Aus dem Institut für Herz- und Kreislaufphysiologie Direktor: Prof. Dr. med. J. Schrader

Der lokale myokardiale Energiebedarf – Ursache der räumlichen Verteilung / Heterogenität von Durchblutung und Energieumsatz - Untersuchungen am Hundeherzen *in situ* -

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Eva Scharen

(2004)

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: Prof. Dr. U. Decking Korreferent: Prof. Dr. M. Kelm

Inhaltsverzeichnis

1.	Ei	nleitung	1
	1.1	Einführung	1
	1.2	Heterogenität der myokardialen Durchblutung	2
		1.2.1 "Mikro"-Heterogenität	3
		1.2.2 Zeitliche Durchblutungsheterogenität	4
		1.2.3 Messverfahren	5
	1.3	Aufbau des koronaren Gefäßsystems	6
	1.4 Regulation der Koronardurchblutung		
	1.5	Der kardiale Stoffwechsel	10
		1.5.1 Energiegewinnung	10
		1.5.2 Heterogenität des kardialen Stoffwechsels	12
	1.6	Fragestellung	15
2.	Μ	aterial und Methoden	16
	2.1	Versuchsprotokoll	16
	2.2	Lokale Durchblutungsmessung	19
		2.2.1 Schnitttechnik	19
		2.2.2 Mikrosphärentechnik	20
		2.2.3 Messung der Probenradioaktivität	21
		2.2.4 Berechnung der lokalen myokardialen Durchblutung	22
	2.3 Messung der lokalen Stoffwechselaktivität		
		2.3.1 Methodischer Ansatz	24
		2.3.2 Extraktion	26
		2.3.3 NMR-Spektroskopie	27
		2.3.4 Spektralanalyse	27
	2.4	Biochemische Analysen	29
		2.4.1 Fraktionelle Anreicherung	31
	2.5	Statistische Auswertungen	31

3.	Er	gebnisse	33	
	3.1	Myokardialer Blutfluss	33	
		3.1.1 Flussheterogenitäten	33	
		3.1.2 Flusserhöhung	35	
	3.2	Kontraktile Funktionen	39	
	3.3	Myokardiale Stoffwechselaktivität	41	
		3.3.1 ¹³ C-NMR-Spektrum	42	
		3.3.2 C4/C3-Verhältnis	42	
	3.4	Metabolite	45	
	3.5	Fraktionelle Anreicherung	47	
	3.6	Lokale Umsatzrate des Zitronensäurezyklus	49	
4.	Di	skussion	51	
	4.1 Einführung			
	4.2 Myokardialer Blutfluss		51	
		4.2.1 Kardiale Parameter	52	
	4.3	Heterogenität des kardialen Stoffwechsels	53	
		4.3.1 Metabolitgehalte	54	
		4.3.2 Substrataufnahmeraten	55	
		4.3.3 Enzymaktivitäten	56	
		4.3.4 Sauerstoffverbrauch	58	
	4.4	Ursachen des heterogenen Energiebedarfs	59	
	4.5	Durchblutung, Energieumsatz und –bedarf am Herzen	62	
5.	Ζι	Isammenfassung	66	
6.	5. Literaturverzeichnis 67			
7.	A	nhang	78	

1. Einleitung

1.1 Einführung

Die zentrale Funktion des Herzens ist es, den Kreislauf aufrecht zu erhalten und so einerseits die Versorgung der Organe mit Sauerstoff und Nährstoffen, andererseits den Abtransport freigesetzter Stoffwechselprodukte sicherzustellen. Venöses Blut wird über den rechten Vorhof und die rechte Herzkammer dem Lungenkreislauf zugeführt. Über die Lungenvenen, den linken Vorhof und die linke Herzkammer wird das nun mit Sauerstoff aufgesättigte Blut in die Körperperipherie gepumpt. Dies geschieht durch rhythmische aufeinander abgestimmte Kontraktionen der Vorhöfe und Herzkammern.

Die mechanischen Herzkontraktionen erfordern Großteil der den der in Herzmuskelzelle bereitgestellten Energie, wobei rund 75% der Energie ausschließlich von der Actomyosin-ATPase verbraucht werden. Der verbleibende Anteil wird zur Aufrechterhaltung der Ionengradienten und zur Strukturerhaltung der Zelle benötigt (Schramm 1994). Die Energie wird in Form von Adenosintriphosphat (ATP) transferiert. Unter Ruhebedingungen werden mehr als 90% des ATP durch die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien generiert und nur ein geringer Teil durch anaerobe Glykolyse. Der normale Gehalt der Myokardzelle an ATP (4-6 µmol/g Gewebe) reicht jedoch nur für wenige Herzschläge, so dass ein kontinuierliches und ausreichendes Sauerstoff- und Substratangebot unerlässlich ist (Schrader 1994).

Die myokardiale Durchblutung beträgt unter Ruhebedingungen im Mittel 0,7 - 0,8 ml/min/g Gewebe bei einem mittleren arteriellen Sauerstoffgehalt von 0,2 ml Q/ml Blut. Da der myokardiale Sauerstoffverbrauch mit ca. 0,1 ml Q/min/g Gewebe eine Sauerstoffextraktion von über 60% erfordert, kann das Herz unter Belastung seinen erhöhten Bedarf nur durch eine Steigerung der Durchblutung erreichen. Diese kann auf das 4 - 5-fache ansteigen (Feigl 1983).

Schon vor über 50 Jahren wurde die enge Kopplung von koronarer Durchblutung, myokardialem Sauerstoffverbrauch und kontraktiler Funktion erkannt, die angesichts der Bedeutung des Herzens für den Gesamtorganismus unerlässlich erscheint (Eckenhoff 1947). Allerdings betrachtete man damals das Herz als in sich einheitliches Organ ohne lokale, funktionelle und metabolische Unterschiede.

1.2 Heterogenität der myokardialen Durchblutung

Bei näherer Betrachtung des Herzens lassen sich auf verschiedenen Ebenen Unterschiede in der lokalen Durchblutung nachweisen. So verwundert es nicht, dass der makroskopischen Unterteilung des Herzens in rechten und linken Vorhof sowie in rechte und linke Herzkammer unterschiedliche mittlere Durchblutungsraten entsprechen. Die Durchblutung des linken Ventrikels, der mit etwa 70% den hauptsächlichen Massenanteil des Herzens ausmacht, beträgt 0,8 bis 1,0 ml/min/g. Dies entspricht einer um 15% höheren Durchblutung im Vergleich mit dem Gesamtorgan. Der rechte Ventrikel mit einem ungefähren Massenanteil am Gesamtherzen von 20% zeigt eine Durchblutung von ca. 0,4 bis 0,7 ml/min/g (King 1985, Hoffmann 1995). Da der rechte Ventrikel allerdings wegen des geringeren Widerstandes im Lungenkreislauf nur ca. 20 bis 25% des linksventrikulären Spitzendrucks aufbringen muss, scheint er damit vergleichsweise stark perfundiert. Bei gleichem Radius allerdings zeichnet sich der rechte Ventrikel mit 3 mm durch eine geringere Wanddicke als der linke Ventrikel aus. Diese führt nach dem Laplace-Gesetz trotz geringerer rechtsventrikulärer Nachlast zu einer höheren Wandspannung des rechten Ventrikels. Da die Wandspannung die wesentliche Determinante des myokardialen Sauerstoffverbrauchs darstellt, scheint somit auf Ebene der Herzkammern der Blutfluss dem jeweiligen Bedarf angepasst zu sein (Hoffmann 1995).

Neben den beobachteten Flussunterschieden zwischen den Kammern lässt sich linksventrikulär ein transmuraler Flussgradient von subepikardial nach subendokardial nachweisen. Marcus et al. beobachteten 1977 an Hunden eine um ca. 35% höhere Durchblutung des Endokards im Vergleich zum Epikard. Dieser Flussgradient zugunsten des Endokards wurde in den folgenden Jahren in weiteren Studien bestätigt (Austin 1990, Sonntag 1996). Allerdings existieren diesbezüglich auch gegensätzliche Beobachtungen, die diesen Flussgradienten nicht nachweisen konnten (Groeneveld 1992, Bussemaker 1994).

Schließlich finden sich bei hoher räumlicher Auflösung auch innerhalb jeder myokardialen Schicht deutliche Flussunterschiede. Dieses Phänomen wird als Mikro-Heterogenität bezeichnet.

1.2.1 "Mikro"-Heterogenität

Unterteilt man den linken Ventrikel in viele kleine Areale und bestimmt in diesen die jeweilige Durchblutung, so zeigen sich deutliche Flussunterschiede, die erstmals durch Yipintosi et al. 1973 mittels der Deposition radioaktiver Mikrosphären im Hundeherzen nachgewiesen werden konnten. In den folgenden Jahren wurden weitere Flussuntersuchungen am Herzen durchgeführt, die das Vorhandensein einer "Mikro"-Heterogenität bestätigten. Untersuchte man beispielsweise Proben des linken Hundeherzens mit einem mittleren Feuchtgewicht von 83 mg, so variierte die lokale Durchblutung in den einzelnen Proben zwischen 10 und 250% der mittleren Durchblutung. Die Mehrzahl der Proben (95%) zeigte einen lokalen Blutfluss zwischen 50 und 150% des myokardialen Mittelflusses; allerdings wiesen 5% der Proben einen mehr als 3-fachen Durchblutungsunterschied auf (Sonntag 1996).

Der Variationskoeffizient der Durchblutungsheterogenität beschreibt die Streuung der lokalen Blutflüsse um den mittleren Fluss. Abhängig von der Probengröße zeigte sich ein Variationskoeffizient von 21 bis 35% (Deussen 1998). Dabei nimmt der Variationskoeffizient mit Abnahme der Probengröße zu (Bassingthwaighte 1989). Bassingthwaighte beschreibt einen Variationskoeffizient von 12% in ca. 10 g schweren Proben bis zu ca. 24% in 0,2 g schweren Proben. Das kleinste erdenkliche Niveau, bis zu dem noch eine Durchblutungsheterogenität zu verzeichnen ist, liegt mittlerweile im mikroskopischen Bereich, so dass versucht wird, es mittels hochauflösender MR-Technik darzustellen (Bauer 2001).

Dass die lokale räumliche Flussverteilung kein zufälliges Phänomen darstellt, sondern durch fraktale Beziehungen gekennzeichnet ist (Deussen 1998), legten mathematische und Autokorrelations-Analysen nahe. Dabei unterschieden sich nebeneinander liegende Areale in ihren lokalen Blutflüssen weniger als im Vergleich zu weiter entfernt liegenden, woraus zu schließen ist, dass die Blutflüsse auf lokaler Ebene miteinander korreliert sind (Austin 1990).

Besagte Flussheterogenitäten sind bisher nicht nur an Hundeherzen (Bassinghtwaighte 1968), sondern auch an Herzen von Pavianen (King 1985), Schweinen (Ritmann 1998), Ratten (Bauer 2001), Kaninchen (Matsumoto 1999), Hamstern (Stapelton 1995), Schafen (Bassinghtwaighte 1990) und Menschen (Camici 1997) nachgewiesen worden. Diese Beobachtungen machen deutlich, dass kardiale Flussheterogenitäten ein universales Phänomen darstellen.

1.2.2 Zeitliche Durchblutungsheterogenität

Schon King et al. zeigten 1985 in ihren Untersuchungen an Pavianen, dass die beobachtete räumliche Heterogenität eine zeitliche Stabilität aufweist. Verschiedene Mikrosphären wurden über mehrere Stunden im Intervall von 20 Minuten appliziert. Der Variationskoeffizient der Deposition der Mikrosphären betrug in der zeitlichen Domäne nur 11%, während er in der räumlichen Domäne 33% betrug. Die zeitliche Heterogenität der lokalen Myokarddurchblutung ist somit im Gegensatz zur räumlichen zu vernachlässigen.

Unter unveränderten hämodynamischen Verhältnissen besteht eine enge Korrelation zwischen der lokalen Deposition simultan applizierter und der sukzessiv verabreichter Mikrosphären. Die zeitliche Stabilität der myokardialen Durchblutung konnte von verschiedenen Autoren für Zeiträume von 30 - 75 Minuten (Loncar 1998), 60 Minuten (Ritmann 1998), 120 Minuten (Groeneveld 1991) und sogar bis zu 13 Tagen (Laussmann 2002) gezeigt werden.

Voraussetzung für die Stabilität des lokalen Durchblutungsmusters des Herzens sind jedoch ähnliche Herz-Kreislaufverhältnisse zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten. So führt beispielsweise eine Vasodilatation zu einer relativ höheren Durchblutungssteigerung von primär niedrig perfundierten im Vergleich mit zuvor hoch perfundierten Arealen (Groeneveld 1992). Allerdings kommt es nach Abklingen der Vasodilatation innerhalb von 40 bis 112 Minuten zu einer Rückkehr der lokalen Flüsse auf ihren Ausgangsfluss (Deussen 1996). Im Gegensatz dazu bedingt eine kurzzeitige Flussreduktion keine Wiederherstellung des ursprünglichen lokalen Blutflusses. Nach Aufheben der Flusslimitierung ergibt sich eine Flussumverteilung (Bussemaker 1997).

1.2.3 Messverfahren

Die lokale myokardiale Durchblutung wird unter experimentellen Bedingungen zumeist unter Verwendung von Mikrosphären bestimmt, die auch heute noch als Gold-Standard betrachtet werden. Dabei handelt es sich um Plastikkügelchen mit einem mittleren Durchmesser von 10 - 15 µm, die z.B. radioaktiv markiert sein können. Bei einmaliger Kapillarpassage werden sie zu nahezu 100% extrahiert und retiniert. Bei homogener Verteilung im Blutstrom sollten somit das Angebot der Mikrosphären an ein Gewebeareal und die Mikrosphären-Depositionsdichte im Gewebe proportional zum lokalen Blutfluss sein. Diese Technik wurde erstmals von Domenech (1969) angewendet. Zur lokalen Flussbestimmung können statt radioaktiv markierter auch farbige (Kowallik 1991) oder fluoreszierende Mikrosphären (Abel 1993, Glenny 1993) verwendet werden. Ein potentieller Schwachpunkt der Mikrosphärentechnik ist, dass die Kügelchen aufgrund der von Erythrozyten abweichenden Größe und ihres spezifischen Gewichtes sowie ihrer Unverformbarkeit einen methodischen Fehler in der Blutflussbestimmung bewirken (Bassingthwaighte 1987): Mikrosphären könnten an einer Gefäßgabelung den Weg des größten Flusses in überproportionalem Maße einnehmen (Yen and Fung 1978). Vergleichsuntersuchungen mit der molekularen Tracersubstanz lododesmethylimipramin (IDMI) zeigten allerdings, dass dieser methodische Fehler zu vernachlässigen ist (Bassingthwaighte 1987, 1990).

Um eine Flussbestimmung mit ausreichender Präzision (ca. 5%) durchführen zu können, bedarf es der Deposition einer Mindestanzahl von ca. 200 – 400 Mikrosphären pro Probenareal (Polissar 2000). Dadurch wird die Minimalgröße eines Probenareals, in dem mittels dieser Technik eine Flussbestimmung durchgeführt werden kann, begrenzt. Deussen et al. (1998) zeigte, dass Flussuntersuchungen von

Herzarealen mittels Mikrosphärentechnik bis zu einer Größe von 50 mm³ vorgenommen werden können.

Neuere Methoden versuchen, sowohl nicht-invasiv als auch mit höherer räumlicher Auflösung lokale Blutflussbestimmungen durchzuführen. Dies gelingt bisher noch gewünschtem Maße. Der Schwachpunkt der Ganzkörpercomputernicht in tomographie ist eine zu geringe räumliche Auflösung von ca. 1 – 0,125 cm³ (Ritmann 1998). Mori et al. (1995) untersuchte Durchblutungsheterogenitäten in bis zu ca. 2,5 mm³ großen Myokardproben mittels Mikrosphären, an die zuvor in Linearbeschleunigern angeregte schwere Elemente gekoppelt wurden. Eine hochauflösende digitale radiologische Technik - basierend auf der Verteilung von ¹²⁵I- und ³H-Desmethylimipramin – ermöglicht eine räumliche Auflösung von 0,1 x 0,1 bis 1 x 1 mm² Pixel. Dies entspricht einer räumlichen Auflösung auf fast zellulärer Ebene (Matsumoto 1999, 2001). Eine neue hochauflösende magnetresonanztomographische Technik ermöglicht ohne Kontrastmittel über die räumliche Darstellung der longitudinalen Relaxationszeit T₁ die Bestimmung des myokardialen Flusses in Arealen einer Größe von 140 x 140 µm² (Bauer 2001).

1.3 Aufbau des koronaren Gefäßsystems

Da die am Herzen zu beobachtende Heterogenität der lokalen Durchblutung überwiegend räumlicher Natur ist, erscheint eine nähere Betrachtung des koronaren Gefäßsystems sinnvoll. Möglicherweise beeinflussen diese anatomischen Gegebenheiten die lokale Flussverteilung.

Das Herz wird von einer linken und einer rechten Herzkranzarterie mit Blut versorgt. Diese Arterien entspringen kurz oberhalb der Aortenklappe der Aorta ascendens. Im Verlauf durch das epikardiale Fettgewebe spaltet sich die linke Herzkranzarterie in den Ramus circumflexus und den Ramus interventricularis anterior auf. Von diesen drei großen epikardialen Gefäßen verlaufen Gefäßabzweigungen z.T. nahezu senkrecht durch das Myokard in Richtung Endokard. In der myokardialen Schicht kommt es zu wiederholten, häufig asymmetrischen dichotomen Teilungen der Gefäße mit der Ausbildung eines Gefäßbaumes, der bis zum Endokard reicht. Dabei

liegen insgesamt 11 Teilungsgenerationen zwischen der Aorta und den Kapillaren. Die myokardialen Kapillaren bilden ein dreidimensionales Netzwerk von Gefäßen, von denen die Kardiomyozyten umsponnen werden (Kassab 1993, 1994).

Auf der Grundlage des beschriebenen strukturellen Aufbaus des koronaren Gefäßsystems mit wiederholten dichotomen intramuralen Gefäßteilungen wurden Modellberechnungen durchgeführt. Unter der Annahme, dass die ex vivo gemessenen durch Asymmetrie gekennzeichneten Teilungswinkel und Durchmesser der Gefäße die Durchblutung bestimmen, konnte eine lokale myokardiale Flussverteilung abgeschätzt werden (Van Bavel 1992, Van Beek 1989, Tanaka 1999). Die Durchblutungsvariabilität in der Modellberechnung entsprach ungefähr experimentell bestimmten Werten.

Allerdings besitzen sowohl Niedrig- als auch Hochflussareale eine Dilatationsreserve, welche durch ein statisches Gefäßsystem nicht zu erklären wäre (Austin 1990). Ebenso kommt es nach Aufhebung einer koronaren Flusslimitierung zu einer lokalen Flussumverteilung. Somit scheint zusätzlich die Regulation der Koronardurchblutung entscheidend zu der beobachteten Flussheterogenität beizutragen (Bussemaker 1997). Es bedarf der näheren Betrachtung der Regulation der Koronardurchblutung.

1.4 Regulation der Koronardurchblutung

Die Regulation der Koronardurchblutung spielt eine zentrale Rolle, da die Sauerstoffextraktion des Herzens unter Ruhebedingungen schon bei über 60 % liegt. Unter Belastungen wie Herzfrequenzanstieg, Nachlaststeigerung oder aber Kontraktilitätszunahme kann der erhöhte Sauerstoffbedarf nicht durch vermehrte Sauerstoffextraktion, sondern nur durch eine Steigerung der Koronardurchblutung bis auf das 5-fache gedeckt werden (Feigl 1983).

Wie die myokardiale Durchblutung genau reguliert und wie sie dem jeweiligen Sauerstoffbedarf angepasst wird, bzw. welche Bedeutung die einzelnen Parameter im Gesamtsystem haben, ist derzeitig noch unvollständig geklärt (Schrader 1996, Toyota 2001).

Bis vor etwa 15 Jahren nahm man an, dass Adenosin die zentrale Rolle in der spielen würde. Sobald der lokale arterielle Sauerstoffpartialdruck Regulation stimuliere Adenosin - nach Freisetzung durch Kardiomyozyten abnähme glattmuskuläre Rezeptoren, deren Aktivierung nachfolgend eine Vasodilatation bewirke und somit das Sauerstoffangebot normalisiere (Berne 1980). Allerdings führte in neueren Untersuchungen eine 4-fache Steigerung des Sauerstoffverbrauchs in Verbindung mit einer Blockade der Adenosinrezeptoren weder zu einer Veränderung des koronaren Blutflusses, noch zu einer wesentlichen Steigerung der koronarvenösen Adenosinkonzentration (Kroll 1985, Duncker 1998, Tune 2000). Somit scheint Adenosin nicht für eine Vasodilatation bei erhöhtem Sauerstoffbedarf unter Belastung verantwortlich zu sein. Liegen jedoch Koronarstenosen vor, die unter Belastung eine ausreichende O₂-Zufuhr limitieren, so trägt die myokardiale Adenosinfreisetzung signifikant zu einer lokalen Vasodilatation bei (Laxson 1993, Duncker 1993).

