

**Aus dem Institut für Herz-Kreislauf-Physiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

Direktor: Prof. Dr. Jürgen Schrader

Betreuer: Prof. Dr. Volker Thämer

Hyperglykämie blockiert die späte Präkonditionierung

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von

Thomas Bohlen

2005

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: Univ.-Prof. Dr. Thämer
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Eckel

Inhaltsverzeichnis

Inhalt	1
1. Einführung	2
2. Methoden	7
2.1 Chirurgische Präparation	7
2.2 LPC-Protokoll	9
2.3 Myokardinfarktprotokoll	10
2.4 Infarktgrößenbestimmung	12
2.5 Studienprotokoll	13
2.6 Datenaufzeichnung	14
2.7 Hämodynamische Variablen	15
2.8 Statistische Analyse	15
3. Ergebnisse	16
3.1 Blutglukosekonzentration	16
3.2 Hämodynamische Variablen	17
3.3 Risikogebiet und Infarktgröße	22
4. Diskussion	24
4.1 Interpretation und Ergebnisse	24
4.2 Methodenkritik	28
5. Schlussfolgerung	30
Zusammenfassung	31
Literaturverzeichnis	32
Lebenslauf	40
Danksagung	41

1. Einführung

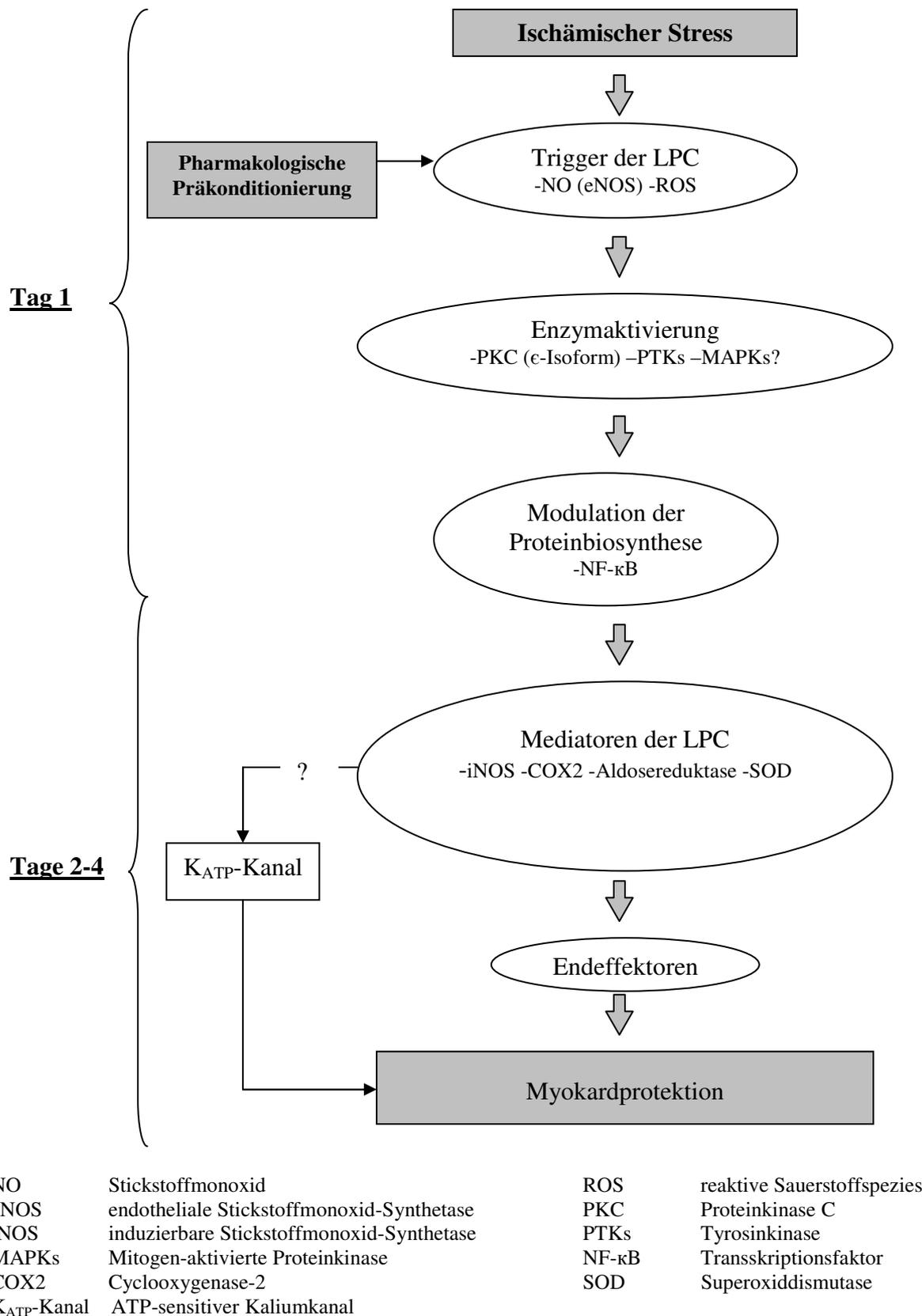
Kurze myokardiale Ischämien, die nicht zum Infarkt führen, erhöhen die Toleranz des Myokards gegenüber den Folgen späterer längerer Ischämien hinsichtlich der Größe des Infarktareals. Dieser Mechanismus wurde als erstes von Murry und Mitarbeitern beschrieben und ist seitdem unter dem Namen ischämische Präkonditionierung bekannt (34). Dieser endogene Protektionsmechanismus konnte bisher an allen untersuchten Säugetierspezies nachgewiesen werden (35-37). Man unterscheidet zwei Phasen der Protektion: Die frühe Phase setzt wenige Minuten nach der präkonditionierenden Ischämie ein und hält für etwa zwei bis drei Stunden an. Sie wird auch als „klassische Präkonditionierung“ bezeichnet (early preconditioning, EPC). Nach einem protektionsfreien Intervall folgt 12-24 Stunden nach der präkonditionierenden Ischämie die späte Phase der Präkonditionierung (late preconditioning, LPC). Diese hält für drei bis vier Tage an. Diese späte ischämische Präkonditionierung könnte ein wichtiger kardioprotektiver Mechanismus bei Patienten mit Präinfarktangina sein (2; 3). Sowohl die klassische als auch die späte Präkonditionierung können nicht nur durch kurze Ischämien (38), sondern auch pharmakologisch durch Aktivierung von myokardialen Adenosin- (39), alpha-adrenergen (40), muskarinischen (41), Opioid- (42) und Bradykinin-Rezeptoren (43) ausgelöst werden. Eine Reihe von Studien legt nahe, dass es auch beim Menschen eine durch Präkonditionierung ausgelöste Myokardprotektion gibt. Arstall und Mitarbeiter wiesen protektive Effekte durch frühe und späte Präkonditionierung an menschlichen Herzmuskelzellen *in vitro* nach (44). Kloner und Mitarbeiter zeigten in einer retrospektiven Datenauswertung bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt, dass diejenigen, die ca. 48 Stunden vor dem Infarkt eine Angina-Pectoris-Symptomatik gehabt hatten, einen signifikant kleineren Infarkt hatten als die Vergleichsgruppe ohne vorausgegangene Angina

Pectoris (2; 45). Diese Ergebnisse legen nahe, dass die späte Präkonditionierung auch das menschliche Myokard schützt.

Viele Studien der letzten 15 Jahre hatten sowohl die frühe als auch die späte Präkonditionierung zum Thema. Dennoch konnte der genaue Protektionsmechanismus auf zellulärer Ebene nicht endgültig geklärt werden. Bekannt ist, dass bei beiden Phasen der Präkonditionierung die Öffnung von ATP-abhängigen Kaliumkanälen (K_{ATP} -Kanäle) eine wichtige Rolle spielt.

