Res.* 1994;28:1014-1017
- ⁴⁷ Harvey RC, Walker MJ: Special considerations for anesthesia in research animals. In: Short CE (ed): *Principles and Practice of Veterinary Anesthesia*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1987, pp 380-392
- ⁴⁸ 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;91:471-475
- ⁴⁹ Bardaji A, Cinca J, Worner F, Schoenenberger A: Effects of anaesthesia on acute ischaemic arrhythmias and epicardial electrograms in the pig heart in situ. *Circulation Research* 1990;24:227-231
- ⁵⁰ Chakrabarty S, Thomas P, Sheridan DJ: Arrhythmias, haemodynamic changes and extent of myocardial damage during coronary ligation in rabbits anaesthetized with halothane, alpha-chloralose or pentobarbitone. *Int.J.Cardiol.* 1991;31:9-14
- ⁵¹ 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
- ⁵² 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
- ⁵³ 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
- ⁵⁴ Graf BM, Vicenzi MN, Martin E, Bosnjak J, Stowe DF: Ketamine has stereospecific effects in the isolated perfused guinea pig heart. *Anesthesiology* 1995; 82:1426-37
- ⁵⁵ Zeilhofer HU, Swandulla D, Geisslinger G, Brune K: Differential effects of ketamine enantiomers on NMDA receptor currents in cultured neurons. *Eur J Pharmacol* 1992; 213:155-8
- ⁵⁶ Adams HA: S-(+)-Ketamin. Kreislaufinteraktion bei totaler intravenöser Anästhesie und Analgosedierung. *Anaesthesist* 1997; 46: 1081-87
- ⁵⁷ Molojavyi A, Preckel B, Comfère T, Müllenheim J, Thämer V, Schlack W: Effects of ketamine and its isomers on ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *Anesthesiology* 2000; 94:623-9

- ⁵⁸ Fischer K: Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen zum Einfluß verschiedener Narkotika auf das Herz. *Anaesthesiologie und Wiederbelebung* 1973; 69: 11-21
- ⁵⁹ Kunst G, Martin E, Graf BN, Hagl S, Vahl CF: Actions of ketamine and its isomers on contractility and calcium transients in human myocardium. *Anesthesiology* 1999; 90:1363-71
- ⁶⁰ Bankwala Z, Hale SL, Kloner RA: Alpha-adrenoceptor stimulation with exogenous norepinephrine or release of endogenous catecholamines mimics PC. *Circulation* 1994; 90(2):1023-8
- ⁶¹ Schlack W, Hollmann M, Stunneck J, Thämer V: Effect of halothane on myocardial reoxygenation injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 1996; 76:860-7
- ⁶² Schlack W, Preckel B, Barthel H, Obal D, Thämer V: Halothane reduces reperfusion injury after regional ischaemia in the rabbit heart in vivo. *Br J Anaesth* 1997; 79:88-96
- ⁶³ Jennings RB, Yellon DM: Reperfusion injury, The pathophysiology of reperfusion and reperfusion injury. Edited by Yellon DM, Jennings RB. Raven Press. Ltd. New York, 1992, pp 1-11
- ⁶⁴ Szekely A, Heindl B, Zahler S, Conzen PF, Becker BF: S(+)-ketamine, but not R(-)-ketamine, reduces postischemic adherence of neutrophils in the coronary system of isolated guinea pig hearts. *Anesth Analg* 1999; 88:1017-24
- ⁶⁵ 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.
- ⁶⁶ Ismaeil MS, Tkachenko I, Gamperl AK, Hickey RF, Cason BA: Mechanisms of isoflurane-induced myocardial preconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 1999; 90:812-21
- ⁶⁷ Haessler R, Kuzume K, Chien GL, Wolff RA, Davis RF, Van Winkle DM: Anaesthetics alter the magnitude of infarct limitation by ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 1994; 28:1574-80
- ⁶⁸ Walsh RS, Tsuchida A, Daly JJF, Thornton JD, Cohen MV, Downey JM: Ketamine-xylazine anaesthesia permits a K_{ATP} channel antagonist to attenuate preconditioning in rabbit myocardium. *Cardiovasc Res* 1994; 28:1337-41
- ⁶⁹ Thornton JD, Thornton CS, Sterling DL, Downey JM: Blockade of ATP-sensitive potassium channels increases infarct size but does not prevent preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 1993; 72:44-9
- ⁷⁰ Toombs CF, Moore TL, Shebuski RJ: Limitation of infarct size in the rabbit by PC is reversible with glibenclamide. *Cardiovasc Res* 1993; 27:617-22
- ⁷¹ Morita Y, Murakami T, Iwase T, Nagai K, Nawada R, Kouchi I, Akao M, Sasayama S: K(ATP) channels contribute to the cardioprotection of preconditioning independent of anaesthetics in rabbit hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29:1267-76

DANKSAGUNG

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn Priv. Doz. Dr. med. Wolfgang Schlack für die kompetente und freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt Universitätsprofessor Dr. med. Volker Thämer, in dessen Labor diese Arbeit durchgeführt wurde, und Dr. med. Jost Müllenheim für seine geduldige Beratung und hilfreiche Kritik.

Mein weiterer Dank für ihre Hilfe und Unterstützung gilt Cand. med. Andre Heinen, Cand. med. Ralf Rulands, Frau Monika Kauertz und Herrn Jan Renziehausen, sowie meinen Eltern und Geschwistern.