Weiterhin trägt das Gefäßendothel durch die Produktion verschiedener vasoaktiver Substanzen beispielsweise Stickstoffmonoxid (NO) zur Regulation der Koronardurchblutung bei. NO wird aus L-Arginin durch die NO-Synthase in den Endothelzellen kontinuierlich gebildet und von diesen ins Blut abgegeben. Unter dem Einfluss von Bradykinin und Acetylcholin oder aber durch koronare Scherspannung und Gefäßdehnung wird NO vermehrt produziert (Kuo 1990). Obwohl die gefäßdilatatorische Wirkung von NO schon länger bekannt ist (Ignarro 1987), zeigen neuere Studien, dass eine Hemmung der NO-Synthase entweder keinen (Canty 1994) oder aber nur einen geringen Abfall der Koronardurchblutung zur Folge hat (Matsunaga 1996). Somit müssen weitere Faktoren in der Regulation der Koronardurchblutung eine Rolle spielen (Tune 2001). Zusammengefasst kann man allerdings festhalten, dass NO seine Bedeutung in der Regulation größerer epikardialer Gefäße im Sinne einer Vasodilatation besitzt (Tune 2002).

Vasopressin und Angiotensin II können ebenfalls als humorale Faktoren die Koronardurchblutung beeinflussen. Allerdings sind die physiologischerweise im Blut vorhandenen Plasmaspiegel zu gering, um einen wesentlichen Einfluss auf die Koronardurchblutung ausüben zu können (Olsson 1992).

1. Einleitung

Eine weitere Beachtung finden ATP-sensitive Kalium-Kanäle, welche erstmals 1989 von Standen et al. in der glatten Gefäßmuskulatur von Mesenterialarterien entdeckt wurden. Seitdem wurden viele Studien durchgeführt, um ihre Rolle in der Regulation des koronaren Gefäßtonus zu eruieren. Dabei zeigte sich, dass Hypoxie eine Aktivierung dieser Kanäle mit nachfolgender Vasodilatation bedingt. Wahrscheinlich wird die Aktivierung der Kanäle über Adenosin vermittelt (Daut 1990, Akatsuka 1994). Zusätzlich scheinen diese Kanäle den Tonus der Koronarien unter basalen Bedingungen mit zu beeinflussen, da eine Blockade zu einer Flussreduktion um 12 bis 25% führt (Richmond 1999, Dankelmann 1994). ATP-sensitive Kalium-Kanäle sind dagegen nicht an der Regulation einer Vasodilatation während kardialer Stimulation beteiligt (Richmond 2000, Duncker 1993).

Weiterhin trägt das vegetative Nervensystem zur Regulation der Koronardurchblutung bei. Für Acetylcholin ist über die Freisetzung von NO eine vasodilatorische Wirkung an Gefäßen belegt (Furchgott 1980), doch ist die physiologische Relevanz dieses vagalen Einflusses auf die Koronargefäße nicht klar (Feigl 1983). Untersuchungen an atherosklerotisch veränderten Koronarien zeigen zudem paradoxe Reaktionen in Form einer Vasokonstriktion nach Infusion von Acetylcholin (Feigl 1998).

Die Aktivierung des sympathischen Nervensystems führt über die Stimulation von α und ß-Adrenorezeptoren insgesamt zu einer Steigerung der Durchblutung (Feigl 1967). Durch die unterschiedliche Verteilung der Rezeptoren bedingt kommt es zu einer α -Rezeptor vermittelten Vasokonstriktion größerer Gefäße (> 100 µm) und gleichzeitig zu einer ßRezeptor vermittelten Vasodilatation kleinerer Gefäße. Diese Regulation trägt zu einer ausreichenden subendokardialen Durchblutung auch während sympathischer Stimulation bei. Unter dem Einfluss des Sympathikus kommt es zu einer Erhöhung der myokardialen Wandspannung und zu einer Verkürzung der Diastolendauer. Während der Systole ist die Durchblutung subendokardialer Bereiche kritisch eingeschränkt. Durch eine α -Rezeptor vermittelte Vasokonstriktion der Leitungsgefäße soll nun dieser Einschränkung entgegengewirkt werden (Huang 1988).

Die Koronardurchblutung wird somit von vielen Faktoren reguliert, deren Zusammenspiel und einzelne Gewichtung bisher noch nicht hinreichend aufgeklärt sind.

1.5 Der kardiale Stoffwechsel

In Anbetracht der ausgeprägten Heterogenität der lokalen myokardialen Durchblutung stellt sich die Frage, ob eine entsprechende Heterogenität im kardialen Stoffwechsel vorhanden ist und ob diese die Flussverteilung bedingt oder umgekehrt. Eine entsprechende Korrelation ist zu erwarten, da schon in frühen Studien am ganzen Herzen die enge Kopplung zwischen koronarer Durchblutung, myokardialem Sauerstoffverbrauch und Herzarbeit beschrieben worden ist (Eckenhoff 1947). Ein weiterer Hinweis ist, dass bei bekannt hoher arterio-venöser Differenz im Sauerstoffgehalt des Herzens Niedrigflussareale nicht ischämisch sind und diese somit eine entsprechend niedrigere Stoffwechselaktivität aufweisen müssen. Es scheint eine genauere Betrachtung des kardialen Stoffwechsels unumgänglich.

1.5.1 Energiegewinnung

Adenosintriphosphat (ATP) stellt die Energiequelle für die myokardiale Kontraktion und Aufrechterhaltung der zellulären Homöostase dar. Aufgrund geringer zellulärer Speicher (4 µmol/g) und eines hohen Ruheumsatzes (24 µmol/min/g) bedarf es einer engen Kopplung zwischen Energieerzeugung und –Verbrauch. Zusätzlich kann Kreatinphosphat initial der schnellen Resynthese von ATP dienen, was allerdings ebenfalls aufgrund begrenzter Kreatinphosphatspeicher von 6 - 8 µmol/g zeitlich limitiert ist (Heinemann 1990).

Unter aeroben Bedingungen wird aus Glucose in der Glykolyse Pyruvat gebildet, das in den Mitochondrien durch den Pyruvatdehydrogenasekomplex zu Acetyl-CoA decarboxyliert wird. Daneben entsteht Acetyl-CoA bei der β -Oxidation der Fettsäuren und beim Abbau vieler Aminosäuren und stellt somit die gemeinsame Endstufe des katabolen Kohlenhydrat-, Fett- und Proteinstoffwechsels dar. Der

Zitronensäurezyklus dient dem oxidativen Abbau von Acetyl-CoA unter der Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten, die in der Atmungskette reoxidiert werden.

Die Atmungskette ist aus vier Enzymkomplexen aufgebaut, die sich an der inneren Mitochondrienmembran und somit in unmittelbarer Nähe zum Zitronensäurezyklus befinden. Sie katalysiert die schrittweise Reduktion von Sauerstoff zu Wasser. Auf diese Weise wird ein elektrochemischer Protonengradient über der inneren Mitochondrienmembran aufgebaut, der dann die Energie für die oxidative Phosphorylierung, die Bildung von ATP aus ADP und anorganischem Phosphat, bereitstellt. Die für den Ablauf der Atmungskette notwendigen Reduktionsäquivalente entstammen zum größten Teil in Form von NADH + H⁺ dem Zitronensäurezyklus. Die Bereitstellung von NADH + H[†] an die Atmungskette ist unter aeroben Bedingungen an den Bedarf der Zelle (Bedarf an Energie in Form von ATP) angepasst. Somit liegt beispielsweise bei niedriger "Fließgeschwindigkeit" des Zitronensäurezyklus ein niedriger Energiebedarf der Zelle vor; die Stoffwechselaktivität dieser Zelle ist gering. Wird Glucose nun unter aeroben Bedingungen in den beschriebenen Stoffwechselwegen vollständig zu CO₂ und H₂O umgesetzt, so entstehen pro Mol Glucose 30 Mol ATP.

Bei der anaeroben Form der Glykolyse ist die Ausbeute an ATP wesentlich geringer: Pro Mol Gucose entstehen 2 Mol ATP. Die Bereitstellung von ATP erfolgt dabei in zunehmendem Maße durch die Umsetzung von Glucose zu Laktat. Eine Anhäufung von Laktat kann über eine Abnahme des Redox-Potentials zu einer Beeinträchtigung des Zellstoffwechsels und der Zellstruktur führen (Opie 1991).

Zusammengefasst kann man somit festhalten, dass eine bedarfsgerechte Versorgung des Herzens notwendig ist, wobei der Sauerstoffmangel im Gegensatz zum Substratangebot den limitierenden Faktor für die myokardiale ATP-Synthese darstellt. Myozyten extrahieren einerseits nur einen geringen Anteil der im Blut gelösten Substrate, andererseits ist die Wahl der Substrate der jeweiligen Stoffwechselsituation angepasst. Unter Ruhebedingungen werden zu ca. 65% freie Fettsäuren und zu ca. 30% Glukose verstoffwechselt. Unter körperlicher Belastung

wird mit über 60% hauptsächlich Laktat verstoffwechselt, welches als Energieabbauprodukt in der Skelettmuskulatur gebildet wird (Van der Vusse 1992).

1.5.2 Heterogenität des kardialen Stoffwechsels

Vor dem Hintergrund eines 3-fachen Flussunterschiedes zwischen Niedrig- und Hochflussarealen stellt sich die Frage, ob diese Flussheterogenität auch eine Stoffwechselheterogenität widerspiegelt. Möglicherweise existieren entsprechende Unterschiede im lokalen Energieumsatz und letztlich beim Energiebedarf.

Erste Untersuchungen bezogen sich auf die Bestimmung lokaler Metabolitspiegel. Bei Betrachtung der lokalen Metabolitspiegel zeigte sich im Vergleich zwischen Niedrig- und Mittelflussarealen kein Unterschied im lokalen Glykogen-, Laktat-, Adenosin- und ATP-Gehalt (Franzen 1988, Decking 1998 a). Dies lässt vermuten, dass Niedrigflussareale nicht hypoxisch sind und Sauerstoffangebot und Bedarf im Gleichgewicht stehen. Wären Niedrigflussareale minderperfundiert, so würde man entsprechend erniedrigte Glykogen und ATP-Gehalte, sowie erhöhte Laktat- und Adenosin-Konzentrationen erwarten.

Lokale Unterschiede im Stoffwechsel wurden auch auf der Ebene von Enzymaktivitäten erfasst. Die Aktivität bestimmter Schlüsselenzyme des Energiestoffwechsels wurde in mehreren Studien mit dem lokalen Blutfluss korreliert. Dabei zeigten sich widersprüchliche Ergebnisse. In Hochflussarealen fand sich eine geringe Zunahme der lokalen Kreatinkinase und Laktatdehydrogenase (Franzen 1988). Ebenso korrelierten mitochondriale Enzyme wie die Succinatdehydrogenase mit dem lokalen Blutfluss (Bussemaker 1997). Andererseits wurde keine Korrelation der Aktivität der Phosphoglycerat-Kinase und der mitochondrial lokalisierten Cytochrom-c-Oxidase und Citrat-Synthase mit dem lokalen Blutfluss beobachtet (Sonntag 1996). Somit kann auf der Basis der lokalen Enzymaktivitäten keine eindeutige Aussage hinsichtlich des lokalen Energieumsatzes gemacht werden.

Diese Untersuchungen gaben keinen Aufschluss darüber, ob sich Hoch- und Niedrigflussareale hinsichtlich ihres Sauerstoffverbrauchs und Energieumsatzes

tatsächlich unterscheiden. Insbesondere konnte nicht ausgeschlossen werden, dass Hochflussareale zwar einen erhöhten Fluss aber nur einen normalen Stoffwechsel aufweisen.

Erste Hinweise auf erhöhte Stoffwechselaktivitäten in Hochflussarealen ergaben sich aus der Untersuchung der lokalen Substrataufnahme. Eine Korrelation zwischen lokalem Blutfluss und der Aufnahme radioaktiv markierter Fettsäuren konnte 1993 von Groeneveld et al. und 1994 von Caldwell et al. gezeigt werden. Ebenso wurde eine dem myokardialen Blutfluss entsprechende Heterogenität der lokalen Glukoseaufnahme nachgewiesen (Sonntag 1996). Anhand von Modellberechnungen, die das Substrat-Angebot, die Membran-Permeabilität und die intrazelluläre Verstoffwechselung berücksichtigten, konnte für Glukose verdeutlicht werden, dass in Hochflussarealen die gesteigerte intrazelluläre Hexokinase-Aktivität und nicht eine erhöhte Membran-Permeabilität die erhöhte Glukoseaufnahme bedingen (Deussen 1997).

Um den lokalen Sauerstoffverbrauch und Energieumsatz zu bestimmen, sind indirekte Verfahren erforderlich. Die anfänglichen Studien auf diesem Gebiet beschäftigten sich damit, die lokale Oxygenierung zu messen, um darüber den Energieumsatz abschätzen zu können. Die lokale Oxygenierung wurde entweder durch Messen des myokardialen Sauerstoffpartialdrucks oder der Sauerstoffsättigung in kleinsten Gefäßen bestimmt. In Studien, die den Sauerstoffpartialdruck mittels intramyokardialer Elektroden bestimmten (Lösse 1974), zeigten sich einerseits stark streuende Werte, andererseits in über 60% der Messungen Sauerstoffpartialdrücke unter 18,8 mmHg. Die niedrigsten Sauerstoffpartialdrücke betrugen dabei nur 0 bis 5 mmHg. Diese Werte deuten an, dass lokaler Sauerstoffverbrauch und Blutfluss des Herzens nicht aufeinander abgestimmt sind. Zusätzlich schien in manchen Bereichen das Sauerstoffangebot deutlich unter dem Bedarf zu liegen. Möglicherweise haben jedoch de Elektroden selbst den lokalen Blutfluss verändert, so dass mittels dieser Methode aufgrund nicht valider Messungen keine aussagekräftige Beurteilung des lokalen Sauerstoffverbrauchs erfolgen kann.

1978 erfolgte von Weiss et al. die spektrophotometrische Messung der Sauerstoffsättigung in kleinen Arterien und Venen in unterschiedlichen Bezirken des

Herzens. Die jeweiligen Werte wurden mit dem lokalen Blutfluss korreliert, der mittels ⁸⁵Sr-Mikrosphären bestimmt wurde. Darüber konnte dann der Sauerstoffverbrauch berechnet werden. Es zeigte sich ein signifikant höherer Sauerstoffverbrauch des linken im Vergleich zum rechten Ventrikel bedingt durch eine entsprechend erhöhte Durchblutung.

Aktuell werden zwei Ansätze zur Bestimmung des lokalen Sauerstoffverbrauchs und Energieumsatzes verfolgt. Zum einen kann unter Gabe von markiertem Sauerstoff der Gewebegehalt des gebildeten markierten Wassers bestimmt werden. Dies erfolgt entweder während Zufuhr von ¹⁵O₂ mittels Positronenemissionstomographie (PET) oder während Verabreichung von ¹⁸O₂ mittels Massenspektrometrie. In beiden Fällen sind umfangreiche Annahmen zur Wasserpermeabilität in Niedriaund Hochflussarealen notwendig, um aus dem gemessenen markiertem Wassergehalt auf die Oxidationsrate zu schließen. Es wurde jedoch eine lineare Korrelation zwischen lokalem Blutfluss und Sauerstoffverbrauch sowohl über die ¹⁵O-Sauerstoffaufnahme mittels PET 1997) als auch über die (Li massenspektrometrische Bestimmung des $H_2^{18}O$ im myokardialen Gewebe aufgezeigt (Schwanke 2000).

Der zweite Ansatz, der auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, beruht auf der Bestimmung der Umsatzrate des Zitronensäurezyklus. Dieser ist durch Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten mit der oxidativen Phosphorylierung und damit mit dem Sauerstoffverbrauch gekoppelt. Dazu wurden ¹³C-markierte Substrate eingesetzt, deren Metabolisierung im Zitronensäurezyklus mittels der NMR-Spektroskopie verfolgt wurde. Mit Hilfe dieser Methode konnte bei hoher räumlicher Auflösung gezeigt werden, dass eine nahezu proportionale Zunahme des lokalen Sauerstoffverbrauchs mit dem lokalen Fluss besteht (Decking 1998 b, 2001; van Beek 1998, 1999).

Zusammenfassend lässt sich somit festhalten, dass die mit Hilfe verschiedener Methoden ermittelte regionale Stoffwechselaktivität und der lokale Blutfluss des Myokards aufeinander abgestimmt zu sein scheinen.

1.6 Fragestellung

Vor diesem Hintergrund bleibt noch ungeklärt, wodurch die dem lokalen Blutfluss proportionale ausgeprägt heterogene regionale Stoffwechselaktivität bei strukturell homogenem Myokard bedingt ist.

Wäre die unterschiedliche regionale Stoffwechselaktivität als Adaptation an das jeweilige Angebot und somit den Blutfluss zu verstehen, so müssten v.a. Niedrigflussareale bei verbesserter Durchblutung eine Steigerung ihrer Stoffwechselaktivität mit entsprechender Zunahme der kontraktilen Funktion aufweisen. Auch insgesamt würde es dann bei einer Steigerung der mittleren koronaren Durchblutung zu einer Erhöhung der mittleren Stoffwechselaktivität um denselben Faktor kommen. Bei einer verminderten koronaren Durchblutung käme es zu einer entsprechenden Reduktion der Stoffwechselaktivität mit Abnahme der kontraktilen Funktion.

Andererseits wäre es auch möglich, dass jede Myozyte einen bestimmten Sauerstoffbedarf aufweist und sich die lokale Durchblutung diesem Bedarf angepasst hat. Die unterschiedliche Stoffwechselaktivität könnte bei struktureller Homogenität der Myozyten durch eine unterschiedliche Genexpression bedingt sein. Eine pharmakologische Blutflusserhöhung würde dann weder eine lokale noch eine globale Steigerung der Stoffwechselaktivität bedingen. Ebenso wären vermutlich bei einer Flussreduktion Hochflussareale in besonderem Maße ischämiegefährdet, da sie die höchsten Stoffwechselaktivitäten aufweisen.

Diese Arbeit geht dieser Frage nach: Dazu wurde die lokale Durchblutung zunächst unter basalen Bedingungen erfasst, bevor durch Adenosin die regionale Durchblutung gesteigert wurde. Bei maximaler Vasodilatation wurde dann der lokale Sauerstoffverbrauch über die Umsatzrate des Zitronensäurezyklus bestimmt. Indem der lokale Sauerstoffverbrauch auf den basalen und den Fluss unter maximaler Vasodilatation bezogen wurde, konnte die Frage beantwortet werden, ob Flusserhöhung zu einem Anstieg der lokalen Umsatzrate führt, oder ob der basale Fluss die basale Umsatzrate widerspiegelt, also ob der lokale Bedarf den lokalen Umsatz und Fluss bedingt.

2. Material und Methoden

2.1 Versuchsprotokoll

In den Experimenten wurden 5 Beagle (Eigenzucht der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) beiderlei Geschlechts verwendet. Ihr Körpergewicht lag zwischen 13 und 19 kg; das Alter zwischen 10 ¹/₂ Monaten und 7 ¹/₂ Jahren.

Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Midazolam (2 mg/kg KG i.v.), Piritramid (3 mg/kg KG i.v.) und Vecuronium (0,2 mg/kg KG i.v.). Danach wurden die Tiere intubiert und mit sauerstoffangereicherter Luft kontrolliert beatmet. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurden Midazolam (0,6 mg/kg KG/h i.v.) und Piritramid (0,6 mg/kg KG/h i.v.) als Dauerinfusion zugeführt. Vecuronium wurde in einer Dosierung von 0,12 mg/kg KG alle 60 Minuten appliziert.

Die rechte Femoralarterie und -vene wurden freipräpariert und mit jeweils einem dreilumigen Katheder kanüliert. Über den arteriellen Zugang wurde Blut zur Bestimmung der Blutgase, des pH-Wertes, des Hämatokritwertes und des Laktatgehalts abgenommen. Anhand der Blutgasergebnisse (Acid-Base Laboratory 30, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) konnten die Beatmungsparameter bzw. der Flüssigkeitshaushalt korrigiert werden. Der arterielle Blutdruck wurde kontinuierlich aufgezeichnet; die Herzfrequenz wurde über einen Frequenzzähler aus dem Primärsignal berechnet (Gould Statham Instruments, Oxnard, Kalifornien, USA). Über den venösen Schenkel wurde Tyrodelösung (in Gewichtprozent: 0,8% NaCl, 0,02% KCl, 0,01% NaHCO3, 0,01% MgCl₂ *6H₂O, 0.02% CaCl₂ *2H₂O) zugeführt, die der Volumen- und Elektrolytsubstitution diente.

Die Körpertemperatur wurde mittels einer rektalen Temperatursonde (Thermistor: Modell BAT 8, Bailey Instruments, Saddle Brook, N.J./USA) gemessen und durch eine Wärmematte und Infrarotlampe zwischen 36 und 38°C gehalten.

Nach linksseitiger antero-lateraler Thorakotomie wurde das Perikard eröffnet und die linke Herzkranzarterie freipräpariert. Um während der Versuche den koronaren Blutfluß messen zu können, wurde entweder am Ramus circumflexus oder am Ramus interventricularis anterior der linken Herzkranzarterie ein Flußmesskopf (Transonic Flowmeter, Ithaka, New York, USA) angebracht. Über die rechte Vena jugularis interna wurde ein Katheter bis in den Sinus coronarius vorgeschoben, um koronarvenöse Blutgasanalysen vorzunehmen. Subtraktion des koronarvenösen Sauerstoff- und Laktatgehalts von dem der arteriellen Blutproben ergab die arteriokoronarvenöse Sauerstoff- und Laktatdifferenz. Der linksventrikuläre Druck wurde kontinuierlich mittels eines Millar-Tip-Katheters aufgezeichnet, der über das linke Herzohr vorgeschoben wurde; durch elektronische Differenzierung des Signals konnte als Parameter für Inotropie die Druckänderungsgeschwindigkeit (dP/dt) des linken Ventrikels aufgezeichnet werden. Im zukünftigen Bypass-Versorgungsgebiet des linken Ventrikels wurden zwei Ultraschallkristalle aufgenäht, wodurch die Myokardkontraktion in Form von Wanddickenänderungen erfaßt wurde.