Bei der EPC kommt es über die Freisetzung von Sauerstoffradikalen zur Aktivierung der Proteinkinase C. Dies führt zu einer Aktivierung von Tyrosin- und mitogen aktivierten Protein-Kinasen (MAP-Kinasen), die auf einen noch unbekanntem Effektor wirken, der das Herz vor einem ischämischen Schaden schützt (46).

Nach Bolli und Mitarbeitern führt die ischämische Präkonditionierung zu einer Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) und reaktiven Sauerstoffspezies (1; 17). Diese Stoffe dienen als „Trigger“ der LPC. Sie aktivieren eine komplexe Signaltransduktionskaskade (s. Abb. 1). Zuerst werden die Proteinkinase C, Tyrosinkinase und möglicherweise MAP-Kinasen aktiviert, die zu einer Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B führen. Dadurch werden verschiedene kardioprotektive Gene verstärkt transkribiert und vermehrt kardioprotektive Proteine synthetisiert. Zu diesen Proteinen, den „Mediatoren der LPC“, gehören die induzierbare NO-Synthetase, die Cyclooxygenase-2, die Aldosereduktase und die Superoxyddismutase. Sasaki und Mitarbeiter zeigten den direkten Einfluss einer gesteigerten NO-Produktion auf die K_{ATP} -Kanalaktivität in Herzmuskelzellen (48). Die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen vermittelt LPC, welche durch Ischämie (38), Monophosphoryl Lipid A (47), Aktivierung von Adenosinrezeptoren (39) und Opioiden (42) induziert werden kann. In einer früheren Studie unseres Institutes konnten wir an Kaninchen *in vivo* zeigen, dass der durch LPC induzierte protektive Effekt durch Gabe von 5-HD, einem K_{ATP} -Kanal-Blocker, aufgehoben werden kann (7).

Abb. 1 Schematische Darstellung der vermuteten LPC-Signaltransduktionskaskade

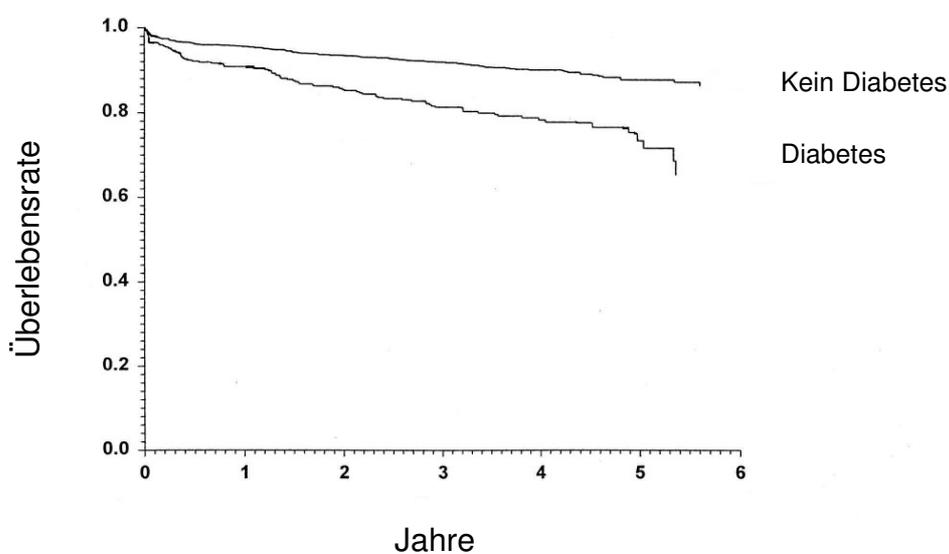
modifiziert nach Bolli et al., Circulation Research 2000; 87:972-983

Das Risiko, an einem Myokardinfarkt zu sterben, liegt bei Diabetikern deutlich höher als bei Nicht-Diabetikern (31-33). Dafür sind viele Ursachen verantwortlich:

Diabetiker haben eine höhere Prävalenz der Atherosklerose (50) und eine reduzierte Compliance der Koronarien (51). Eine weitere Ursache ist die diabetische Mikroangiopathie mit ihrer Endotheldysfunktion und einer eingeschränkten Koronarreserve (52-54). Bei Diabetikern besteht ein Ungleichgewicht der Hämostase mit Hyperkoagulabilität (55; 56) und Thrombopathie (57; 58) bei gestörter Fibrinolyse (59).