LEBENS LAUF

Name: Thomas Wietschorke
Geburtsdatum: 04.11.1975
Geburtsort: Düsseldorf
Eltern: Klaus Wietschorke
Edeltraud Wietschorke, geb. Lansen
Nationalität: deutsch
Konfession: römisch-katholisch

Schullaufbahn:
08/1982 – 07/1986 Katholische Grundschule Höhenstrasse, Düsseldorf
09/1986 – 06/1995 Geschwister Scholl Gymnasium, Düsseldorf
06/1995 Abitur

Zivildienst:
08/1995 – 09/1996 Evangelisches Krankenhaus Düsseldorf

Studium:
10/1996 – 05/2003 Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
03/1999 Physikum
03/2000 Erstes Staatsexamen
03/2002 Zweites Staatsexamen
04/2002 – 04/2003 Praktisches Jahr:
Anästhesie + Innere Medizin: EVK Düsseldorf
Chirurgie: Addington Hospital Durban, Südafrika
05/2003 Drittes Staatsexamen

Ärztliche Tätigkeit:
seit 07/2003 Arzt im Praktikum in der Abteilung für Innere Medizin,
Krankenhaus Benrath,
Chefarzt: Prof. Dr. med. W.- D. Schoppe

Promotion:
seit 04/1999: Mitglied der Arbeitsgruppe von Herrn Univ.-Prof. med.
V. Thämer & Herrn Priv.-Doz. Dr. med. W. Schlack

Sonstiges:
10/2000 – 03/2002 Physiologietutor im Rahmen des Physiologischen
Praktikums für Mediziner, Zahnmediziner und
Pharmazeuten

ZUSAMMENFASSUNG

Wirkung von razemischem Ketamin und S(+)-Ketamin auf die frühe ischämische Präkonditionierung – Untersuchung an narkotisierten Kaninchen

Fragestellung: Kurze Myokardischämien schützen das Herz gegenüber den Folgen einer nachfolgenden längeren Ischämie. Dieser starke endogene Protektionsmechanismus wird als ischämische Präkonditionierung bezeichnet. Dabei gilt die Öffnung ATP-sensitiver K⁺-Kanäle als wesentlicher Bestandteil der Signaltransduktionskette. Razemisches Ketamin blockiert an isolierten Zellen diesen Kanal und hebt die frühe ischämische Präkonditionierung an isolierten Rattenherzen auf. Diese Blockade wird durch das R(-)-Enantiomer verursacht.

Die vorliegende Studie untersucht den Einfluss klinisch relevanter Konzentrationen von razemischem Ketamin und S(+)-Ketamin auf die frühe ischämische (endogene) Präkonditionierung in vivo.

Methodik: 46 α -Chloralose-anästhesierte Kaninchen wurden thorakotomiert und mit einem Koronararterienokkluder instrumentiert. Alle Tiere wurden einer 30-minütigen regionalen Myokardischämie gefolgt von 2 Stunden Reperfusion unterzogen. Außer bei den Tieren der Kontrollgruppe (n=10) und den Tieren, die razemisches Ketamin erhielten (Ketamin-Gruppe, n=9) wurde bei allen Tieren durch eine 5-minütige Koronarokklusion gefolgt von 10 Minuten Reperfusion eine ischämische Präkonditionierung induziert (IPC, n=10; S(+)-Ketamin+IPC, n=8; Ketamin+IPC, n=9). Im Anschluss daran folgte die 30-minütige Myokardischämie. Razemisches Ketamin bzw. S(+)-Ketamin (10 mg/kg) wurde jeweils 5 Minuten vor der ischämischen Präkonditionierung i.v. gegeben.

Gemessen wurden der linksventrikuläre Druck (LVD, Katheterspitzenmanometer) und das Herzzeitvolumen (HZV, Ultraschallflussmesskopf). Die Infarktgröße wurde mit einer Triphenyltetrazoliumchloridfärbung bestimmt. Statistik: Zwei-Wege-Varianzanalyse entlang der Zeit und zwischen den Gruppen, sowie Dunnett's post hoc Test.

Ergebnisse: Bei gleichen hämodynamischen Ausgangswerten (LVD: 107 \pm 14 mmHg, HZV: 180 \pm 27 ml/min, MW \pm SD) erholten sich LVD und HZV während der 10-minütigen Reperfusion nach der ischämischen Präkonditionierung auf Ausgangswerte. Während der 30-minütigen Koronarischemie sanken LVD und HZV in allen Gruppen vergleichbar um 17 \pm 14% bzw. 16 \pm 19% der Ausgangswerte ab. Nach 2 h Reperfusion zeigten alle Gruppen die gleiche Erholung (LVD: 74 \pm 20%, HZV: 85 \pm 20% der Ausgangswerte). Die Infarktgröße wurde durch Präkonditionierung auf 24 \pm 17% ($P = 0,03$) des Risikogebietes im Vergleich zu 45 \pm 16% in der Kontrollgruppe gesenkt. Tiere der Ketamin+IPC-Gruppe wiesen einen signifikant größeren Myokardinfarkt im Vergleich zur IPC-Gruppe auf ($P = 0,03$ vs. IPC-Gruppe), während S(+)-Ketamin keinen Einfluss auf die Präkonditionierung hatte (25 \pm 11%, $P = 1,0$ vs. IPC-Gruppe). Vorbehandlung mit razemischem Ketamin alleine (ohne anschließende Präkonditionierung) hatte keinen Einfluss auf die Infarktgröße (48 \pm 18%).

Schlussfolgerung: Frühe ischämische (endogene) Präkonditionierung wird in vivo durch razemisches Ketamin blockiert, wobei razemisches Ketamin an sich, ohne vorhergegangene frühe ischämische Präkonditionierung, keinen Einfluss auf die Größe des Infarktgebietes aufweist. S(+)-Ketamin zeigt keinen Einfluss auf die ischämische Präkonditionierung und ist daher von Vorteil gegenüber dem Razemat, wenn mit einer Myokardischämie gerechnet werden muss.

Gesehen und genehmigt:

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