Nach (5000 I.E.) Gabe Heparin und intravenöser Applikation von von Acetylsalicylsäure (500 mg) zur Thrombozytenaggregationshemmung wurde ein Bypass zwischen der linken Arteria femoralis und der linken Koronararterie angelegt. Ziel war, ein umschriebenes Areal des linken Ventrikels selektiv und kontrolliert zu perfundieren (= Bypassareal). Dafür wurde die linke Arteria femoralis mittels eines großlumigen Katheters kanüliert. Das Blut floss über ein nachfolgendes Schlauchsystem in ein gläsernes auf 37°C temperiertes Reservoir. Der Ausfluss des Reservoirs war über ein weiteres Schlauchsystem mit einer ca. 15 cm langen Stahlkanüle verbunden. Diese wurde via Art. carotis communis dextra bei schlagendem Herzen in den Hauptstamm der linken Koronararterie vorgeschoben und durch Ligatur fixiert. Die Blutversorgung des Herzens distal des Hauptstammes der linken Koronararterie erfolgte dann ausschließlich über Blut kommend aus dem Reservoir. Das Reservoir wurde zwischengeschaltet, um während des Versuches für eine bestimmte Zeit eine vom großen Kreislauf unabhängige Koronarperfusion zu ermöglichen. Mittels einer Rollerpumpe konnte die Füllung des Reservoirs kontrolliert werden. Der koronare Perfusionsdruck im Bereich des Bypassareals wurde über eine Wassersäule reguliert. In einigen Versuchen wurde nicht der Hauptstamm der linken Koronarie via Carotis kanüliert, sondern direkt der Ramus circumflexus bzw. der Ramus interventrikularis anterior. Diese Kanülierungen erfolgten ebenfalls am schlagenden Herzen. Die Ischämiezeiten zwischen Ligatur und Start der

Bypassperfusion lagen im Sekundenbereich, so daß nach ca. 20 Minuten unter stabilen Kreislaufverhältnissen mit dem Versuchsablauf fortgefahren werden konnte.

Mittels der Gabe verschiedener radioaktiver Mikrosphären (⁴⁶Scandium (⁴⁶Sc), ⁸⁵Strontium (⁸⁵Sr), ¹¹³Zinn (¹¹³Sn) und ¹⁵³Gadolinium (¹⁵³Gd)) konnte zu mehreren Zeitpunkten die lokale myokardiale Durchblutung gemessen werden. Die Mikrosphären waren jeweils in 10% (v/v) Dextran und 0,1% (v/v) Tween gelöst. Sie wurden für 10 - 20 Minuten in ein Ultraschallbad gestellt, um mögliche Aggregationen aufzulösen, und kurz vor Injektion auf einem Vortex geschüttelt, um eine homogene Suspension zu erreichen. Unmittelbar vor Injektion wurden sie mit 1,5 ml Blut vermischt. Die Injektion erfolgte über 1 Minute als Bolus; anschließend wurde mit Kochsalzlösung nachgespült. Bei direkter Injektion in den Bypass diente zudem eine der Koronararterie vorgeschaltete Durchmischungskammer der gleichmäßigen Verteilung.

Die erste Mikrosphäre (⁴⁶Sc) wurde mittels eines Katheters, der über das linke Herzohr in den linken Vorhof geschoben wurde, systemisch verabreicht. Dies erfolgte unmittelbar nach der Perikardiotomie. Die Deposition der ⁴⁶Sc-Mikrosphären repräsentierte somit den Blutfluss unter basalen Bedingungen. Zeitgleich wurde über eine Perfusorspritzenpumpe (B. Braun Melsungen AG) mit einer Geschwindigkeit von 10 ml/min Blut aus der Arteria femoralis aspiriert. Mittels der in der Blutprobe gemessenen Radioaktivität, auch als Referenzorgan bezeichnet, konnte später die lokale myokardiale Durchblutung berechnet werden (siehe unten).

Die zweite Mikrosphäre (⁸⁵Sr) wurde ebenfalls systemisch über den linken Vorhof appliziert; allerdings nach Kanülierung der linken Koronararterie. Das Reservoir wurde ausreichend mit Blut gefüllt und der Femoraliskatheter für die Dauer der Applikation der Mikrosphären abgeklemmt. Dies ermöglichte für einen Zeitraum von ca. 3 Minuten eine vom großen Kreislauf unabhängige Koronarperfusion aus dem Reservoir. Währenddessen wurden die ⁸⁵Sr-Mikrosphären in den linken Vorhof injiziert. Auf diese Weise erfolgte eine ⁸⁵Sr-Markierung aller Areale, die nicht ausschließlich vom Bypass versorgt wurden.

Über ca. 40 Minuten wurde nun mittels eines Perfusors kontinuierlich eine Pyruvatlösung (200 mM in NaCl) in einer Endkonzentration von 2 mM dem koronaren Blutfluß über den Bypass zugesetzt. Unter Pyruvatgabe wurde die nächste Mikrosphäre, ¹⁵³Gadolinium, direkt in den Bypass injiziert.

Ebenfalls unter kontinuierlicher Pyruvatinfusion wurde eine 3 – 4-fache pharmakologische Steigerung des koronaren Blutflusses induziert. Adenosin wurde in einer Konzentration von ca. 10 µM dem Bypass zugesetzt. Um einen konstanten koronaren arteriellen Druck auch bei Flusssteigerung trotz Druckabfall über die intrakoronar liegende Kanüle zu gewährleisten, wurde der Perfusionsdruck entsprechend erhöht.

Unter stabilen Kreislaufverhältnissen und einer konstanten koronaren Blutflusserhöhung auf das 3 – 4-fache wurde die bisherige Pyruvatinfusion durch eine Infusion von [3-¹³C]-Pyruvat der gleichen Konzentration abgelöst, eines Pyruvat-Isotops, bei dem im Pyruvat der Kohlenstoff an der 3. Position ¹³C-markiert war. Dieses wurde exakt über 12 Minuten dem koronaren Blutfluss zugesetzt. Unter laufender ¹³C-Pyruvatinfusion erfolgte kurz vor Exzision die Gabe von ¹¹³Zinn in den Bypass.

Nach Ablauf der 12 Minuten der ¹³C-Pyruvatinfusion wurde das vermutlich vom koronaren Bypass versorgte Gebiet des schlagenden Herzens als Block herausgeschnitten. Das Gewebe wurde kurz in eisgekühlte Tyrodelösung getaucht, um es von Blut zu befreien, und anschließend zwischen zwei Kupferblöcken in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Die Lagerung des Gewebes bis zur weiteren Aufbereitung erfolgte bei –70°C.

2.2 Lokale Durchblutungsmessung

2.2.1 Schnitttechnik

Der gefrorene Gewebeblock wurde 48 Stunden in einer Lyophylle gefriergetrocknet (LYOVAC GT 2, Finnaqua, Köln) und anschließend luftdicht bei -70°C aufbewahrt.

Nach Bestimmung des Gesamttrockengewichtes (elektronische Analysen- und Mikrowaage, Mettler AE 240) wurde der Gewebeblock in 6 x 6 x 6 mm³ große Stücke mit einem jeweiligen mittleren Trockengewicht von 50 mg zerschnitten. Die Schnittführung erfolgte in 8 Spalten von medial nach lateral, in 8 Zeilen von basal nach apikal und in 4 Schichten von subepikardial nach subendokardial (siehe Abbildung 2.1). Dies ergab ca. 256 Einzelproben. Diese wurden bis zur Weiterverarbeitung luftdicht bei -20°C gelagert.



Abb. 2.1: Schematische Schnittführung des Myokardblocks

2.2.2 Mikrosphärentechnik

Mittels der Gabe verschiedener radioaktiver Mikrosphären konnte zu mehreren Zeitpunkten die lokale myokardiale Durchblutung gemessen werden. Bei den Mikrosphären handelt es sich um radioaktiv markierte Partikel mit einem Durchmesser von ca. 15 µm, die sich vergleichbar mit Erythrozyten im Gefäßbett verteilen und somit den lokalen korpuskulären Blutfluss repräsentieren (Deussen

1998). Aufgrund ihrer Größe setzen sie sich bei ihrer ersten Passage im Kapillarbett fest und verbleiben dort. Sie verschließen keine ausreichende Zahl an Kapillaren, um Auswirkungen auf die lokale oder globale Hämodynamik zu haben.

Verwendet wurden Mikrosphären, deren Energiespektren gut voneinander abgrenzbar waren: (⁴⁶Scandium (⁴⁶Sc), ⁸⁵Strontium (⁸⁵Sr), ¹¹³Zinn (¹¹³Sn) und ¹⁵³Gadolinium (¹⁵³Gd)).

2.2.3 Messung der Probenradioaktivität

In einem Gamma-Counter (Wizard 1480, Wallac, Turku, Finnland) wurde die Radioaktivität der einzelnen Proben, der Referenzblutproben, der Standards sowie des Leerwertes gemessen (counts per minute (cpm)). Die Meßzeit betrug 5 min pro Probe. Die Energiebereiche, in denen die Aktivität für die verschiedenen Radionuklide gemessen wurde, waren 84 – 104 keV für ¹⁵³Gadolinium, 430 – 470 keV für ¹¹³Zinn, 490 – 530 keV für ⁸⁵Strontium und 850 – 1000 keV für ⁴⁶Scandium (siehe Tabelle 2.1).

Mikrosphäre	Aktivität Aufnahmefenster	Injektionsort	Zweck
⁴⁶ Scandium	26 dpm/MS 850-1000 keV	Linkes Atrium	lokaler Blutfluss nach Perikardiotomie (gesamtes Myokard)
⁸⁵ Strontium	28 dpm/MS 490-530 keV	Linkes Atrium (währenddessen Perfusion des Bypassareals aus Reservoir)	Markierung aller nicht ausschließlich durch den Bypass versorgten Areale
¹⁵³ Gadolinium	39 dpm/MS 84-104 keV	Koronarer Bypass	Basaler lokaler Blutfluss nach Start der Bypass- Versorgung
¹¹³ Zinn	32 dpm/MS 430-470 keV	Koronarer Bypass	lokaler Blutfluss während koronarer Blutflusssteigerung auf das 3-4fache und ¹³ C-Pyruvatinfusion

Tab. 2.1: Physikalische Eigenschaften, Aufnahmefenster, Injektionsort und Funktion der einzelnen Mikrosphären.

Die Auswahl berücksichtigte einerseits, dass die jeweiligen Grenzen den Bereich, in dem die Radionuklide ihre maximale Aktivität besaßen, einschlossen und andererseits keine Überschneidungen der gewählten Energiebereiche auftraten. Da radioaktiven Zerfall freigesetzt wird beim Energie und Radionuklide zu niederenergetischen Radionukliden zerfallen, wird ein Teil der Strahlung in einem Energiebereich unterhalb des charakteristischen Bereichs für das jeweilige Radionuklid gemessen. Dieser Vorgang wird auch als "spillover" bezeichnet und wirkt sich immer von höherenergetischen Radionukliden auf die Messung Um niederenergetischer Radionuklide aus. durch diesen Vorgang keine Fehlmessungen zu erhalten, wurden die einzelnen Probenmessungen entsprechend für den "spillover" und den Hintergrund korrigiert (corrected counts per minute (ccpm), MultiCalc software 1.84, Wallac).

2.2.4 Berechnung der lokalen myokardialen Durchblutung

Die lokale myokardiale Durchblutung konnte zu mehreren Zeitpunkten gemessen werden, da die einzelnen Mikrosphären ein unterschiedliches Aktivitätsfenster aufwiesen. Die Deposition, und damit die gemessene Radioaktivität der Mikrosphären in den Einzelproben, zeigte eine direkte Proportionalität zum lokalen Blutfluss.

⁸⁵Strontium-Mikrosphären wurden in den linken Vorhof gegeben, während das Bypass-Areal aus dem Reservoir versorgt wurde. Sie dienten dazu, das Bypassareal negativ zu markieren. Myokardproben, in denen Radioaktivität von ⁸⁵Strontium nachweisbar war, wurden nicht ausschließlich über den Bypass versorgt. Diese Proben wurden nicht weiter berücksichtigt. Die restlichen Proben (40 – 100%) wurden als Bypassareale bezeichnet und näher betrachtet.

Da die Mikrosphären-Deposition in einer Probe oder einem Organ proportional zum Blutfluss ist, wurde die Radioaktivität der einzelnen Probe auf die eines Referenzorgans bezogen, dessen "Durchblutung" 10 ml/min betrug. Indem zudem die Masse der einzelnen Probe berücksichtigt wurde, gelang es, die Durchblutung in ml/min/g anzugeben.

⁴⁶Sc-ccpm(Probe) x Masse(Probe) ⁻¹ x 10 ml/min

⁴⁶Sc-Blutfluss(Probe) =

⁴⁶Sc-ccpm(Referenz)

⁴⁶Sc-Blutfluss(Probe): lokale myokardiale Durchblutung während der ⁴⁶Scandium-Gabe (ml/min/mg)
⁴⁶Sc-ccpm(Probe): ⁴⁶Sc-Radioaktivität der Einzelprobe (ccpm)
⁴⁶Sc-ccpm(Referenz): ⁴⁶Sc-Radioaktivität der Referenzblutprobe (ccpm)
Masse (Probe): Masse der Einzelprobe (mg)

Während der ¹⁵³Gadolinium- und ¹¹³Zinn- Gabe in den Bypass erfolgte keine Entnahme einer arteriellen Referenz. Unter Kenntnis des jeweiligen koronaren Blutflusses (Ultraschall-Flussprobe) zum Zeitpunkt der Mikrosphärenapplikation konnte die lokale myokardiale Durchblutung bestimmt werden (hier Beispiel für ¹⁵³Gadolinium; für ¹¹³Zinn entsprechend):

¹⁵³ Gd-Blutfluss(Probe)=	¹⁵³ Gd-ccpm(Prot	be) x N	Masse(Probe) ⁻¹
	¹⁵³ Gd-ccpm _(Mittel)		⁴⁶ Sc-Koronarfluss
	⁴⁶ Sc-Blutfluss(Mittel)	X	¹⁵³ Gd-Koronarfluss

¹⁵³ Gd-Blutfluss(Probe):lokale	myokardiale	Durchblutung	während	der	¹⁵³ Gadolinium–Gabe
153 c i	n/mg)				

Gd-ccpm(Probe):	Radioaktivitat der Einzelprobe (ccpm)			
¹⁵³ Gd-ccpm(Mittel):	Mittelwert der Radioaktivitäten der Bypassproben (ccpm)			
⁴⁶ Sc-Blutfluss(Mittel):	Mittelwert des lokalen Blutflusses der Bypassproben während der			
	⁴⁶ Scandium-Gabe (ml/min)			
⁴⁶ Sc-Koronarfluss:	koronarer Fluss während der ⁴⁶ Scandium-Gabe (ml/min)			
¹⁵³ Gd-Koronarfluss:	koronarer Fluss während der ¹⁵³ Gadolinium-Gabe (ml/min)			
Masse(Probe):	Masse der Einzelprobe (mg)			

¹⁵³Gadolinium wurde kurz vor der pharmakologischen Flusssteigerung verabreicht. Die Deposition dieser Mikrosphären repräsentierte somit den lokalen myokardialen Blutfluss unter basalen Bedingungen. Die einzelnen Proben wurden in drei Gruppen eingeteilt: In Niedrig-, Mittel- und Hochflussareale. Die Mehrzahl der Proben stellten Mittelflussareale dar, deren Blutfluss zwischen 60 und 140% der mittleren lokalen myokardialen Durchblutung betrug. Lag die Durchblutung der Proben unter- oder oberhalb dieser Grenzen, so definierten wir sie als Niedrig- bzw. Hochflussareale. ¹¹³Zinn wurde während pharmakologischer Steigerung des koronaren Flusses auf das 3 – 4-fache und unter gleichzeitiger ¹³C-Pyruvatinfusion appliziert. Auch hier erfolgte entsprechend die Einteilung in Niedrig-, Mittel- und Hochflussareale.

Zur weiteren Verarbeitung wurden die Proben ausgewählt, die basal einen mittleren Fluss – und somit möglicherweise einen mittleren Energieumsatz – aufwiesen, aber unter Flusssteigerung einen relativ niedrigen bzw. hohen Fluss verzeichneten (Mittelfluss unter ¹⁵³Gadolinium und Hoch- oder Niedrigfluss unter ¹¹³Zinn). Ebenfalls wurden die Proben untersucht, die nach Flusssteigerung einen Mittelfluss, allerdings zuvor basal einen relativ niedrigen bzw. hohen Fluss aufwiesen (Mittelfluss unter ¹¹³Zinn und Hoch- oder Niedrigfluss unter ¹⁵³Gadolinium unter ¹¹³Zinn unter ¹¹³Zinn unter ¹¹³Zinn unter ¹⁵³Gadolinium bzw. hohen Fluss aufwiesen (Mittelfluss unter ¹¹³Zinn unter ¹¹³Zinn unter ¹⁵³Gadolinium); also Proben, die zuvor basal möglicherweise einen relativ niedrigen bzw. hohen Energieumsatz zeigten.

2.3 Messungen der lokalen Stoffwechselaktivität

2.3.1 Methodischer Ansatz

Durch die Bereitstellung der Reduktionsäquivalente NADH+H⁺ und FADH₂ ist der Zitronensäurezyklus eng mit der Atmungskette bzw. der oxidativen Phosphorylierung und somit mit dem zellulären Sauerstoffbedarf verbunden. Aufgrund dieses Zusammenhangs ist eine Abschätzung des Sauerstoffbedarfs anhand der gemessenen Umsatzgeschwindigkeit innerhalb des Zitronensäurezyklus möglich.

Hierzu wurde während der Versuche Pyruvat, das an Position 3 mit einem ¹³C-Isotop markiert war ([3-¹³C]-Pyruvat), in einer Endkonzentration von 2 mM dem koronaren Blutfluss über den Bypass für 12 Minuten zugesetzt. Nach Aufnahme in die Mitochondrien der Zellen wurde das markierte Pyruvat durch die [2-¹³C]-Acetyl-CoA Pyruvatdehydrogenase zu dekarboxyliert und in den Zitronensäurezyklus eingeschleust (siehe Abbildung 2.2). Aus Oxalacetat und [2-¹³C]-Acetyl-CoA entstand über [4-¹³C]-Citrat das [4-¹³C]- α -Ketoglutarat, welches sich aufgrund der hohen Aktivität des Malat-Aspartat-Shuttles in konstantem Austausch mit zytosolischem Glutamat und Aspartat befand; Glutamat wurde somit an Position C4 markiert ([4-¹³C]-Glutamat). Im weiteren Verlauf wurde α -Ketoglutarat über Succinat, Fumarat und Malat zu Oxalacetat umgewandelt. Aufgrund der Chiralität des Succinats existieren zwei Stereoformen, so dass die Wahrscheinlichkeit der Markierung an Position [2-¹³C] oder [3-¹³C] gleich hoch war. Beim zweiten Durchlauf des Zitronensäurezyklus entstand nach Einschleusen von [3-¹³C]-Pyruvat mit gleicher Wahrscheinlichkeit [2-4-¹³C]- α -Ketoglutarat und [3-4-¹³C]- α -Ketoglutarat und aufgrund des o.g. Austausches [2-4-¹³C]-Glutamat und [3-4-¹³C]-Glutamat.



Abb. 2.2: Zitronensäurezyklus (schematische Darstellung)

Bei ausschließlichem Substratangebot in Form von Pyruvat, welches an dritter Kohlenstoffposition mit einem Isotop markiert ist (hier als schwarzer Kreis dargestellt), kommt es zu entsprechender Markierung der übrigen - hier nicht vollständig dargestellten einer Nach Abspaltung CO₂-Gruppe vom α -Ketoglutarat Metabolite. ist die Wahrscheinlichkeit einer Markierung des Succinats an Position 2 oder 3 gleich hoch (graue Kreise). Trifft bereits markiertes Oxalacetat auf markiertes Citrat, so entsteht α-Ketoglutarat mit einer Markierung an Position 4 und Position 3 oder 2. Glutamat im Austausch mit a-Ketoglutarat wird somit bei einmaligem Umlauf des Zitronensäurezyklus nur an Position 4 markiert werden, bei zweimaligem Umlauf an Position 4 und an Position 2 oder 3.

Das Verhältnis der Markierung von Glutamat an Position C3 und Position C4 erlaubte eine Aussage über die Geschwindigkeit des Ablaufs des Zitronensäurezyklus. Bei einmaligem Umlauf wurde Glutamat nur an Position C4 markiert, beim nächsten Umlauf auch an Position C3. War nach begrenzter Dauer der [3-¹³C]-Pyruvat-Gabe der Quotient aus [4-¹³C] / [3-¹³C] Glutamat hoch, so entsprach dies einem langsamen Ablauf des Zitronensäurezyklus und somit einer niedrige Stoffwechselaktivität der Zelle; näherte sich umgekehrt der Quotient aus [4-¹³C] / [3-¹³C] Glutamat einem Verhältnis von 1 / 1, so bedeutete dies einen schnellen Ablauf des Zitronensäurezyklus und somit eine hohe Stoffwechselaktivität der Zelle. Nach unendlicher Zeit würde es zu einer Auffüllung des Zitronensäurezyklus mit ¹³C-Isotopen kommen. Dann würde das [4-¹³C] / [3-¹³C] Verhältnis des Glutamats unabhängig von der Geschwindigkeit des Ablaufs des Zitronensäurezyklus immer nahe 1 / 1 sein. Daher wurde die Zufuhr von [3-¹³C]-Pyruvat auf 12 Minuten beschränkt.

2.3.2 Extraktion

Die zuvor ausgewählten Proben wurden jeweils in 3 ml 0,5 molarer Perchlorsäure mit einem Stabmixer (Ultra-Turrax, IKA Labortechnik, Stauffen, BRD) homogenisiert. Um eine Erwärmung zu vermeiden, wurde das Gefäß von außen mit Eiswasser gekühlt. Der Überstand wurde bei 4°C und 17.000 Umdrehungen pro Minute über 30 Minuten abzentrifugiert (Sorvall[®] RC-5B, Refrigerated Superspeed Centrifuge, DuPont Instruments, Bad Homburg). Anschließend wurde er durch Titration mittels Kaliumphosphat neutralisiert. Die dabei ausfallenden Salze wurden durch Zentrifugieren mit 4000 Umdrehungen pro Minute bei 4°C entfernt. Der Überstand wurde bei -80°C tiefgefroren und anschließend über 24 Stunden lyophyllisiert (LYOVAC GT 2, Finnaqua, Köln). Die Lyophyllisate wurden unter Luftabschluß bei -80°C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert.

2.3.3 NMR-Spektroskopie

Die Lyophyllisate wurden in 2,5 ml D₂O gelöst. 2,25 ml dieser Lösung wurden nach Zusatz von 23 μ l einer [2-¹³C]-Acetatlösung mit einer Endkonzentration von 100 μ M mittels NMR vermessen; der Überschuss von 0,25 ml wurde bei -80°C tiefgefroren. Die Acetatlösung diente als Standard zur Kalibrierung der NMR-Spektren. Die Proben wurden dann in einem Bruker AMX-400-WB NMR-Spektrometer mit einem Kryomagneten BZH 400/89 und einer magnetischen Feldstärke von 9,4 Tesla vermessen. Die Messung erfolgte unter einer 2-Stufen Waltz16-Protonenentkopplung und einer Resonanzfrequenz von 100,6 MHz. Pro Probe wurden 24.000 Akkumulationen mit 8000 Datenpunkten aufgezeichnet. Der Impulswinkel betrug 70° bei einer Pulsdauer von 18,6 μ s und einem Pulsintervall von 1,5 s. Die Temperatur lag bei 295 K.

2.3.4 Spektralanalyse

Das generierte Spektrum mit Darstellung der Amplitude über die Zeit (Zeitdomäne) wurde nach Fourier-Transformation in ein Spektrum mit Darstellung der Amplitude in Abhängigkeit von der Frequenz umgewandelt (siehe Abbildung 2.3). Die Linienverbreiterung betrug 1 Hz. Danach erfolgte eine Phasenund Basislinienkorrektur. Da die jeweilige Resonanzfrequenz von der Magnetfeldstärke abhängt, werden die Spektren nach allgemeiner Konvention in relativen Einheiten dargestellt (ppm). Dazu diente der Acetat-Standard als Bezugspunkt. Somit konnten die einzelnen Peaks zugeordnet und deren Signalintensitäten durch Integration bestimmt werden (UXNMR, Bruker, Analytische Meßtechnik).



Abb. 2.3: ¹³C-Spektrum

Aufnahmebedingungen: 2-Stufen Waltz16-Protonenentkopplung; Impulswinkel 70°, 24.000 Akkumulationen mit 8k Datenpunkten, Pulsintervall 1,5 s, Linienverbreiterung 1 Hz.

Da die Messungen unter Protonen-Breitbandentkopplung aufgenommen worden sind, kam der Kern-Overhauser-Effekt verstärkt zum Tragen, so dass die gemessenen Signalintensitäten nicht direkt in Molaritäten umzurechnen waren. Deswegen wurden die Signalintensitäten auf eine unter gleichen Aufnahmebedingungen gemessene Standardlösung bezogen. Diese setzte sich aus 100 mM Glutamat, 100 mM Laktat, 100 mM Aspartat und 100 mM Alanin - gelöst in D₂O - zusammen. Unter Kenntnis des natürlichen Vorkommens von ¹³C-Isotopen von 1,1% ließen sich dann aus den Signalintensitäten Molaritäten berechnen.

Aufgrund der Wechselwirkung der jeweiligen Atomkerne mit ihrer chemischen Umgebung konnte jedem ¹³C-Kern innerhalb eines Moleküls genau eine Resonanzfrequenz zugeschrieben werden (chemische Verschiebung). C4-Glutamat präzedierte beispielsweise bei 34,2 ppm - unter Berücksichtigung der o. g. Magnetfeldstärke. Die einzelnen ¹³C-Metaboliten stellten sich jedoch nicht immer als singuläres Signal dar, sondern z. B. auch als Duplett oder Triplett. Die

Signalaufspaltung ist eine Folge der Spin-Spin-Kopplung. Diese entspricht einer magnetischen Wechselwirkung zwischen benachbarten ¹³C-markierten Kernen.

2.4 Biochemische Analysen

In den extrahierten Proben wurde spektrophotometrisch (Perkin-Elmer UV/VIS Spektrometer, Modell 557) der Gehalt der Metabolite des Zitronensäurezyklus und der mit ihm in Interaktion stehenden Stoffwechselwege gemessen. Die Messung erfolgte in Halbmikro-Kunststoff-Küvetten mit einer Schichtdicke von einem Zentimeter (Sarstedt, GmbH&Co, Nümbrecht). Aspartat, Laktat, Glutamat, Alanin und Citrat wurden in Einzelproben quantifiziert, α -Ketoglutarat, Malat und Oxalacetat aufgrund des geringen zellulären Gehaltes in Sammelproben von Mittelflussarealen. Die biochemische Analytik der in D₂O gelösten Proben erfolgte bis auf Glutamat nach der NMR-Messung. Bei Glutamat erfolgte sie aus dem nicht in der NMR vermessenen Probenmaterial.

Die enzymatischen Analysen folgten mit geringen Modifikationen den in Bergmeyer, Methods of enzymatic analysis, 1984, vorgeschlagenen Prinzipien. Die jeweiligen Testansätze, Modifikationen der Tests und verwendeten Wellenlängen sind der Promotionsarbeit von Herrn Dr. Stefan Skwirba zu entnehmen (Skwirba 2002).

Glutamat

L-Glutamat + NAD + H₂O

Diaphorase

NADH + H^+ + INT

 NH_3

 α -Ketoglutarat + NADH + H⁺ +

Citrat

Citrat	Citratlyase	Oxalacetat + Acetat
Oxalacetat + NADH + H^+	Malatdehydrogenase	Malat + NAD ⁺
Oxalacetat	Decarboxylase	Pyruvat + CO ₂
Pyruvat + NADH + H ⁺	Laktatdehydrogenase	Laktat + NAD ⁺
Alanin		
L-Alanin + NAD ⁺ + H ₂ O	L-Alanin- Dehydrogenase	Pyruvat + NADH + NH_4^+
Laktat		
L - Laktat + NAD ⁺	Laktatdehydrogenase	Pyruvat + NADH + H ⁺
Aspartat		
L-Aspartat + α-Ketoglutarat Oxalacetat + NADH + H ⁺	Aspartatamino- transferase	Oxalacetat + L-Glutamat L-Malat + NAD ⁺
a-Ketoglutarat		
α -Ketoglutarat + NADH	Glutamatdehydrogenase	Glutamat + NAD⁺
Malat		
L - Malat + NAD ⁺	Malatdehydrogenase	Pyruvat + NADH + H $^+$

Oxalacetat

Oxalacetat + NADH

```
Malatdehydrogenase
```

Malat + NAD⁺

Multiplikation der Metabolitgehalte mit dem Faktor 5 erlaubte, vom Trockengewicht den Gehalt im Feuchtgewebe zu berechnen. Dem liegt die Annahme eines Gewebswassergehaltes von 80% zugrunde.

2.4.1 Fraktionelle Anreicherung

Die enzymatischen Messungen wurden zur Bestimmung der fraktionellen Anreicherung durchgeführt. Die fraktionelle Anreicherung entspricht dem Anteil der jeweiligen mit ¹³C-markierten Metabolite an der jeweiligen Gesamtmetabolitmenge. Sie spiegelt somit den Grad der Aufnahme und Verstoffwechselung des dargebotenen ¹³C-Pyruvats wider. Unter Berücksichtigung der fraktionellen Anreicherung der relevanten Metabolite und des [4-¹³C] / [3-¹³C] Glutamat-Verhältnisses wurde mit Hilfe eines mathematischen Modells die Geschwindigkeit des Ablaufs des Zitronensäurezyklus der Einzelproben bestimmt.

2.5 Statistische Auswertungen

Zur Beurteilung des Zusammenhangs zwischen lokaler Durchblutung und Stoffwechsel des Herzens wurden als Zusammenhangsmaße der Rang-Korrelationskoeffizient nach Spearman (r_s) und die Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson (r) herangezogen.

Der statistische Nachweis von Unterschieden zwischen den Flussklassen (Niedrig-, Mittel- und Hochflussareale; Basal/Adenosin) konnte aufgrund des zugrunde liegenden Intervallskalenniveaus mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) erbracht werden. Die Auswirkung der insgesamt 3-fach gestuften unabhängigen Variable (= Blutfluss) auf die abhängige Variable (= Metabolitgehalt, lokale Umsatzrate des Zitronensäurezyklus) ließ sich in der ANOVA überprüfen, indem jede einzelne Abstufung der unabhängigen Variable mit jeder der beiden anderen verglichen wurde (niedrig vs. hoch, niedrig vs. mittel und mittel vs. hoch). Zusätzlich erfolgte eine Bonferroni-Korrektur, um das Ansteigen des α-Fehlers zu reduzieren. Prinzipiell entsprach dies der Durchführung eines tTests, der denjenigen Varianzanteil einer abhängigen Variablen aufdeckt, der sich durch ein 2-fach gestuftes unabhängiges Merkmal erklären lässt.
3. Ergebnisse

3.1 Myokardialer Blutfluss

3.1.1 Flussheterogenitäten

Die freie Wand des linken Ventrikels wurde jeweils in ca. 10 x 10 x 2,5 mm³ große Proben mit einem mittleren Feuchtgewicht von 259 \pm 69 mg geteilt. In den einzelnen Proben wurde der lokale basale Blutfluss über die Deposition der ¹⁵³Gadolinium-Mikrosphären bestimmt, die über den Bypass verabreicht wurden. Der basale Blutfluss stellte die physiologische myokardiale Durchblutung unter Ruhebedingungen dar. Die Mehrzahl der Areale hatte einen Blutfluss zwischen 60 und 140% des Mittelflusses. Ungefähr 11% der Proben hatten jedoch einen Fluss, der \leq 60% war. Ungefähr 12% der Proben hatten einen Fluss \geq 140% (siehe Abbildung 3.1). Die Flussverteilung ähnelte einer nach rechts geringfügig verbreiterten Gauß-Verteilung.





Proben mit einem Blutfluss $\leq 60\%$ wurden als Niedrigflussareale, Proben mit einem Blutfluss $\geq 140\%$ wurden als Hochflussareale und Proben mit einem Blutfluss zwischen 60 und 140% wurden als Mittelflussareale bezeichnet. Unter basalen Bedingungen ließen sich somit deutliche lokale Inhomogenitäten in der Perfusion des linken Ventrikels des Hundeherzens nachweisen. Während die Mehrzahl der Proben Mittelflussareale repräsentierten, ließ sich zwischen Niedrig- und Hochflussarealen ein Flussunterschied um den Faktor 2,3 bis 20 - im Mittel von ca. 3,6 - nachweisen. Niedrigflussareale hatten also ein im Mittel 3,6-fach niedrigeres Sauerstoff- und Substratangebot als Hochflussareale.

Die Proben der einzelnen Flussklassen verteilten sich scheinbar stochastisch über den linken Ventrikel. Niedrigflussareale lagen beispielsweise direkt neben Hochflussarealen. Allerdings ließ sich ein Gradient von subepikardial nach subendokardial nachweisen.

3.1.2 Flusserhöhung

Um den lokalen Fluss zu steigern, wurde eine Adenosin-Lösung mit einer Endkonzentration von 10 µM in den Bypass appliziert. Dies hatte einen Anstieg des Flusses auf das im Mittel 2,7-fache zur Folge (siehe Abbildung 3.2). Die Flusssteigerung variierte bei den Hunden 1 bis 5 zwischen 192 und 373%. Somit wurde nahezu bei jedem Hund mindestens eine Verdoppelung des koronaren Bypassflusses erreicht.



Abb. 3.2: Adenosin induzierte koronare Flusssteigerung

Flusssteigerung im koronaren Bypass (mit n=5) durch Zufuhr von 10 µM Adenosin. Messung des koronaren Blutflusses über einen Ultraschallmesskopf. Als Referenz diente der jeweilige mittlere koronare Blutfluss unter Basalbedingungen (= 100%).

Die o.g. Steigerung des Flusses im koronaren Bypass ging notwendigerweise einher mit einem Anstieg der lokalen Durchblutung in den einzelnen 260 mm³ großen Gewebeproben der linken Ventrikel der 5 Hunde. In nahezu jeder einzelnen Probe kam es im Vergleich zum basalen Fluss zu einer Steigerung der Durchblutung. In Abbildung 3.3 ist dieser durch die 10 µM Adenosin-Infusion bedingte Anstieg für jeden Hund bzw. jedes einzelne Areal dargestellt. Alle Flüsse sind in % zum mittleren basalen Fluss angegeben. Punkte oberhalb der Winkelhalbierenden markieren Areale, deren lokaler Fluss unter Adenosin im Vergleich zum basalen Fluss zunahm.



Abb. 3.3: Korrelation der basalen Durchblutung mit der unter Adenosin in den

Einzelproben. Darstellung der Blutflüsse in den einzelnen Gewebeproben in % des basalen Mittelflusses. Basale Durchblutung wurde über die Deposition von ¹⁵³Gadolinium-Mikrosphären im linken Ventrikel jedes Hundes (n=5), der Blutfluss unter Adenosin über die Deposition von ¹¹³Zinn-Mikrosphären bestimmt. Die Gewebeproben hatten ein Feuchtgewicht von 259 ± 69 mg. Die Mittlere Durchblutung unter Adenosin wurde mit einer gestrichelten Linie gekennzeichnet.

Es ist zu erkennen, dass es unter Adenosin zu einer Flusssteigerung in nahezu jeder Probe kam. Die Abbildung zeigt vor allem, dass unter Adenosin-Gabe der lokale Fluss in einem größeren Maße variierte als unter basalen Bedingungen, und somit die Verteilungsbreite des lokalen Flusses in jedem einzelnen Hund zunahm. Die Verteilungsbreite und der Mittelwert variierten zudem innerhalb der Hunde. Bei Hund 5 beispielsweise variierte der Fluss unter Adenosin in den einzelnen Gewebeproben zwischen 36 und 753% bezogen auf den basalen Mittelfluss. Unter basalen Bedingungen variierte der Fluss in den einzelnen Proben aller 5 Hunde nur etwa zwischen 20 und 200% bezogen auf den basalen Mittelfluss.

In Abbildung 3.4 ist für jedes Areal aller Hunde der prozentuale Flussanstieg unter Adenosin in Abhängigkeit vom basalen Fluss dargestellt.



Abb. 3.4: Relative Flusssteigerung in den Einzelproben unter 10 μ M Adenosin Korrelation des prozentualen Flussanstieges der Einzelproben mit dem basalen Fluss. Die basale Durchblutung wurde über die Deposition von ¹⁵³Gadolinium-Mikrosphären im linken Ventrikel jedes Hundes (n=5), der Blutfluss unter Adenosin über die Deposition von ¹¹³Zinn-Mikrosphären bestimmt. Die einzelnen Gewebeproben (n=532) hatten ein Feuchtgewicht von 259 ± 69 mg. Areale mit einer Flusserniedrigung unter Adenosin wurden nicht berücksichtigt. Trendlinie mit R²=0,1346.

Die Abbildung zeiat. dass die lokale Durchblutung nach pharmakologischer Flusssteigerung mittels 10 µM Adenosin-Lösung nicht proportional zum basalen Der ieweilige prozentuale Flussanstieg Fluss ansteigt. in den einzelnen Gewebeproben variierte deutlich. Niedrigflussareale hatten im Vergleich zu Hochflussarealen sowohl einen signifikant höheren relativen Flussanstieg als auch die größte Streubreite.

Unter der pharmakologisch erhöhten Durchblutung mittels Adenosin wurden ebenfalls Blutflussklassen definiert (siehe Abbildung 3.5). Proben mit einem Blutfluss \leq 60% des Mittelflusses unter Adenosin wurden als Adenosin-Niedrigflussareale, Proben mit einem Blutfluss \geq 140% wurden als Adenosin-Hochflussareale und Proben mit einem Blutfluss zwischen 60 und 140% wurden als Adenosin-Mittelflussareale bezeichnet.



Abb. 3.5: Flussverteilung im linken Ventrikel des Hundes unter Flusssteigerung durch Adenosin. Über die Deposition von ¹¹³Zinn-Mikrosphären wurde im linken Ventrikel des Hundes (n=5) die lokale Durchblutung in Gewebeproben (n=573) von 259 ± 69 mg Feuchtgewicht gemessen. Gabe der Mikrosphären unter 2-4facher koronarer Blutflusserhöhung durch 10 μ M Adenosin als Dauerinfusion in den koronaren Bypass. Darstellung der relativen Häufigkeit der einzelnen Flussklassen.

Die Blutflusserhöhung führte nicht zu einem Erreichen eines überall gleichen Maximalflusses. Die Flussverteilung ähnelte zwar wiederum einer Gauß-Verteilung, diese war allerdings wesentlich breiter als unter basalen Bedingungen. Während unter basalen Bedingungen 11% aller Areale einen niedrigen Fluss aufwiesen ($\leq 60\%$ des Mittelwertes), wiesen unter Adenosin 19% aller Proben einen Fluss $\leq 60\%$ des jetzt erhöhten Mittelflusses auf, waren also Adenosin-Niedrigflussareale. Ebenso wurden unter basalen Bedingungen nur 12% der Areale als Hochflussareale definiert ($\geq 140\%$ des Mittelwertes). Unter Adenosin wiesen 17% aller Proben einen Fluss $\geq 140\%$ des jetzt erhöhten Mittelflusses auf, waren also Adenosin-Hochflussareale.

3.2 Kontraktile Funktionen

Bei allen Hunden wurde während der Versuche kontinuierlich die linksventrikuläre Funktion aufgezeichnet. Die kontraktile Funktion wurde erfasst über den linksventrikulären Druck (LVP), die Wanddickenänderung des linken Ventrikels und als sensibelstes Maß - die linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt) (siehe Abbildung 3.6). Die durch Adenosin vermittelte pharmakologische Steigerung des koronaren Flusses hatte keinen signifikanten Einfluss auf die o.g. Parameter. Die Steigerung des Blutflusses führte zu keiner Verbesserung der myokardialen Funktion bzw. zu keiner Zunahme der Inotropie. Dabei lagen 75% der gemessenen maximalen linksventrikulären Druckwerte oberhalb von 105 mmHg.



Abb. 3.6: Auswirkungen der Adenosin-induzierten Flusssteigerung auf die kontraktile Funktion: maximaler linksventrikulär entwickelter Druck (LVP), maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt) und maximale Wanddickenänderung. Darstellung der funktionellen Veränderungen unter koronarer Adenosin-Infusion (10 µM) in % der Basalwerte. P war > 0,05 bei n=4 bzw. 5; dies bedeutete keine signifikante Veränderung.

Abbildung 3.7 zeigt, dass die Adenosin-induzierte Flusssteigerung auch keinen signifikanten Einfluss auf die Chronotropie hatte. Die Flusssteigerung führte bei den 5 untersuchten Hunden weder zu einer signifikanten Zunahme noch zu einer signifikanten Abnahme der Herzfrequenz.



Abb. 3.7: Auswirkungen der Adenosin-induzierten Flusssteigerung auf die Herzfrequenz. Darstellung der mittleren Herzfrequenzen vor und unter koronarer Adenosin-Infusion (10 μ M). P war > 0,05 bei n=5; dies bedeutete keinen signifikanten Unterschied.

Zusammenfassend kann man sagen, dass weder die globale noch die lokale linksventrikuläre Funktion signifikant durch die im koronaren Bypass durch Adenosin induzierte Flusssteigerung verändert wurde.

3.3 Myokardiale Stoffwechselaktivität

Die lokale Umsatzrate im Zitronensäurezyklus wurde in ausgewählten Arealen untersucht. Zum Einsatz kamen vorzugsweise die Proben, die entweder unter basalen Bedingungen oder aber unter Adenosin als Niedrig- oder Hochflussareale klassifiziert worden waren.

3.3.1 ¹³C-NMR-Spektrum

Die lokale myokardiale Stoffwechselaktivität, das heißt die Umsatzrate im Zitronensäurezyklus, wurde unter Gabe von [3-¹³C]-Pyruvat über den Einbau der ¹³C-Markierung in die Metabolite des Zitronensäurezyklus bestimmt. Die Anreicherung wurde mittels NMR-Spektroskopie gemessen und die Peaks der generierten Spektren wurden vermessen. Über das Verhältnis des [4-¹³C]-Glutamat zu [3-¹³C]-Glutamat konnte die Stoffwechselaktivität in den jeweiligen Proben bestimmt werden. Dies war möglich - da wie oben beschrieben (s. Material und Methoden) - unter Gabe von [3-13C]-Pyruvat zunächst [4-13C]-Glutamat und erst im weiteren Umlauf des Zitronensäurezyklus [3-¹³C]-Glutamat entstand. Nach 12 Minuten kann eine relativ hohe ¹³C-Markierung des [4-¹³C]-Glutamat erwartet werden. Eine geringe Markierung an [3-13C]-Glutamat und damit ein großer [4-13C]-Glutamat zu [3-13C]-Glutamat-Quotient (C4/C3-Quotient) spräche dann für einen geringen Energieumsatz, ein hoher Grad der Markierung an C3 und damit ein C4/C3-Quotient nahe 1 / 1 für eine hohe Stoffwechselaktivität. Die Peaks von [4-¹³C]-Glutamat waren in allen von uns generierten Spektren größer als die von [3-¹³C]-Glutamat. Dies bestätigte, dass die Markierung der Metabolite des Zitronensäurezyklus mit ¹³C-Isotopen in den untersuchten Proben in der o.g. Reihenfolge erfolgte. Auch führte das der Herzmuskelzelle über 12 Minuten als Substrat angebotene [3-¹³C]-Pyruvat noch nicht zu einem Steady-State, da die Markierung des [4-13C]-Glutamat bei weitem die Markierung des [3-13C]-Glutamat überstieg. Nach unendlich langer Zufuhr von ¹³C-Pvruvat wäre in Abwesenheit eines anaplerotischen Einstroms der C4/C3-Quotient gleich 1 und eine Differenzierung der Stoffwechselaktivität nicht mehr möglich.

3.3.2 C4/C3-Verhältnis

Das Verhältnis aus [4-¹³C]-Glutamat zu [3-¹³C]-Glutamat ist somit ein Maß für die lokale Umsatzrate des Zitronensäurezyklus. Diese variierte in den untersuchten Proben mit einem C4/C3-Verhältnis zwischen minimal 1,29 und maximal 4,21 um ca. 330%. Es ließ sich somit neben der Flussheterogenität auch eine deutliche Heterogenität in der lokalen Stoffwechselaktivität nachweisen. Jeder in der NMR vermessenen Myokardprobe war nicht nur ein C4/C3-Verhältnis zuzuordnen,

sondern ein basaler und ein pharmakologisch durch Adenosin gesteigerter Blutfluss. Proben der Klassen Niedrig-, Mittel- und Hochfluss unter basalen Bedingungen und unter Adenosin wurden für die NMR-spektroskopische Untersuchung ausgewählt. Die Frage war, ob eine Korrelation zwischen dem lokalen Blutfluss und der lokalen Stoffwechselaktivität bestand. In Abbildung 3.8 ist der Zusammenhang zwischen dem erhöhten Blutfluss und der diesem Zeitpunkt lokalen zu gemessenen Stoffwechselaktivität aufgezeichnet. Die in der Abbildung dargestellte Trendlinie zeigt, dass kein Zusammenhang zwischen dem Fluss unter Adenosin und dem C4/C3-Verhältnis bestand. Areale mit einem niedrigen Fluss unter Adenosin besaßen im Mittel das gleiche C4/C3-Verhältnis wie Areale mit einem hohen Fluss.



Abb. 3.8: C4/C3-Verhältnis in Korrelation zum lokalen Blutfluss unter Flusserhöhung Über die Deposition von ¹¹³Zinn-Mikrosphären, die unter Adenosin-Infusion (10 μ M) in den koronaren Bypass injiziert wurden, wurde im linken Ventrikel des Hundes (n=5) die lokale Durchblutung in Gewebeproben (n=92) von 259 ± 69 mg Feuchtgewicht gemessen.

Eine qualitativ andere Beziehung wird deutlich, wenn das unter erhöhtem Fluss bestimmte C4/C3-Verhältnis mit dem basalen Blutfluss korreliert wurde. Dies ist in Abbildung 3.9 dargestellt. Hier ließ sich eine signifikante Korrelation deutlich erkennen. Das C4/C3-Verhältnis war in ursprünglichen Niedrigflussarealen hoch. Dies entsprach einer niedrigeren Stoffwechselaktivität. In Hochflussarealen zeigte sich ein niedriges C4/C3-Verhältnis, was einer höheren Stoffwechselaktivität entsprach. Es ließ sich somit eine signifikante Korrelation zwischen der Stoffwechselaktivität und dem basalen Blutfluss nachweisen.





Über die Deposition von ¹⁵³Gadolinium-Mikrosphären, die in den koronaren Bypass injiziert wurden, wurde im linken Ventrikel des Hundes (n=5) die lokale Durchblutung in Gewebeproben (n=92) von 259 \pm 69 mg Feuchtgewicht gemessen (lineare Korrelation: r=0,315; p<0,002; nicht parametrische Korrelation Spearmann: r=0,227; p<0,05).

Eine weitere Frage war, ob die Flusssteigerung zu einer Veränderung des mittleren C4/C3-Verhältnisses führte. So wäre es vorstellbar, dass es zu einer Erniedrigung des Verhältnisses käme im Sinne einer Erhöhung der mittleren Stoffwechselaktivität. Wurde ¹³C-Pyruvat bei pharmakologisch erhöhtem Fluss gegeben, betrug das mittlere C4/C3-Verhältnis 2,09 \pm 0,47. In C4/C3-Studien unter basalen Bedingungen war zuvor (Skwirba 2001) ein mittleres Verhältnis von 1,98 \pm 0,48 gemessen worden (siehe Abbildung 3.10). Es ließ sich somit keine signifikante Differenz im C4/C3-Verhältnis durch eine Blutflusserhöhung feststellen.



Abb. 3.10: Mittleres C4/C3-Verhältnis in Korrelation basaler versus erhöhter Blutfluss Darstellung des mittleren C4/C3-Verhältnisses unter basalen Bedingungen (Skwirba 2001) und des mittleren C4/C3-Verhältnisses unter Blutflusserhöhung durch 10 µM Adenosin-Infusion in den koronaren Bypass.

3.4 Metabolite

In den extrahierten Gewebeproben wurden die Intermediärprodukte des Zitronensäurezyklus und mit ihm in engem Austausch stehender Stoffwechselwege enzymatisch bestimmt. Abbildung 3.11a,b gibt den Zusammenhang des Gehalts der verschiedenen Metabolite in Niedrig-, Mittel- und Hochflussarealen wieder.

Die Abbildung zeigt, dass der myokardiale Glutamat-, Laktat- und Alaningehalt mit dem lokalen basalen Blutfluss korrelierte. Basale Hochflussareale wiesen einen signifikant höheren Gehalt dieser Metabolite als basale Niedrigflussareale auf. Nach Anhebung des lokalen Flusses durch Adenosin ließ sich diese Korrelation nicht mehr nachweisen. Unter Adenosin wiesen Niedrig-, Mittel- und Hochflussareale einen ähnlichen Gehalt der jeweiligen Metabolite auf. Einzig der Gehalt an Alanin korrelierte sowohl mit dem basalen als auch dem Blutfluss unter Adenosin. Der Citrat- und Aspartatgehalt war unabhängig von der lokalen Durchblutung in Niedrig-, Mittel- und Hochflussarealen annähernd gleich.



Abb. 3.11a: Glutamat-, Citrat-, Laktatgehalt in Niedrig-, Mittel- und Hochflussarealen des Hundeherzens. (siehe Legende zu Abbildung 3.11b).



Abb. 3.11b: Aspartat- und Alaningehalt in Niedrig-, Mittel- und Hochflussarealen des Hundeherzens. Gegenüberstellung der Flussklassen unter basalen Bedingungen und unter Blutflusserhöhung durch 10 μ M Adenosin-Infusion in den koronaren Bypass. Die Gewebeproben hatten ein Feuchtgewicht von 259 ± 69 mg. In Klammern ist die jeweilige Anzahl der untersuchten Proben aufgeführt. * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001 (ANOVA).

3.5 Fraktionelle Anreicherung

Mit Hilfe des in der NMR gemessenen Anteils an [4-¹³C]-Glutamat und des enzymatisch ermittelten Gesamtgehalts an Glutamat konnte in den Einzelproben die fraktionelle Anreicherung des Glutamats mit ¹³C-Isotopen bestimmt werden. Wie die Abbildung 3.12 zeigt, war die fraktionelle Anreicherung in Niedrig-, Mittel- und Hochflussarealen sowohl unter basalen Bedingungen als auch unter Adenosin

gleich. Der ¹³C-Anreicherungsgrad des Glutamats lag im Mittel bei 40,4 \pm 13%. Es ließ sich somit weder unter basalen Bedingungen noch unter Flusserhöhung eine Korrelation zwischen dem lokalen Fluss und dem ¹³C-Anreicherungsgrad des Glutamats nachweisen. Dies weist darauf hin, dass in Niedrigflussarealen das [3-¹³C]-Pyruvat-Angebot nicht limitierend war.



Abb. 3.12: Fraktionelle Anreicherung im $[4^{-13}C]$ -Glutamat nach 2 mM $[3^{-13}C]$ -Pyruvatinfusion über 12 Minuten. Gegenüberstellung der Flussklassen unter basalen Bedingungen und unter Blutflusserhöhung durch 10 µM Adenosin-Infusion in den koronaren Bypass. Die Gewebeproben hatten ein Feuchtgewicht von 259 ± 69 mg. In Klammern ist die jeweilige Anzahl der untersuchten Proben aufgeführt.

Darüber hinaus wurde aus dem Verhältnis des in der NMR gemessenen [4-¹³C]-Glutamat-Dupletts zum [4-¹³C]-Glutamat-Multiplett und dem jeweiligen C4/C3-Verhältnis ein Maß für die fraktionelle Anreicherung im Acetyl-CoA mit ¹³C-Isotopen ermittelt. Dieses war sowohl unter basalen Bedingungen (Niedrigfluss: 101 ± 38, Mittelfluss: 82 ± 26, Hochfluss: 84 ± 18) als auch unter Adenosin (Adenosin-Niedrigfluss: 82 ± 27, Adenosin-Mittelfluss: 84 ± 27, Adenosin-Hochfluss: 89 ± 27) unverändert. Der ¹³C-Anreicherungsgrad des Acetyl-CoA lag im Mittel bei 84 ± 27. Da auch hier kein signifikanter Unterschied im ¹³C-Anreicherungsgrad zwischen Niedrig- und Hochflussarealen nachzuweisen war, führte die geringere lokale Durchblutung in Niedrigflussarealen nicht zu einem unzureichenden [3-¹³C]- Pyruvatangebot. Unterschiede im C4/C3-Verhältnis konnten nicht auf ein vermindertes Substratangebot zurückgeführt werden.

3.6 Lokale Umsatzrate des Zitronensäurezyklus

Die lokale Umsatzrate des Zitronensäurezyklus konnte mit dem im Abschnitt "Material und Methoden" beschriebenen Modell und den zuvor dargestellten Daten abgeschätzt werden (Abbildung 3.13). Weiterhin wurde berücksichtigt, dass Unterschiede im C4/C3-Verhältnis auch - unabhängig von der Umsatzrate des Zitronensäurezyklus - durch den Zufluss von nicht ¹³C-markierten Metaboliten in den Zitronensäurezyklus bedingt sein können. Dieser sogenannte anaplerotische Fluss führt zu einer Abnahme der fraktionellen Anreicherung im Metabolitpool des Zitronensäurezyklus, und dies ausschließlich im Bereich der C2 bzw. C3 markierten Metabolite. Frühere Untersuchungen zeigten (Skwirba 2001), dass der relative Beitrag des anaplerotischen Flusses zum Gesamtumsatz des Zitronensäurezyklus in Niedrig- und Hochflussarealen gleich war, so dass weiterhin das C4/C3-Verhältnis zur Bestimmung der lokalen Stoffwechselaktivität herangezogen werden konnte.

Abbildung 3.13 zeigt, dass eine Korrelation zwischen dem lokalen basalen Blutfluss und der Umsatzrate des Zitronensäurezyklus bestand. In Niedrigflussarealen lag die Umsatzrate im Mittel bei 0,75 \pm 0,20, in Mittelflussarealen bei 1,20 \pm 0,45 und in Hochflussarealen bei 1,41 \pm 0,40. Hochflussareale wiesen eine ca. 1,9-fach höhere Umsatzrate auf als Niedrigflussareale. Die Flusssteigerung bewirkte dagegen eine Aufhebung der ursprünglichen Korrelation. Unter 10 µM Adenosin-Infusion, die eine koronare Flusssteigerung auf das 2,7-fache bewirkte, ließ sich kein Zusammenhang zwischen dem lokalen Blutfluss und der Umsatzrate des Zitronensäurezyklus nachweisen.



Abb. 3.13: Lokale Umsatzrate des Zitronensäurezyklus in Niedrig-, Mittel- und Hochflussarealen. Gegenüberstellung der Flussklassen unter basalen Bedingungen und unter Blutflusserhöhung durch 10 μ M Adenosin-Infusion in den koronaren Bypass. Die Gewebeproben hatten ein Feuchtgewicht von 259 ± 69 mg. In Klammern ist die jeweilige Anzahl der untersuchten Proben aufgeführt. * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001 (ANOVA).

4. Diskussion

4.1 Einführung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang von koronarem Blutfluss und kardialem Stoffwechsel am Hundeherzen untersucht. Ziel der Arbeit war, den lokalen myokardialen Energiebedarf abzuschätzen. Dazu wurde die lokale myokardiale Durchblutung unter Ruhebedingungen und unter pharmakologischer Blutflusserhöhung gemessen. Der lokale Energieumsatz wurde zum Zeitpunkt der Blutflusserhöhung erfasst.

Mit diesem Ansatz konnte gezeigt werden, dass Myokardareale, die unter basalen Bedingungen Niedrigflussareale darstellen, im Vergleich zu entsprechenden Hochflussarealen auch nach pharmakologischer Flusserhöhung tatsächlich einen niedrigeren Energieumsatz und somit -bedarf aufweisen. Ebenso sind diese Niedrigfluss- im Vergleich zu Hochflussarealen neben einer niedrigeren Umsatzrate des Zitronensäurezyklus durch niedrigere Metabolitgehalte z.B. an Laktat und Glutamat gekennzeichnet. Eine Steigerung des koronaren Blutflusses hatte keine nachweisbaren Auswirkungen auf den kardialen Energieumsatz. Die basale myokardiale Durchblutung ist somit Spiegel des lokalen Energieumsatzes und Energiebedarfs.

4.2 Myokardialer Blutfluss

Der lokale Blutfluss wurde mit der etablierten Methode der Mikrosphärentechnik über die Deposition von radioaktiv markierten Mikrosphären gemessen (Heymann 1977). Die Flussverteilung im linken Ventrikel ähnelte unter basalen Bedingungen einer Gauß-Verteilung. Unter pharmakologisch erzielter 2,7-facher Flusssteigerung kam es zu einer neuen Flussverteilung mit linkssteiler flachgipfliger Kurve. Die Flusssteigerung erfolgte durch eine kontinuierliche Adenosininfusion mit einer Endkonzentration von 10 µM in den koronaren Bypass.

In fast allen Versuchen führte Adenosin in jeder einzelnen Probe zu einer Flusszunahme, deren absolutes Ausmaß in Hochflussarealen nur geringgradig niedriger war als in Niedrigflussarealen. Die relative Flusssteigerung stellte sich in einzelnen Flussregionen unterschiedlich dar. Insgesamt zeichneten sich den Niedrigflussareale im Vergleich zu Hochflussarealen durch einen größeren relativen Flussanstieg aus. Neben der bekannten Beobachtung, dass zwischen Niedrig- und Hochflussarealen keine strukturellen Unterschiede wie z.B. hinsichtlich der Kapillardichte bestehen, lässt die ausgeprägtere Dilationsreserve der Niedrigflussareale darauf schließen, dass der basale Flussunterschied nicht auf anatomische Limitationen des Gefäßbaumes im Niedrigflussbereich zurückzuführen ist (Sonntag 1996). Die Ergebnisse sprechen dafür, dass unter basalen Bedingungen funktionelle Unterschiede den lokalen Fluss bestimmen, die wiederum Ausdruck eines unterschiedlichen lokalen Energiebedarfs sein dürften. Unterstützt werden diese Befunde durch eine Studie von Deussen et al, in der gezeigt werden konnte, dass der Betrag der Flusszunahme in Niedrig- und Hochflussarealen bei sympathischer Stimulation etwa gleich war, im Gegensatz zu einer ausschließlichen pharmakologischen Steigerung der Koronardurchblutung (Deussen 1996). Unter der Vorstellung, dass die lokale myokardiale Durchblutung Ausdruck eines lokalen Energiebedarfs ist, deuten die o.g. Daten darauf hin, dass Niedrigflussareale auch bei adrenerger Stimulation weiterhin einen geringeren Bedarf als Hochflussareale aufweisen.

4.2.1 Kardiale Parameter

Unter koronarer Flusssteigerung zeigten sich keine signifikanten Veränderungen kardialer Parameter wie Chronotropie und Inotropie. Dies spricht gegen eine unter Hypoxie basalen Bedingungen bestehende oder Sauerstofflimitation in Niedrigflussarealen, die dort den Energiestatus hätten beinträchtigen können. In früheren Untersuchungen existieren diesbezüglich widersprüchliche Befunde. So Erhöhung des koronaren Blutflusses bewirkt zwar die am isovolumetrisch kontrahierenden Herzen eine Zunahme der Kontraktilität (Gregg 1963), jedoch ließ sich dies am Herzen in situ nicht mehr beobachten (Miller 1987). In weiteren Studien wurde auf einem regionalen Niveau bestätigt, dass eine koronare Flusssteigerung auf das 3-fache weder zu Veränderungen der kontraktilen Funktion noch zu signifikanten Änderungen der Wanddicke führte (Zhang 1994, Ishibashi 1996). Dies impliziert, dass die Zunahme des koronaren Blutflusses keine Änderung der Stoffwechselaktivität des Herzens bedingt, die sich in einer Zunahme der kontraktilen Funktion äußern würde.

In Studien über die kardialen Wirkungen von Adenosin wurden sowohl negativ chronotrope und dromotrope Wirkungen als auch negativ inotrope Effekte an den Vorhöfen beschrieben (Mubagwa 1996). Da allerdings in der vorliegenden Arbeit Adenosin über einen LAD-Bypass verabreicht wurde und Adenosin nur eine sehr kurze Halbwertszeit von ungefähr einer Sekunde aufweist, konnte hier die Adenosinvermittelte Vasodilatation keine Auswirkungen auf den atrialen Sauerstoffverbrauch und die Herzfrequenz ausüben (Möser 1989). Dies ist von zentraler Bedeutung für unsere Untersuchungen zum kardialen Stoffwechsel, in denen Adenosin zur pharmakologischen Flusssteigerung eingesetzt wurde, ohne direkten Einfluss auf die kardiale Stoffwechselaktivität zu nehmen.

4.3 Heterogenität des kardialen Stoffwechsels

Neben einer seit Jahrzehnten bekannten räumlichen Heterogenität der lokalen kardialen Durchblutung werden seit einigen Jahren Untersuchungen zu einer entsprechend korrelierenden Heterogenität des kardialen Stoffwechsels durchgeführt. Da bisher keine direkte Methode zur Erfassung der lokalen Stoffwechselaktivität des Herzens existiert, wurde über indirekte Methoden wie Messung von Metabolitgehalten, Substrataufnahmeraten und Enzymaktivitäten versucht, die lokale Stoffwechselaktivität abzuschätzen. Ein Schwachpunkt dieser Methoden ist allerdings meist, dass sie lediglich Teilbereiche der komplexen Stoffwechselkreisläufe betrachten. Zudem bleibt die Frage, wodurch die lokalen Unterschiede in Durchblutung und Stoffwechsel des Herzens bedingt werden, immer noch ungeklärt. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dieser Fragestellung und liefert neue Erkenntnisse, indem sie den lokalen kardialen Stoffwechsel unter Aufhebung einer möglichen koronaren Flusslimitierung untersucht.

4.3.1 Metabolitgehalte

In der hier vorliegenden Studie wurden Messungen verschiedener Metabolitgehalte vorgenommen. So ist bei pharmakologischer Blutflusserhöhung keine Korrelation zwischen dem Laktatgehalt und dem lokalen Blutfluss mehr nachweisbar. Allerdings zeigte sich, dass Areale, die unter basalen Bedingungen Niedrigflussareale darstellen, im Vergleich zu entsprechenden Hochflussarealen einen signifikant niedrigeren Laktatgehalt aufweisen. Dies impliziert, dass sich bei Betrachtung dieser Areale kein Hinweis auf eine unzureichende Oxygenierung ergibt. Denn nur wenn Niedrigflussareale unzureichend perfundiert würden, wäre ein erhöhter Laktatgehalt in den entsprechenden Arealen zu erwarten. Ein erhöhter Laktatgehalt würde für ein unzureichendes Sauerstoffangebot sprechen, da in diesem Fall die ATP-Bildung über die anaerobe Glykolyse (Opie 1973, Wiesner 1989) mit vermehrter Produktion von Laktat erfolgt. Vergleichbare Ergebnisse unter basalen Bedingungen konnten ebenfalls in weiteren Studien erhoben werden (Loncar 1998, Decking 2001).

Vor diesem Hintergrund könnte der erhöhte Laktatgehalt in den Arealen, die basal Hochflussareale waren, Ausdruck eines Sauerstoffmangels sein. Denn es wäre vorstellbar, dass der Energiebedarf der Hochflussareale trotz erhöhten Blutflusses nicht vollständig gedeckt werden kann. Dem steht allerdings entgegen, dass die Messung des Laktatgehalts unter pharmakologischer 2,7-facher Blutflusssteigerung vorgenommen wurde. Ein unzureichendes Sauerstoffangebot zum Zeitpunkt der Messung ist damit nahezu ausgeschlossen. Darüber hinaus könnte der erhöhte Laktatgehalt der basalen Hochflussareale Ausdruck einer Substratreserve sein.

Für eine ausgewogene Abstimmung zwischen Sauerstoffangebot und -verbrauch Bedingungen basalen zudem die Ergebnisse unter sprechen anderer Arbeitsgruppen, die Untersuchungen zu den lokalen intramyokardialen Adenosinkonzentrationen durchführten. Adenosin, das Dephosphorylierungsprodukt von 5'-AMP, wird bei Sauerstoffmangel vermehrt intrazellulär gebildet (Berne 1963, Schrader 1977). Die Bestimmung der freien zytosolischen Konzentration von Adenosin erfolgt mittels der S-Adenosylhomocystein-Technik (SAH) (Deussen 1988 a,b). Dabei konnte gezeigt werden, dass einerseits die Verteilung von intrazellulärem Adenosin im Myokard heterogen ist (Sonntag 1996), andererseits Niedrigflussareale

keine erhöhten Adenosinkonzentrationen aufweisen (Deussen 2001). Dies unterstützt die Annahme, dass unter basalen Bedingungen die myokardiale Perfusion für den jeweiligen Bedarf ausreichend ist.

In der hier vorliegenden Arbeit zeigte sich ebenfalls, dass der Glutamatgehalt mit dem basalen Blutfluss korreliert. So weisen Areale, die unter basalen Bedingungen Niedrigflussareale darstellen, einen signifikant niedrigeren Glutamatgehalt auf als entsprechende Hochflussareale. Der geringere Gehalt an Glutamat in Niedrigflussarealen lässt sich nicht auf dessen vermehrten Abbau zur anaeroben Energiegewinnung zurückführen, da Adenosin als sehr sensitiver Indikator eines beeinträchtigten kardialen Energiestatus weder in Hoch- noch in Niedrigflussarealen Konzentrationen erreichte, die einen akuten Sauerstoffmangel signalisieren (Sonntag 1996). Denn lediglich bei schwerer Ischämie kann die Herzmuskelzelle aus Glutamat α -Ketoglutarat gewinnen, das durch Oxidation zu Succinat zur ATP-Bildung unter anaeroben Bedingungen beiträgt (Wiesner 1989). Parallel zum verminderten Glutamatgehalt würde man bei schwerer Ischämie erhöhte Laktatgehalte erwarten, die, wie bereits zuvor erwähnt, nicht nachweisbar sind.

4.3.2 Substrataufnahmeraten

Eine weit verbreitete Vorstellung ist, dass Substrataufnahmeraten verschiedener Metabolite den intrazellulären Energieumsatz widerspiegeln. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass aufgenommene Substrate in endogene Speicher fließen können, ohne den Energieumsatz zu beeinflussen. Darüber hinaus besitzt das Myokard die Fähigkeit, dem jeweiligen Angebot angepasst unterschiedliche Substrate zu verstoffwechseln. Deshalb repräsentiert der Nachweis von heterogenen Aufnahmeraten eines Substrates nicht zwingend einen vorhandenen heterogenen Stoffwechsel (Keul 1965).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen indirekt, dass sich im Myokard unterschiedliche Aufnahmeraten für ¹³C-markiertes Pyruvat finden. Denn bei Umsatzraten im Zitronensäurezyklus, die sich zwischen basalen Niedrig- und Hochflussarealen um mehr als das 2-fache unterschieden (s.u.), war die fraktionelle

Anreicherung des Glutamats C4, ein Maß für den relativen Beitrag des ¹³Cmarkierten Pyruvats, in Niedrig- und Hochflussarealen annähernd gleich. Damit spiegelt der unterschiedliche Umsatz letztlich auch unterschiedliche Aufnahmeraten für ¹³C-Pyruvat wider.

In früheren Studien wurde über Substrataufnahmeraten auf den Energieumsatz geschlossen. Beispielsweise konnte für radioaktiv markierte Fettsäuren in Übereinstimmung mit einer gesteigerten lokalen Stoffwechselaktivität eine erhöhte Aufnahme in Hochflussarealen nachgewiesen werden (Groeneveld 1993, Sloof 1997). Auch wurde über eine Zunahme der Desoxyglukose-Aufnahme mit dem lokalen Blutfluss am Hundeherzen (Sonntag 1996), nicht aber am Schweineherzen berichtet (Fallavollita 2000). Anhand mathematischer Modellanalysen konnte für Glukose gezeigt werden, dass ein gesteigerter intrazellulärer Metabolismus der Glukose durch die Hexokinase die gesteigerte Aufnahmerate in Hochflussarealen bedingt (Deussen 1997).

Somit könnte von diesen unterschiedlichen Substrataufnahmeraten auf die lokale Stoffwechselaktivität geschlossen werden. Der tatsächliche Nachweis einer unterschiedlichen Stoffwechselaktivität wird allerdings über die Umsatzrate des Zitronensäurezyklus und nicht über Substrataufnahmeraten erbracht.

4.3.3 Enzymaktivitäten

In mehreren Studien wurde die Messung von Schlüsselenzymen des kardialen Stoffwechsels auf lokaler Ebene in Korrelation mit dem koronaren Blutfluss durchgeführt. Die Vorstellung war, dass eine dem lokalen Blutfluss entsprechende Verteilung lokaler Enzymaktivitäten einen Hinweis auf eine funktionelle Heterogenität im strukturell homogenen Myokard (Gonzales 1990) geben würde. Diese funktionelle Heterogenität bedingte dann den heterogenen lokalen myokardialen Blutfluss. Dabei wurden Untersuchungen sowohl zu Enzymen der Glykolyse (Hexokinase, Laktatdehydrogenase), des Zitronensäurezyklus (Citratsynthase, Succinatdehydrogenase), der Atmungskette (Cytochrom-C-Oxidase) als auch der ATP-Pufferung (Kreatinkinase) durchgeführt (Bussemaker 1994, Sonntag 1996).

In der vorliegenden Studie wurde nicht die Aktivität eines einzelnen Enzyms gemessen, das den kardialen Stoffwechsel neben weiteren Enzymen beeinflusst. Hier wurde die gesamte Umsatzrate des Zitronensäurezyklus auf lokaler Ebene am Herzen in situ erfasst. Während in vitro ermittelte maximale Enzymaktivitäten nicht der tatsächlichen Umsatzrate in vivo entsprechen und somit keinen Rückschluss auf den tatsächlichen Substratfluss erlauben (van der Vusse 1990), hat der in der vorliegenden Arbeit verfolgte Ansatz den Vorteil, dass bei Betrachtung des Zitronensäurezyklus, an dem mehrere Enzyme beteiligt sind, tatsächlich der physiologische myokardiale Energieumsatz erfasst wird.

So verwundert es nicht, dass sich in den bisher durchgeführten Studien zu einzelnen Enzymaktivitäten zum Teil widersprüchliche Ergebnisse fanden. Nicht alle der o.g. Enzyme korrelierten in ihrer Aktivität in vivo mit den lokalen Blutflüssen. So ergaben sich beispielsweise keine Korrelationen für die Cytochrom-C-Oxidase oder Citratsynthase (Sonntag 1996).

Die lokale Aktivität der Kreatinkinase und Laktatdehydrogenase korrelierte nur mit lokalen Blutflüssen (Franzen 1988). Eine schwach den erhöhte Kreatinkinaseaktivität in Hochflussarealen würde die Annahme einer gesteigerten kontraktilen Funktion mit entsprechend gesteigertem Stoffwechsel von Hochflussarealen unterstützen. Ebenso ließe sich die gesteigerte Aktivität der Laktatdehydrogenase in Hochflussarealen erklären. Die Laktatdehydrogenase vermittelt in Abhängigkeit vom (NADH+H⁺)/NAD⁺-Verhältnis die Umwandlung von Laktat zu Pyruvat, das als Acetyl-CoA zur weiteren Oxidierung in den Zitronensäurezyklus eingeschleust wird. Da Laktat bei einem vermehrten Angebot ein bevorzugtes Substrat der Herzmuskelzelle darstellt (van der Vusse 1990), entspricht die vermehrte Aktivität der Laktatdehydrogenase in Hochflussarealen (Franzen 1988) möglicherweise einem parallel zum Sauerstoffverbrauch gesteigerten Laktatmetabolismus.

Eine signifikante Korrelation mit dem myokardialen Blutfluss ergab sich für die lokale Enzymaktivität der Succinatdehydrogenase (Bussemaker 1994). Die Succinatdehydrogenase ist als Enzym des Zitronensäurezyklus an dessen Umsatzrate beteiligt. Da allerdings die maximale Umsatzgeschwindigkeit der

Succinatdehydrogenase nicht den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt im Zitronensäurezyklus darstellt, können diese Befunde die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nicht allein erklären, fügen sich aber gut ein.

4.3.4 Sauerstoffverbrauch

Da alle bisher beschriebenen Methoden den myokardialen Energieumsatz nur unzureichend erfassen, sind in den letzten Jahren zunehmend Verfahren entwickelt worden, die den Sauerstoffverbrauch des Herzens indirekt erfassen. Dabei haben sich zwei Ansätze etabliert.

Das eine Verfahren, das auch in dieser Arbeit angewendet wurde, besteht in der Bestimmung der Umsatzrate des Zitronensäurezyklus mittels NMR-Spektroskopie nach intrakoronarer Perfusion von ¹³C-markierten Metaboliten des Zitronensäurezyklus (Decking 1998 b, van Beek 1998). Dabei zeigte sich eine enge Abstimmung zwischen lokalem Blutfluss und Sauerstoffverbrauch. Dem 2,3-fachen Unterschied in der Umsatzrate des Zitronensäurezyklus zwischen Niedrig- und Hochflussarealen entsprach ein in etwa 3-facher Flussunterschied (Decking 2001). In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine im Mittel 2,7-fache Steigerung der Koronardurchblutung durch Gabe von Adenosin die unter basalen Verhältnissen bestehende Korrelation zwischen lokalem Blutfluss und lokalem Energieumsatz nicht aufheben konnte. Trotz der o.g. Steigerung des koronaren Flusses ließ sich im Vergleich mit den ursprünglichen Niedrigflussarealen in den Hochflussbereichen früheren eine 1.9-fach höhere Umsatzrate des Zitronensäurezyklus nachweisen. Dagegen war unter der pharmakologisch gesteigerten myokardialen Durchblutung keine Korrelation zwischen dem aktuellen lokalen Fluss und dem Energieumsatz nachweisbar. Dies deutet darauf hin, dass unter basalen Bedingungen der lokale Energiebedarf die treibende Kraft für den Energieumsatz und die myokardiale Durchblutung ist.

Da, wie mehrere Studien zeigen, Niedrig- und Hochflussareale über Wochen und Monate ihren jeweiligen Fluss beibehalten, dürfte auch der lokale Energiebedarf über die Zeit konstant sein (van Oosterhout 2002, Laussmann 2002).

Wären Niedrigflussareale aufgrund einer limitierenden Blutversorgung in ihrer Funktion eingeschränkt, so würden sie von einer Anhebung des koronaren Flusses profitieren. Dies würde sich in einem gesteigerten Energieumsatz äußern. Dass dies ebenfalls nicht zutrifft, wird durch die ähnlichen Umsatzraten des Zitronensäurezyklus unter basalen Bedingungen (Niedrigfluss J_{ca} 0,78 µmol/min/g, Decking 2001) und in der vorliegenden Arbeit unter Blutflusserhöhung deutlich (Niedrigfluss basal J_{ca} 0,75 µmol/min/g).

Darüber hinaus existiert eine weitere Möglichkeit, den lokalen myokardialen Energieumsatz zu ermitteln. Dabei wird der Sauerstoffverbrauch am isolierten Herzen über die Produktion von H₂¹⁸O-Oxidationswasser nach Perfusion mit ¹⁸O₂haltiger Pufferlösung abgeschätzt (Schwanke 1994, 1996). Es wurde bei einem 3,3fachen Unterschied im lokalen Blutfluss über einen 6,45-fachen Unterschied im Sauerstoffverbrauch lokalen berichtet (Schwanke 2000). Dabei ist zu berücksichtigen. dass das absolute Ausmaß der Unterschiede im Sauerstoffverbrauch von der hier angenommenen Wasserpermeabilität abhängt. Diese ist leider nicht bekannt, beeinflusst das Ergebnis aber in erheblichem Umfang. Qualitativ zeigen auch diese Daten, dass im Herzen erhebliche Unterschiede im lokalen Energieumsatz existieren. Die Frage der Ursache der beschriebenen Flussund Stoffwechselheterogenität bleibt bei diesem Ansatz allerdings immer noch offen.

4.4 Ursachen des heterogenen Energiebedarfs

In der hier vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass tatsächlich ein unterschiedlicher lokaler Energiebedarf Ursache des heterogenen Energieumsatzes ist, dem sich unter basalen Bedingungen der lokale Blutfluss anpasst. Dabei stellt sich die Frage, welche Faktoren diesen unterschiedlichen Energiebedarf bedingen.

Vorstellbar wäre eine unterschiedliche Proteinausstattung in Niedrig- und Hochflussarealen, da sich die längerfristige Regulation von Stoffwechselprozessen vorzugsweise auf dem Niveau der Genexpression vollzieht (Van Bilsen 1998).

Da die mechanischen Herzkontraktionen den Großteil der in der Herzmuskelzelle bereitgestellten Energie benötigen, könnten die daran beteiligten Proteine eine Ursache für den heterogenen Energiebedarf sein (Schramm 1994). So existieren beim Myosin, das aus zwei schweren Ketten und aus zwei Paaren leichter Ketten besteht, zwei Isoformen der schweren Myosinketten: die α -Form mit hoher und die β -Form mit niedriger ATPase-Aktivität. Dabei ist das $\alpha\alpha$ -Homodimer im Vergleich zum $\beta\beta$ -Homodimer mit einem niedrigeren Wirkungsgrad behaftet (van der Vusse 1990). Einigen Untersuchungen zufolge exprimieren subendokardiale Anteile des Herzens vermehrt das $\beta\beta$ -Homodimer der schweren Ketten, was aufgrund der geringeren Kontraktionsgeschwindigkeit und höheren Effizienz typisch für mechanisch stark belastete Wandabschnitte ist, während sich in subepikardialen Bereichen vor allem das $\alpha\alpha$ -Homodimer findet. Die Befunde könnten dafür sprechen, dass Myosin-Isoformen mit unterschiedlicher ATPase-Aktivität für den heterogenen Energiebedarf des Herzens verantwortlich sind (Gorza 1981, Kuro-o 1986).

Ebenfalls konnte für Desmin ein unterschiedliches Verteilungsmuster mit gesteigerter Expression in Hochflussarealen nachgewiesen werden (Laussmann 2002). Desmin stellt ein muskelspezifisches Intermediärfilament dar und ist sowohl für die Strukturerhaltung der Zelle als auch für die Kraftübertragung zwischen den Myofibrillen essentiell (Fuchs 1998). Neuerdings wird Desmin eine Modulationsfähigkeit der Atmungskette zugeschrieben (Kay 1997, Milner 2000). Somit könnte Desmin aufgrund seiner intrazellulären Funktion zum erhöhten Energieumsatz in Hochflussarealen beitragen.

In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass eine unphysiologische myokardiale Erregungsausbreitung, wie sie bei bestehendem Linksschenkelblock und bei ventrikulärer Stimulation zu beobachten ist, eine Umverteilung des lokalen Blutflusses bedingt (McGowan 1976, Prinzen 1995). Diese Umverteilung des lokalen Blutflusses lässt sich dadurch erklären, dass bei Linksschenkelblock bestimmte Myokardbezirke im Vergleich zu physiologischen Bedingungen unterschiedlich belastet werden (Bassingthwaighte 2001).

Diese Befunde können zwar die Ursache des heterogenen Energiebedarfs, der in myokardialen Arealen mit einer ungefähren Masse von 250 mg Feuchtgewicht

beobachtet wird, nicht hinreichend erklären, jedoch stimmen sie mit dem vorliegenden Schluss überein, dass am Herzen unter physiologischen Bedingungen ebenfalls eine unterschiedliche lokale Belastung vorliegt und diese den heterogenen Sauerstoffbedarf bestimmt.

Wie bereits erwähnt, beeinflusst Kalzium ebenfalls den myokardialen Energieumsatz. moduliert neben einer Reihe von Enzymen des Kalzium oxidativen und glykolytischen Stoffwechsels vor allem das Zusammenspiel von Aktinund Myosinfilamenten bei der Herzmuskelkontraktion. Somit kann über die zytosolische Kalziumkonzentration der Energieumsatz der Zelle beeinflusst werden. Es konnte nachgewiesen werden, dass die mRNA für die Kalzium-ATPase des sarkoplasmatischen Retikulums in subendokardialen gegenüber subepikardialen Bereichen des Herzens eine verminderte zytosolische Konzentration aufwies. Da die Kalzium-ATPase für die Wiederaufnahme von Kalzium in das sarkoplasmatische Retikulum verantwortlich ist, begünstigt eine verminderte Expression eine erhöhte Kalziumkonzentration zytosolische (Igarashi-Saito 1999). Einschränkend ist allerdings zu berücksichtigen, dass bei einer verminderten Wiederaufnahme von Kalzium in das sarkoplasmatischen Retikulum weniger Kalzium nach einer Erregung Damit können die o. g. Befunde den höheren freigesetzt werden kann. subendokardialen Blutfluss und Energieumsatz nicht erklären.

In Untersuchungen, in denen über zwei Wochen eine stabile Flussheterogenität nachgewiesen werden konnte, zeigte sich ebenfalls, dass sich Niedrig- im Vergleich zu Hochflussarealen in ihrer Genexpression unterscheiden (Laussmann 2002). So zeichnen sich beispielsweise Niedrigflussareale in einer deutlich gesteigerten Expression von Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) im Vergleich mit Hochflussarealen aus. Die DDAH verursacht über den Abbau von ADMA (asymmetrisches Dimethylarginin) eine verminderte Hemmung der NO-Synthese. In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass NO den Sauerstoffverbrauch reduzieren kann (Trochu 2000). Somit könnte eine erhöhte NO-Konzentration in Niedrigflussarealen anderem Ursache des unter eine verminderten Sauerstoffverbrauchs darstellen. Niedrigflussareale zeichneten sich zudem durch eine höhere glykolytische Aktivität und eine niedrigere Oxidation von Fettsäuren aus. Dies spricht ebenfalls dafür, dass ein längerfristig bestehender funktioneller

Unterschied der Kardiomyozyten vorhanden ist und sich in einem entsprechend heterogenen Energiebedarf widerspiegelt.

4.5 Durchblutung, Energieumsatz und -bedarf am Herzen

Die bedarfsgerechte Regulation des myokardialen Energieumsatzes bzw. Stoffwechsels ermöglicht eine Adaptation an funktionelle Unterschiede und stellt die Grundlage der Stoffwechselheterogenität im Myokard dar.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine ausschließliche Blutflusserhöhung keine Veränderung der kontraktilen Funktion des Herzens bewirkt. Werden zusätzlich die Umsatzraten des Zitronensäurezyklus früherer Studien unter basalen Bedingungen berücksichtigt (Decking 2001), die den vorliegenden Umsatzraten unter Adenosin entsprechen, so wird die Vermutung unterstützt, dass eine ausschließliche Blutflusserhöhung ohne Auswirkungen auf den lokalen Energiestatus bleibt. Derartige Hinweise ließen sich bereits in früheren Studien erheben, in denen durch Zunahme des koronaren Flusses auf regionalem Niveau keine kontraktile Funktionssteigerung erzielt werden konnte (Canty 1988, Schulz 1991).

Unter Adenosin ließ sich eine ausgeprägtere Blutflusssteigerung der Niedrig- im Vergleich zu Hochflussarealen nachweisen, die eine größere inotrope Reserve der Niedrigflussareale ermöglichen würde. Matsumoto et al. konnten 1999 zeigen, dass eine ß-adrenerge Stimulation neben einer gesteigerten Koronardurchblutung zu einer Abnahme der lokalen Durchblutungsheterogenität führt (Matsumoto 1999). Dies würde dafür sprechen, dass vor allem Niedrigflussareale bei vermehrter Herzarbeit rekrutiert werden.

Wären unter basalen Bedingungen Niedrig- im Vergleich zu Hochflussarealen aufgrund des geringeren lokalen Flusses in ihrer Funktion eingeschränkt, so müsste nach 3-facher Steigerung des koronaren Flusses sowohl eine Verbesserung der linksventrikulären Kontraktilität als auch eine Steigerung des lokalen Energieumsatzes in Niedrigflussarealen zu verzeichnen sein. Ebenso wäre eine Korrelation des aktuell gesteigerten lokalen Blutflusses mit dem lokalen Energieumsatz zu erwarten. Da dies in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden konnte, ist der geringe Energiebedarf in Niedrigflussarealen unter basalen Bedingungen die Ursache des dort niedrigen lokalen Energieumsatzes und Flusses. Dementsprechend sind Hochflussareale Gebiete eines erhöhten Energiebedarfs, der einen erhöhten Energieumsatz und Blutfluss nach sich zieht.

Ergebnisse früherer Studien zeigen, dass sowohl unter pharmakologischer als auch elektrischer Sympathikusstimulation des Herzens der Betrag der Flusszunahme in Niedrig- und Hochflussarealen etwa gleich war (Deussen 1996). Dies deutet darauf hin, dass Niedrigflussareale auch bei adrenerger Stimulation weiterhin einen geringeren Bedarf als Hochflussareale aufweisen. Im Verlauf stellte sich der initiale Ausgangsfluss 40 - 112 Minuten nach Beendigung der Stimulation wieder ein. Diese Beobachtungen sprechen dafür, dass der räumlich heterogene Energiebedarf über die Zeit stabil ist und sich das Ausgangsbild auch nach zeitweiliger Perturbation wieder einstellt.

nachgewiesener enger Kopplung von heterogenem Energieumsatz und Bei entsprechend angepasstem Blutfluss sollte eine Reduktion des Sauerstoffangebots zu einer vergleichbaren Beeinträchtigung des lokalen Stoffwechsels in Niedrig- und Hochflussarealen führen. Es zeigte sich, dass es zu einer Zunahme der lokalen Adenosin- und Laktatkonzentrationen sowohl in Niedrig- als auch Hochflussarealen kam, wenn der lokale Fluss durch eine Koronarstenose um mehr als 50% reduziert wurde (Bussemaker 1997, Loncar 1998). Dies belegt, dass in Hoch- und Niedrigflussarealen die lokale Durchblutung eng an den lokalen Bedarf gekoppelt ist. Allerdings müsste eine eingeschränkte Durchblutung nicht zwangsläufig dauerhaft zu einer Beeinträchtigung des Energiestatus führen. Wie zahlreiche Untersuchungen zum "short term myocardial hibernation" belegen, können sich nämlich initiale metabolische Veränderungen wie die Abnahme der freien Energie der ATP-Hydrolyse trotz anhaltender Minderperfusion nach 90 Minuten normalisieren (z. B. Martin 1998). Ahnliches traf auch für Laktat zu, während die kontraktile Funktion des Herzens dauerhaft vermindert blieb (Fedele 1988, Heusch 1996). Dies verdeutlicht die Fähigkeit des Herzens, bei bestehender Verminderung des koronaren Blutflusses seinen Energieumsatz dem eingeschränkten Sauerstoffangebot anzupassen. Diese

Anpassung im Sinne einer Reduktion des Stoffwechsels mit Abnahme der kontraktilen Funktion stellt ein regulatorisches Phänomen dar, um eine dauerhafte Ischämie und den Zelltod zu verhindern (Heusch 1998).

Im Verlauf einer dauerhaft verminderten koronaren Durchblutung kommt es allerdings zu morphologischen degenerativen Veränderungen, die nach Revaskularisation rückläufig sein können (Heusch 2002). Diese Myokardareale werden auch als "(long term) hibernating myocardium" bezeichnet.

Bei Versagen aller Kompensationsmechanismen kommt es jedoch zu einer Schädigung der Kardiomyozyten. Unter Berücksichtigung eines erhöhten Energiebedarfs in Hochflussarealen sollte eine vollständige Unterbrechung der Blutzufuhr eine stärkere Schädigung der Hochflussareale bedingen. Entsprechend dieser Vermutung wurde eine höhere Infarktwahrscheinlichkeit bei Ischämie in Hochflussarealen beobachtet (Ghaleh 1996).

Die bedarfsgerechte Modulation des kardialen Energieumsatzes wird auch auf Ebene der Genexpression deutlich. So konnte im unbelasteten Rattenherz eine reduzierte Expression von dem insulinabhängigen Glukosetransporter 4 und der Carnitinpalmitoyltransferase 1 nachgewiesen werden (Depre 1998). Da diese beiden Enzyme eine zentrale Rolle im Glukose- und Fettsäuremetabolismus spielen, könnte dies bei verminderter Herzarbeit Ausdruck einer Herabregulation des kardialen Energieumsatzes sein.

Eine weitere Möglichkeit, wie das Herz sich bei vermindertem ATP-Umsatz verhält, ist die Substratmodifikation mit vermehrtem Fettsäuremetabolismus und verminderter Glukoseverstoffwechslung (Gamble 1997).

Eine Dissoziation des lokalen Blutflusses und Energieumsatzes wurde - wie in der hier vorliegenden Arbeit dargestellt - unter ausschließlicher pharmakologischer Vasodilatation beobachtet. Die Korrelation zwischen Energieumsatz und Blutfluss kann ebenfalls durch eine kurzzeitige Unterbrechung der Koronardurchblutung aufgehoben werden. Dabei wird ein Phänomen beobachtet, das als "myocardial stunning" bezeichnet wird (Heyndrickx 1975, Bolli 1990). In der späten

Reperfusionsphase stellt sich eine Normalisierung des Ausgangsflusses ein bei Energieumsatzes bestehender Einschränkung des als auch der globalen hämodynamischen Funktion. Diese Beobachtungen konnten kürzlich sogar mit einer räumlichen Auflösung von ca. 100 mg Probenmasse am isolierten Kaninchenherzen erhoben werden. In der späten Reperfusionsphase erreichte der lokale Blutfluss wieder sein initiales Verteilungsmuster; das heißt, Niedrigflussareale wurden wieder zu Niedrig-, Hochflussareale wurden wieder zu Hochflussarealen. Doch der Zusammenhang zwischen dem lokalen Energieumsatz und Blutfluss blieb aufgehoben (Schwanke 2002).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass das Herz unter basalen Bedingungen eine ausgeprägte Stoffwechselheterogenität aufweist, die Ausdruck des jeweiligen lokalen Energiebedarfs ist und den lokalen Blutfluss bestimmt. Die Unterschiede im lokalen Energieumsatz scheinen funktionell bedingt zu sein, da das Herz bis zu einem gewissen Grad seinen Energieumsatz steigern oder aber reduzieren kann. Dabei verfügt das Herz sowohl über kurzfristig rekrutierbare Mechanismen - wie sie bei sympathischer Stimulation beobachtet werden - als auch über langfristige Adaptationsmöglichkeiten - wie sie sich beispielsweise beim "(long term) hibernating myocardium" darstellen. Somit besitzt das Herz bis zu einem gewissen Grad die Möglichkeit, sich an veränderte Bedingungen - wie z. B. eine Stenose-induzierte Flussreduktion – anzupassen, indem es seinen Energiebedarf reduziert.

Die eigentliche Ursache des unter basalen Bedingungen bestehenden heterogenen Energiebedarfs ist bisher noch nicht hinreichend geklärt. So existieren diesbezüglich verschiedene theoretische Ansätze, wobei u. a. eine unterschiedliche Proteinausstattung in Niedrig- und Hochflussarealen für den heterogenen Energiebedarf verantwortlich gemacht wird. Es scheint jedoch fraglich, ob die Unterschiede in der Proteinexpression allein den lokal unterschiedlichen Bedarf bedingen können. Wie bereits zuvor erwähnt, ist es eher zu vermuten, dass lokal eine unterschiedliche Wandspannung oder Arbeit im Verlauf des Kontraktionszyklus die Gen- und Proteinexpression moduliert und so letztlich den Bedarf bedingt.

5. Zusammenfassung

Am Herzen zeigt sich bereits innerhalb des linken Ventrikels eine ausgeprägte räumliche Heterogenität. Untersucht man z.B. den lokalen Blutfluss mit einer Auflösung von 250 µl, so kann die Durchblutung zwischen einzelnen Arealen um das 20-fache variieren; etwa 10% der Proben erhalten weniger als 60%, weitere 10% mehr als 140% der mittleren Durchblutung. Den räumlich verteilten Unterschieden in der Durchblutung entspricht der jeweilige lokale Energieumsatz. Bisher blieb unklar, ob für die räumliche Heterogenität von Durchblutung und Energieumsatz Unterschiede im lokalen Energiebedarf verantwortlich sind – oder ob umgekehrt das lokale Flussangebot den Energieumsatz bestimmt.

Um diese Frage zu klären, wurde am Hundeherzen *in situ* die myokardiale Durchblutung mit Hilfe von radioaktiven Mikrosphären gemessen; zunächst während basaler Bedingungen und anschließend während intrakoronarer Adenosin-Gabe mit maximaler pharmakologischer Vasodilatation. Unter diesen Bedingungen wurde der lokale Energieumsatz über die Umsatzrate des Zitronensäurezyklus ermittelt. Dazu wurde *in situ* über 12 Minuten [3-¹³C]-Pyruvat intrakoronar verabreicht. Nach Entnahme des Myokards konnte dann in einzelnen Myokardproben mittels ¹³C-NMR-Spektroskopie das Glutamat [4-¹³C]/[3-¹³C]-Verhältnis (= C4/C3-Verhältnis) gemessen werden, aus dem dann die o.g. Umsatzrate bestimmt wurde.

Unter basalen Bedingungen waren wie erwartet etwa 10% der Proben Niedrigfluss-(≤ 60% des mittleren Flusses) und etwa 10% Hochflussareale (≥ 140%). Adenosin induzierte durch maximale Vasodilatation eine im Mittel 2,7-fache koronare Flusssteigerung ohne Auswirkung auf die linksventrikuläre kontraktile Funktion. Unter Adenosin wiesen 19% bzw. 17% der Proben eine besonders niedrige bzw. hohe Durchblutung auf (= Adenosin-Niedrig- bzw. -Hochflussareale).

Adenosin-Niedrig- und -Hochflussareale unterschieden sich nicht in ihrem Energieumsatz. Hingegen war in denjenigen Arealen, die unter basalen Bedingungen gering durchblutet wurden, auch nach Vasodilatation der Energieumsatz erheblich niedriger als in basalen Hochflussarealen (0,75 \pm 0,2 bzw. 1,41 \pm 0,4 µmol/min/g mit P < 0,001). Basale Niedrig- und Hochflussareale unterschieden sich demnach im lokalen Sauerstoffverbrauch um das 1,9-fache.

Das hier unter maximaler Vasodilatation gemessene C4/C3-Verhältnis (2,09 \pm 0,47) war identisch mit einem früher unter basalen Bedingungen bestimmten (1,98 \pm 0,48).

Weiterhin zeigten sich signifikante biochemische Unterschiede. So war der Gehalt an Glutamat und Laktat in Arealen, die unter basalen Bedingungen einen niedrigen Fluss aufwiesen, im Vergleich zu entsprechenden Hochflussarealen vermindert. Niedrig- und Hochflussareale unter Adenosin wiesen keine Unterschiede im Metabolitgehalt auf.

Die Daten lassen darauf schließen, dass die räumliche Verteilung von Durchblutung und Energieumsatz unter basalen Bedingungen den lokalen Energiebedarf widerspiegelt: Denn unter maximaler Vasodilatation, die keinen Anstieg in der Kontraktilität zur Folge hatte, war die Beziehung zwischen lokalem Fluss und Stoffwechsel aufgehoben, während der zuvor bestehende basale Fluss weiterhin mit dem lokalen Energieumsatz und dem Laktat-Gehalt korrelierte.

6. Literaturverzeichnis

- Abel F.L., R.H. Cooper and R.R. Beck. Use of fluorescent latex microspheres to measure coronary blood flow distribution. Circ Shock 41: 156-161, 1993.
- Akatsuka Y., K. Egashira, Y. Katsuda, T. Narishige, H. Ueno, H. Shimokawa and
 A. Takeshita. ATP sensitive potassium channels are involved in adenosine
 A(2) receptor mediated coronary vasodilatation in the dog. Cardiovasc Res 28: 906-911, 1994.
- Austin R.E. Jr, G.S. Aldea, D.L. Coggins, A.E. Flynn and J.I.E. Hoffman. Profound spatial heterogeneity of coronary reserve: discordance between patterns of resting and maximal myocardial blood flow. Circ Res. 67: 319-331, 1990.
- **Bassinthwaighte J.B., T. Strandell and D.E. Donald.** Estimation of Coronary Blood Flow by Washout of Diffusible Indicators. Circ Res 23: 259-278,1968.
- Bassingthwaighte J.B., M.A. Mallone, T.C. Moffet, R.B. King, S.E. Little, J.M. Link and K.A. Krohn. Validity of microspheres deposition for regional myocardial flows. Am J Physiol 253: H184-H193, 1987.
- **Bassingthwaighte J.B., R.B. King and S.A. Roger.** Fractal nature of regional myocardial flow heterogeneity. Circ Res 65: 578-590, 1989.
- Bassingthwaighte J.B., M.A. Mallone, T.C. Moffet, R.B. King, I.S. Chan, J.M. Link and K.A. Krohn. Molecular and particulate depositions for regional myocardial flows in sheep. Circ Res 66: 1328-1344, 1990.
- **Bassingthwaighte J.B., D.A. Beard and Z. Liz.** The mechanical and metabolic basis of myocardial blood flow heterogeneity. Basic Res Cardiol 96(6): 582-594, 2001.
- Bauer W.R., K.-H. Hiller, P. Galuppo, S. Neubauer, J. Köpke, A. Haase and G. Ertl. Fast high-resolution magnetic resonance imaging demonstrates fractility of myocardial perfusion in microscopic dimensions. Circ Res 88: 340-346, 2001.
- **Berne R.M.** Cardiac nucleotides in hypoxia: possible role in regulation of coronary blood flow. Am J Physiol 204 (2): 317-322, 1963.
- **Berne R.M.** The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. Circ Res 47: 807-813, 1980.
- Bolli R. Mechanism of myocardial "stunning". Circulation 82: 723-738, 1990.

- Bussemaker J., J.H. van Beek, A.B. Groeneveld, M. Hennekes, T. Terlink, L.G. Thijs and N. Westerhof. Local mitochondrial enzyme activity correlates with myocardial blood flow at basal workloads. J Mol Cell Cardiology 26: 1017-1028, 1994.
- Bussemaker J., A.B.J. Groeneveld, T. Teerlink, M. Hennekes, N. Westerhof and J.H.G.M. van Beek. Low- and high-blood flow regions in the normal pig heart are equally vulnerable to ischaemia during partial coronary stenosis. Pflügers Arch. 434: 785-794, 1997.
- **Caldwell J.H., G.V. Martin, G.M. Raymond and J.B.Bassingthwaighte.** Regional myocardial blood flow and capillary permeability-surface area products are nearly proportional. Am J Physiol 267: H654-H666, 1994.
- Camici P.G., W.C. Wijns, M. Borgers, R. de Silva, R. Ferrari, G. Heusch, J. Knuuti, A.A. Lammertsma, G. Paternostro and S.F. Vatner. Pathophysiological mechanisms of chronic reversible left ventricular dysfunction due to coronary artery disease (hibernating myocardium). Circulation 96: 3205-3214, 1997.
- **Canty J.M.** Coronary pressure-function and steady-state pressure-flow relations during autoregulation in the unanesthetized dog. Circ Res 63: 821-836, 1988.
- **Canty J.M. Jr. and J.S. Schwartz.** Nitric oxide mediates flow-dependent epicardial coronary vasodilation to changes in pulse frequency but not mean flow in conscious dogs. Circulation 89: 375-384, 1994.
- Dankelmann J., C.P.B. van der Ploeg and J.A.E. Spaan. Glibenclamide decelerates the responses of coronary regulation in the goat. Am J Physiol 266: H1715-H1721, 1994.
- Daut J., W. Maier-Rudolph, N.V. Beckerath, G. Mehrke, K. Günther and L. Goedel-Meinen. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. Science 247: 1341-1344, 1990.
- **Decking U.K. and J. Schrader.** Spatial heterogeneity of myocardial perfusion and metabolism. Basic Res Cardiol 93(6): 439-445, 1998 a.
- **Decking U.K.**¹³C-MR spectroscopy how and why? MAGMA 6: 103-104, 1998 b.
- Decking U.K., S. Skwirba, M.F. Zimmermann, B. Preckel, V. Thämer, A. Deussen and J. Schrader. Spatial heterogeneity of energy turnover in the heart. Pflüg Arch- Eur J Physiol 441: 663-673, 2001.
- Depre C., G.L. Shipley, W. Chen, Q. Han, T. Doenst, M.L. Moore, S. Stepkowski, P.J.A. Davies and H. Taegtmeyer. Unloaded heart in vivo replicates fetal gene expression of cardiac hypertrophy. Nature Med 4: 1269-1275, 1998.
- Deussen A, M. Borst and J. Schrader. Formation of S-adenosylhomocysteine in the heart. I: An index of free intracellular adenosine. Circ Res 63: 240-249, 1988 a.
- Deussen A., M. Borst, K. Kroll and J. Schrader. Formation of Sadenosylhomocysteine in the heart. II: A sensitive index for regional myocardial underperfusion. Circ Res 63: 250-261, 1988 b.
- **Deussen A., C.W. Flesche, T. Lauer, M. Sonntag and J. Schrader.** Spatial heterogeneity of blood flow in the dog heart. II: Temporal stability in response to adrenergic stimulation. Pflügers Arch 432: 451-461, 1996.
- **Deussen A.** Local myocardial glucose uptake is proportional to, but not dependent on blood flow. Pflügers Arch 433: 488-496, 1997.
- **Deussen A.** Blood flow heterogeneity in the heart. Basic Res Cardiol 93: 430-438, 1998.
- **Deussen A., T. Lauer, R. Loncor and J. Kropp.** Heterogeneity of metabolic parameters in the left ventricular myocardium and ist relation to local blood flow. Basic Res Cardiol 96: 564-574, 2001.
- Domenech R.J., J.I.E. Hoffmann, M.I.M. Noble, K.B. Saunders, J.R. Henson and S. Subijanto. Total and regional coronary blood flow measured by radioactive microspheres in conscious and anaesthetized dogs. Circ Res 25: 581-596, 1969.
- Duncker D.J., D.D. Laxson, P. Lindstrom and R.J. Bache. Endogenous adenosine and coronary vasoconstriction in hypoperfused myocardium during exercise. Cardiovasc Res 27: 1592-1597, 1993.
- Duncker D.J., R. Stubenitsky and P.D. Verdouw. Role of adenosine in the regulation of coronary blood flow in swine at rest and during treadmill exercise. Am J Physiol Heart Circ Physiol 275: H1663-H1672, 1998.
- Eckenhoff J.E., J.H. Hafkenschiel, C.M. Landmesser and M. Harmel. Cardiac Oxygen metabolism and control of the coronary circulation. Am J Physiol 149: 634-649, 1947.

- **Fallavollita J.A.** Spatial heterogeneity in fasting and insulin-stimulated (18)F-2deoxyglucose uptake in pigs with hibernating myocardium. Circulation 102: 908-914, 2000.
- Fedele F.A., H. Gewirtz, R.J. Capone, B. Sharaf and A.S. Most. Metabolic response to prolonged reduction of myocardial blood flow distal to a severe coronary artery stenosis. Circulation 78: 729-735, 1988.
- **Feigl E.O.** Sympathetic control of the coronary circulation. Circ Res 20: 262-271, 1967.
- Feigl E.O. Coronary physiology. Physiol Rev 63: 1-205, 1983.
- Feigl E.O. Neural control of coronary blood flow. J Vasc Res 35(2): 85-92, 1998.
- Franzen D., R.S. Conway, H. Zhang, E.H. Sonnenblick and C. Eng. Spatial heterogeneity of local blood flow and metabolite content in dog hearts. Am J Physiol. 254: H344-353, 1988.
- Fuchs E. and D.W. Cleveland. A structural scaffolding of intermediate filaments in health and disease. Science 279: 514-519, 1998.
- Furchgott R.F. and J.V. Zawadzki. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 288: 373-376, 1980.
- **Gamble J. and G.D. Lopaschuk.** Insulin inhibition of 5`adenosine monophosphateactivated protein kinase in the heart results in activation of acetyl coenzyme A carboxylase and inhibition of fatty acid oxidation. Metabolism 46: 1270-1274, 1997.
- **Ghaleh B., Y.-T. Shen and S.F. Vatner.** Spatial heterogeneity of myocardial blood flow presages salvage versus necrosis with coronary artery reperfusion in conscious baboons. Circulation 94: 2210-2215, 1996.
- **Glenny R.W., S. Bernard and M. Brinkley.** Validation of fluorescent-labeled microspheres for measurement of regional organ perfusion. J Appl Physiol 74: 2585-2597, 1993.
- **Gonzales F. and J.B. Bassingthwaighte.** Heterogeneities in regional volumes of distribution and flows in rabbit hearts. Am J Physiol 258: H1012-H1024, 1990.
- Gorza L., J.J. Mercadier, K. Schwartz, L.E. Thornell, S. Sartore and S. Schiaffino. Myosin types in the human heart. An immunofluorescence study of normal and hypertrophied artrial and ventricular myocardium. Circ Rees 54, 694-702, 1981.

- **Gregg D.E.** Effect of coronary perfusion pressure or coronary flow on oxygen usage of the myocardium. Circ Res 13: 497-500, 1963.
- Groeneveld A.B.J., A.A. van Lambalgen, G.C. van den Bos, W. Bronsveld, J.J.P. Nauta and L.G. Thijs. Maldistribution of heterogenous coronary blood flow during canine endotoxin shock. Cardiovasc Res 25: 80-88, 1991.
- Groeneveld AB.J., A.A. van Lambalgen, G.C. van den Bos, J.J.P. Nauta and L.G. Thijs. Metabolic vasodilatation with glucose-insulin-potassium does not change the heterogeneous distribution of coronary blood flow in the dog. Cardiovasc Res 26: 757-764, 1992.
- **Groeneveld A.B.J. and F.C. Visser.** Correlation of heterogeneous blood flow and fatty acid uptake in the normal dog heart. Basic Res Cardiol 88: 223-232, 1993.
- Heineman F.W. and R.S. Balaban. Control of mitochondrial respiration in the heart in vivo. Ann Rev Physiol 52: 523-542, 1990.
- Heusch G. and R. Schulz. Hibernating myocardium: A review. J Mol Cell Cardiol 28: 2359-2372, 1996.
- Heusch G.. Hibernating myocardium. Physiol Rev 78: 1055-1085, 1998.
- Heusch G. and R. Schulz. Myocardial hibernation. Ital Heart J 3(5): 282-284, 2002.
- Heyman M.A., B.D. Payne, J.I.E. Hoffmann and A.M. Rudoph. Blood flow measurements with radionuclide-labeled microspheres. Prog Cardiovasc Dis 20: 55-79, 1977.
- Heyndrickx G.R., R.W. Millard, R.J. McRitchie, P.R. Maroko and S.F. Vatner. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary occlusion in conscious dogs. J Clin Invest 56: 978-985, 1975.
- Hoffman J.I.E.. Heterogeneity of myocardial blood flow. Basic Res Cardiol 90: 103-111, 1995.
- Huang A.H. and E.O. Feigl. Adrenergic coronary vasoconstriction helps maintain uniform transmural blood flow distribution during exercise. Circ Res 62: 286-298, 1988.
- Igarashi-Saito K., H. Tsutsui, M. Takahashi, S. Kinugawa, K. Egashira and A. Takeshita. Endocardial versus epicardial differences of sarcoplasmatic reticulum Ca²⁺-ATPase gene expression in the canine failing myocardium. Bas Res Cardiol 94: 267-273, 1999.

- Ignarro L.J., G.M. Buga, K.S. Wood, R.E. Byrns and G. Chaudhuri. Endotheliumderived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc Natl Acad Sci USA 84(24): 9265-9, 1987.
- Ishibashi Y., J. Zhang, D.J. Duncker, C. Klassen, T. Pavek and R.J. Bache. Coronary hyperperfusion augments myocardial oxygen consumption. Am J Physiol 271: H1384-H1393, 1996.
- Kassab G.S., C.A. Rider, N.J. Tang and Y.C.B Fung. Morphometry of pig coronary arterial trees. Am J Physiol 265: H350-H365, 1993.
- **Kassab G.S. and Y.C.B. Fung.** Topology and dimensions of pig coronary capillary network. Am J Physiol 267: H319-H325,1994.
- Kay L., Z. Li, M. Mericskay, J. Olivares, L. Tranqui, E. Fontaine, T. Tiivel, P. Sikk,
 T. Kaambre, J.L. Samuel, L. Rappaport, Y. Usson, X. Leverve, D. Paulin and V.A. Saks. Study of regulation of mitochondrial respiration in vivo an analysis of influence of ADP diffusion and possible role of cytoskeleton. Biochim Biophys Acta 1322: 41-59, 1997.
- Keul J., E. Doll, H. Steim, U. Fleer and H. Reindell. Über den Stoffwechsel des menschlichen Herzens unter verschiedenen Arbeitsbedingungen. Pflügers Arch 43: 282-287, 1965.
- King R.B., J.B. Bassingthwaighte, J.R.S. Hales and L.B. Rowell. Stability of heterogeneity of myocardial blood flow in normal awake baboons. Circ Res 57: 285-295, 1985.
- Kowallik P., R. Schulz, B.D. Guth, A. Schade, W. Paffhausen, R. Gross and G. Heusch. Measurement of regional myocardial blood flow with multiple colored microspheres. Circulation 83: 974-982, 1991.
- **Kroll K. and E.O. Feigl.** Adenosine is unimportant in controlling coronary blood flow in unstressed dog hearts. Am J Physiol 249: H1176-H1187, 1985.
- **Kuo L., M.I. Davis and W.M. Chilian.** Endothelium-dependent, flow-induced dilation of isolated coronary arterioles. Am J Physiol 259: H1063-H1070,1990.
- Kuro-o M., H. Tsuchimochi, S. Ueda, F. Takaku and Y. Yazaki. Distribution of cardiac myosin isozymes in human conduction system. Immunohistohechmical study using monoclonal antibodies. J Clin Invest 77: 340-347, 1986.

- Laussmann T., R.A. Janosi, C.D. Fingas, G.R. Schlieper, W. Schlack, J. Schrader and U.K. Decking. Myocardial proteome analysis reveals reduced NOS inhibition and enhanced glycolytic capacity in areas of low local blood flow. FASEB J. 16(6): 628-30, 2002.
- Laxson D.D., D.C. Homans and R.J. Bache. Inhibition of adenosine-mediated coronary vasodilation exacerbates myocardial ischemia during exercise. Am J Physiol Heart Circ Physiol 265: H1471-H1477, 1993.
- Li Z., T. Yipintsoi and J.B. Bassingthwaighte. Nonlinear model for capillary-tissue oxygen transport and metabolism. Ann Biomed Eng 25: 604-619, 1997.
- Lösse B., S. Schuchhardt and N. Niederle. The oxygen pressure histogram in the left ventricular myocardium of the dog. Plügers Arch 356: 121-132, 1974.
- Loncar R., C.W. Flesche and A. Deussen. Coronary reserve of high- and low-flow regions in the dog heart left ventricle. Circulation 98: 262-270, 1998.
- Marcus M.L., R.E. Kerber, J.C. Erhardt, H.L. Falsetti, D.M. Davis and F.M. Abboud. Spatial and temporal heterogeneity of left ventricular perfusion in awake dogs. Am Heart J 94: 748-754, 1977.
- Martin C., R. Schulz, J. Rose and G. Heusch. Inorganic phosphate content and free energy change of ATP hydrolysis in regional short-term hibernating myocardium. Cardiovasc Res 39: 318-326, 1998.
- Matsumoto T., J. Ebata, H. Tachibana, M. Goto and F. Kajiya. Transmural microcirculatory blood flow distribution in right and left ventricular free walls of rabbits. Am J Physiol 277: H183-H191, 1999.
- Matsumoto T., H. Tachibana, Y. Ogasawara and F. Kajiya. New double-tracer digital radiography for analysis of spatial and temporal myocardial flow heterogeneity. Am J Physiol 280: H465-474, 2001.
- Matsunaga T., K. Okumura, R. Tsunoda, S. Tayama, T. Tabuchi and H. Yasue. Role of adenosine in regulation of coronary flow in dogs with inhibited synthesis of endothelium-derived nitric oxide. Am J Physiol Heart Circ Physiol 270: H427-434, 1996.
- McGowan R.L., T.G. Welch, B.L. Zaret, A.L. Bryson, N.D. Martin and M.D. Flamm. Noninvasive myocardial imaging with potassium-43 and rubidium-81 in patients with left bundle branch block. Am J Cardiol 38: 422-428, 1976.

- Miller W.P., N. Shimamoto, S.H. Nellis and A.J. Liedtke. Coronary hyperperfusion and myocardial metabolism in isolated and intact hearts. Am J Physiol 253: H1271-H1278, 1987.
- Milner D.J., M. Mavroidis, N. Weisleder and Y. Capetanaki. Desmin cytoskeleton linked to muscle mitochondrial distribution and respiratory function. J Cell Biol 150: 1283-1298, 2000.
- Möser G.H., J. Schrader and A. Deussen. Turnover of adenosine in plasma of human and dog blood. Am J Physiol 256: C799-806, 1989.
- Mori H., M. Chujo, S. Haruyama, H. Sakamoto, Y. Shinozaki, M. Uddin-Mohammed and A. Iida, H. Nakazawa. Local continuity of myocardial blood flow studied by monochromatic synchrotron radiation-excited X-ray fluorescence spectrometry. Circ Res 76: 1088-1100, 1995.
- Mubagwa K., K. Mullane and W. Flameng. Role of adenosine in the heart and circulation. Cardiovasc Res 32: 797-813, 1996.
- Olsson R.A., R. Bünger and J.A.E. Spaan. Coronary circulation. In *The heart and cardiovascular system*, edited by H.A. Fozzard, E. Haber, R.B. Jennings, A.M. Katz, and H.E. Morgan. New York: Raven Press, p. 1393-1425, 1992.
- **Opie L.H., P. Owen, M. Thomas and R. Samaon.** Coronary sinus lactate measurements in assessment of myocardial ischemia. Am J Cardiol 32: 295-305, 1973.
- **Opie LH.** *The heart: Physiology and metabolism.* 2nd ed. New York: Raven Press, 1991.
- **Polissar N.L., D.C. Stanford and R.W. Glenny.** The 400 microsphere per piece rule does not apply to all blood flow studies. Am J Physiol 278: H16-H25, 2000.
- Prinzen F.W., E.C. Cherlex, T. Delhaas, M.F.M. Oosterhout, T. Arts, H.J.J. Wellens and R.S. Reneman. Asymmetric thickness of the left ventricular wall resulting from asynchronous electric activation: a study in dogs with ventricular pacing and in patients with left bundle branch block. Am Heart J 130: 1045-1053, 1995.
- **Richmond K.N., J.D. Tune, M.W. Gorman and E.O. Feigl.** Role of K⁺_{ATP} channels in local metabolic coronary vasodilation. Am J Physiol 277: H2115-H2123, 1999.

- **Richmond K.N., J.D. Tune, M.W. Gorman and E.O. Feigl.** Role of K⁺_{ATP} channels and adenosine in the control of coronary blood flow during exercise. J Appl Physiol 89: 529-536, 2000.
- **Ritmann E.L.** Temporospatial heterogenteity of myocardial perfusion and blood volume in the porcine heart wall. Ann Biomed Eng 26(4): 519-525, 1998.
- Schrader J., F.J. Haddy and E. Gerlach. Release of adenosine, inosine and hypoxanthine from isolated guinea pig heart during hypoxia, flow-autoregulation and reactive hyperemia. Pflügers Arch 369: 1-6, 1977.
- Schrader J. Das Herz. In *Lehrbuch der Physiologie*, edited by R. Klinke and S. Silbernagel, Thieme Verlag: p. 99-130, 1994.
- Schrader J. and U.K.M. Decking. Regulation der Koronardurchblutung durch Adenosin. Z. Kardiol. 85 (Suppl.6):153-159, 1996.
- Schramm M., H.-G. Klieber and J. Daut. The energy expenditure of actomyosin-ATPase, Ca²⁺-ATPase and Na⁺, K⁺-ATPase in guinea-pig cardiac ventricular muscle. J Physiol (Lond) 481: 647-662, 1994.
- Schulz R., B.D. Guth and G. Heusch. No effect of coronary perfusion on regional myocardial function within the autoregulatory range in pigs: Evidence against the Gregg phenomenon. Circulation 83: 1390-1403, 1991.
- Schwanke U., H. Strauss, H.G. Bertram, G. Arnold and J.D. Schipke. A new technique for measurement of myocardial O₂-utilization. Isot Environ Health Stud 30: 133-139, 1994.
- Schwanke U., H. Strauss, G. Arnold and J.D. Schipke. Analysis of respiratory water – a new method for evaluation of myocardial energy metabolism. J Appl Physiol 81: 2115-2122, 1996.
- Schwanke U., A. Deussen, G. Heusch and J.D. Schipke. Heterogeneity of local myocardial flow and oxidative metabolism. Am J Physiol 279: H1029-H1035, 2000.
- Schwanke U., G. Heusch and J.D. Schipke. Mismatch of local blood flow and oxidative metabolism in stunned myocardium. Physiol Res 51: 17-25, 2002.
- Skwirba S.. Räumliche Heterogenität von Durchblutung und Energieumsatz des Herzens - Untersuchungen am Hundeherzen *in situ*. Dissertationsschrift, Med. Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2002.

- Sloof G.W., F.C. Visser, E.F. Comans, A.B. Groeneveld, J.J. Bax, M.J. van Eenige, G.J. van der Vusse and F.F. Knapp. Heterogeneity of DMIPP uptake and its relationship with heterogeneous myocardial blood flow. J Nucl Med 38: 1424-1430, 1997.
- Sonntag M., A. Deussen, J. Schultz, R. Loncar, W. Hort and J. Schrader. Spatial heterogeneity of blood flow in the dog heart. I. Glucose uptake, free adenosine and oxidative/glycolytic enzyme activity. Pflügers Arch 432: 439-450, 1996.
- Stapleton D.D., T.C. Moffett, D.G. Baskin and J.B. Bassingthwaighte. Autoradiographic assessment of blood flow heterogeneity in the hamster heart. Microcirculation 2: 277-282, 1995.
- Tanaka A., H. Mori, A. Tanaka, M.U. Mohammed, Y. Tanaka, T. Sekka, K. Ito, Y. Shinozaki, K. Hyodo, M. Ando, K. Umetani, K. Tanioka, M. Kubota, S. Abe, S. Handa and H. Nakazawa. Branching patterns of intramural coronary vessels determined by microangiography using synchrotron radiation. Am J Physiol 276: H2262–H2267, 1999.
- **Toyota E., R. Koshida, N. Hattan and W.M. Chilian.** Regulation of the coronary vasomotor tone: What we know and where we need to go. J Nucl Cardiol 8(5): 599-605, 2001.
- Trochu J.N., J.B. Bouhour, G. Kaley and T.H. Hintze. Role of Endothelium-derived nitric oxide in the regulation of cardiac oxygen metabolism: implications in health and disease. Circ Res 87: 1108-1117, 2000.
- Tune J.D., K.N. Richmond, M.W. Gorman, R.A. Olsson and E.O. Feigl. Adenosine is not responsible for local metabolic control of coronary blood flow in dogs during exercise. Am J Physiol 278: 1174-1184, 2000.
- **Tune J.D., K.N. Richmond, M.W. Gorman and E.O. Feigl.** K⁺_{ATP} channels, nitric oxide and adenosine are not required for local metabolic coronary vasodilation. Am J Physiol 280: H868-875, 2001.
- Tune J.D., K.N. Richmond, M.W. Gorman and E.O. Feigl. Control of coronary blood flow during exercise. Exp Biol Med Vol. 227(4): 238-250, 2002.
- **VanBavel E. and J.A.E. Spaan.** Branching patterns in the porcine coronary arterial tree: Estimation of flow heterogeneity. Circ Res 71: 1200-1212, 1992.
- Van Beek J.H.G.M., S.A. Roger and J.B. Bassingthwaighte. Regional myocardial flow heterogeneity explained with fractal networks. Am J Physiol 257: H1670-H1680, 1989.

- Van Beek J.H.G.M., T. Csont, F.J.J. de Kanter and J. Bussemaker. Simple model analysis of ¹³C NMR spectra to measure oxygen consumption using frozen tissue samples. Adv Exp Med Biol 454: 475-485, 1998.
- Van Beek J.H.G.M., H.J.G. van Mil, R.B. King, F.J.J. de Kanter, D.J.C. Alders and J. Bussemaker. A ¹³C NMR double-labeling method to quantitate local myocardial Q₂ consumption using frozen tissue samples. Am J Physiol 277: H1630-H1640, 1999.
- Van Bilsen M., G.J. van der Vusse and R.S. Reneman. Transcriptional regulation of metabolic processes: Implications for cardiac metabolism. Plfügers Arch 437: 2-14, 1998.
- Van der Vusse G.J., T. Arts, J.F.C. Glatz and R.S. Reneman. Transmural differences in energy metabolism of the left ventricular myocardium: Fact or fiction. J Moll Cell Cardiol 22: 23-37, 1990.
- Van der Vusse G.J., J.F. Glatz and R.S. Reneman. Fatty acid homeostasis in the normoxic and ischemic heart. Physiol Rev 72: 881-940, 1992.
- Van Oosterhout M.F., T. Arts, J.B. Bassingthwaighte, R.S. Reneman and F.W. Prinzen. Relation between local myocardial growth and blood flow during chronic ventricular pacing. Cardiovasc Res 53(4): 831-840, 2002.
- Weiss H.R., J.A. Neubauer, J.A. Lipp and A.K. Sinha. Quantitative determination of regional oxygen consumption in the dog heart. Circ Res 42: 394-401, 1978.
- Wiesner R.J., A. Deussen, M. Borst, J. Schrader and M.K. Grieshaber. Glutamate degradation in the ischemic dog heart: contribution to anaerobic energy production. J Mol Cell Cardiol 21: 49-59, 1989.
- Yen R.T. and Y.C. Fung. Effect of the velocity distribution on red cell distribution in capillary blood vessels. Am J Physiol 235: H251-H257, 1978
- Yipintsoi T., W.A. Dobbs Jr, P.D. Scanlon, T.J. Knopp and J.B. Bassingthwaighte. Regional distribution of diffusible tracers and carbonized microspheres in the left ventricle of isolated dog hearts. Circ Res 33: 573-587, 1973.
- Zhang J., L. Shorr, M. Yoshiyama, H. Merkle, M. Garwood, D.C. Homans, R.J. Bache, K. Ugurbil and A.H.L. From. Hyperperfusion and cardioplegia effects on myocardial high-energy phosphate distribution and energy expenditure. Am J Physiol 267: H894-H904, 1994.

Danksagung

Zunächst gilt mein Dank Herrn Professor Dr. J. Schrader, weil er es war, der mir die Möglichkeit gab, in seinem Institut wissenschaftlich tätig zu sein, indem er mir die vorstehende Arbeit anvertraute.

Herrn Professor Dr. U. Decking bin ich zu besonderem Dank verpflichtet. Er hat die Planung, Durchführung und Auswertung der Experimente intensiv begleitet. Das Gelingen der Arbeit wurde wesentlich durch seine stete Hilfsbereitschaft und seine umfangreichen kritischen Anregungen beeinflusst.

Ferner möchte ich Herrn Privatdozent Dr. B. Preckel für die Präparation der Hundeherzen und Frau E. Bergschneider für ihre Unterstützung bei den biochemischen Analysen danken.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Geburtsdatum / -ort Familienstand Konfession Wohnort Eva Scharen 15.02.1975 in Düsseldorf ledig evangelisch J.J. Wepfer-Str. 5, 8200 Schaffhausen Schweiz

Schule

1981-1985Grundschule, Ratingen1985-1989Dietrich-Bonhoeffer-Gymnasium, Ratingen1989-1994Theodor-Fliedner-Gymnasium, DüsseldorfAbschluss Abitur

Freiwilliges Soziales Jahr

09/1994-04/1995	Chirurgie, Evang. Krankenhaus, Bonn
-----------------	-------------------------------------

Hochschulausbildung

04/1995-11/2001	Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf
03/1997 03/1998 09/2000	Ärztliche Vorprüfung Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
11/2001	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Ärztliche Tätigkeit

03/2002-09/2003	Arztin-im-Praktikum in der Kardiologie des Herz-
	zentrums Wuppertal/Helios Klinikum
11/2003-06/2004	Assistenzärztin in der Inneren Abteilung des Petrus-
	krankenhauses Wuppertal
seit 07/2004	Assistenzärztin in der Inneren Abteilung des
	Kantonspitals Schaffhausen, Schweiz

<u>Eva Scharen</u>: Der lokale myokardiale Energiebedarf – Ursache der räumlichen Verteilung / Heterogenität von Durchblutung und Energieumsatz - Untersuchungen am Hundeherzen *in situ* -

Am Herzen zeigt sich bereits innerhalb des linken Ventrikels eine ausgeprägte räumliche Heterogenität. Untersucht man z.B. den lokalen Blutfluss mit einer Auflösung von 250 µl, so kann die Durchblutung zwischen einzelnen Arealen um das 20-fache variieren; etwa 10% der Proben erhalten weniger als 60%, weitere 10% mehr als 140% der mittleren Durchblutung. Den räumlich verteilten Unterschieden in der Durchblutung entspricht der jeweilige lokale Energieumsatz. Bisher blieb unklar, ob für die räumliche Heterogenität von Durchblutung und Energieumsatz Unterschiede im lokalen Energiebedarf verantwortlich sind – oder ob umgekehrt das lokale Flussangebot den Energieumsatz bestimmt.

Um diese Frage zu klären, wurde am Hundeherzen *in situ* die myokardiale Durchblutung mit Hilfe von radioaktiven Mikrosphären gemessen; zunächst während basaler Bedingungen und anschließend während intrakoronarer Adenosin-Gabe mit maximaler pharmakologischer Vasodilatation. Unter diesen Bedingungen wurde der lokale Energieumsatz über die Umsatzrate des Zitronensäurezyklus ermittelt. Dazu wurde *in situ* über 12 Minuten [3-¹³C]-Pyruvat intrakoronar verabreicht. Nach Entnahme des Myokards konnte dann in einzelnen Myokardproben mittels ¹³C-NMR-Spektroskopie das Glutamat [4-¹³C]/[3-¹³C]-Verhältnis (= C4/C3-Verhältnis) gemessen werden, aus dem dann die o.g. Umsatzrate bestimmt wurde.

Unter basalen Bedingungen waren wie erwartet etwa 10% der Proben Niedrigfluss-(≤ 60% des mittleren Flusses) und etwa 10% Hochflussareale (≥ 140%). Adenosin induzierte durch maximale Vasodilatation eine im Mittel 2,7-fache koronare Flusssteigerung, ohne Auswirkung auf die linksventrikuläre kontraktile Funktion. Unter Adenosin wiesen 19% bzw. 17% der Proben eine besonders niedrige bzw. hohe Durchblutung auf (= Adenosin-Niedrig- bzw. -Hochflussareale).

Adenosin-Niedrig- und -Hochflussareale unterschieden sich nicht in ihrem Energieumsatz. Hingegen war in denjenigen Arealen, die unter basalen Bedingungen gering durchblutet wurden, auch nach Vasodilatation der Energieumsatz erheblich niedriger als in basalen Hochflussarealen (0,75 \pm 0,2 bzw. 1,41 \pm 0,4 µmol/min/g mit P < 0,001). Basale Niedrig- und Hochflussareale unterschieden sich demnach im lokalen Sauerstoffverbrauch um das 1,9-fache.

Das hier unter maximaler Vasodilatation gemessene C4/C3-Verhältnis (2,09 \pm 0,47) war identisch mit einem früher unter basalen Bedingungen bestimmten (1,98 \pm 0,48).

Weiterhin zeigten sich signifikante biochemische Unterschiede. So war der Gehalt an Glutamat und Laktat in Arealen, die unter basalen Bedingungen einen niedrigen Fluss aufwiesen, im Vergleich zu entsprechenden Hochflussarealen vermindert. Niedrig- und Hochflussareale unter Adenosin wiesen keine Unterschiede im Metabolitgehalt auf.

Die Daten lassen darauf schließen, dass die räumliche Verteilung von Durchblutung und Energieumsatz unter basalen Bedingungen den lokalen Energiebedarf widerspiegelt: Denn unter maximaler Vasodilatation, die keinen Anstieg in der Kontraktilität zur Folge hatte, war die Beziehung zwischen lokalem Fluss und Stoffwechsel aufgehoben, während der zuvor bestehende basale Fluss weiterhin mit dem lokalen Energieumsatz und dem Laktat-Gehalt korrelierte.

li