Der myokardiale Metabolismus und Energiehaushalt ist verändert (60, 61). Diabetes führt zu einer vermehrten Fibrosierung des Myokards (62-64) bei erhöhter Muskelmasse (65; 66) trotz gleicher Blutdruckwerte. Außerdem hat die diabetische Neuropathie einen Einfluss auf das Herz (67). Mukamal und Mitarbeiter zeigten in einer Multicenter-Studie, dass die Überlebensrate nach Myokardinfarkt bei Diabetikern kleiner ist als bei Nicht-Diabetikern (49) (s. Abb. 2).

Abb.2 Überlebenshäufigkeit nach primärem Myokardinfarkt



modifiziert nach Mukamal et al., Diabetes Care, 2001

Ein wichtiges Symptom bei Diabetes mellitus ist die Hyperglykämie. Wir stellen uns die Frage, inwieweit eine Hyperglykämie protektive Mechanismen des Herzens blockiert und so für die erhöhte Letalität mitverantwortlich sein könnte. Kersten und Mitarbeiter haben gezeigt, dass eine akute Hyperglykämie den kardialen Schutz durch frühe ischämische Präkonditionierung blockiert (5), und dass diese Blockade auf eine Blockade der K_{ATP} -Kanäle zurückzuführen ist (6). K_{ATP} -Kanäle spielen auch bei der klinisch wichtigeren späten Präkonditionierung eine zentrale Rolle. Ob auch die späte Präkonditionierung durch Hyperglykämie blockiert wird, soll in dieser Studie an Kaninchen *in vivo* untersucht werden. Kaninchen sind dafür besonders geeignet, da sie keine relevanten Kollateralen zwischen den Koronargefäßen aufweisen und die Kollateralversorgung bei der Infarktgrößenbestimmung unberücksichtigt bleiben kann. Die Hyperglykämie soll dabei mittels einer Glukoseinfusion induziert werden.

Sollten die Ergebnisse zeigen, dass auch die späte Präkonditionierung durch Hyperglykämie blockiert wird, wäre das ein Hinweis dafür, dass Patienten mit Angina pectoris und Myokardinfarkt von einer strengen Blutzuckereinstellung während des Infarktes profitieren könnten. Die Infarktausdehnung wäre bei niedrigen Blutzuckerspiegeln möglicherweise auch beim Menschen kleiner und die Folgen weniger gravierend.

2. Methoden

Die Studie wurde nach Genehmigung durch den Regierungspräsidenten an narkotisierten Kaninchen durchgeführt.

40 Kaninchen wurden mit einem Koronararterienokkluder versehen. Dazu wurde unter Allgemeinanästhesie ein Hauptast der linken Koronararterie umstochen und die Fadenpaare durch einen Tubus durch die Thoraxwand nach außen geführt (s. 2.1). Nach diesem chirurgischen Eingriff folgte eine Rekonvaleszenz von sieben bis zehn Tagen. In den dafür vorgesehenen Tieren wurde später ischämische Präkonditionierung am wachen Tier durch eine fünfminütige Ischämie mittels des implantierten Koronararterienokkluders durchgeführt (s. 2.2).

Alle Tiere wurden schließlich einer 30-minütigen Ischämie, gefolgt von 120 Minuten Reperfusion, unterzogen. Währenddessen wurden verschiedene hämodynamische Parameter gemessen (s. 2.3).

2.1 Chirurgische Präparation (chronische Instrumentierung)

Unter Lokalanästhesie mit einer lidocain- und prilocainhaltigen Salbe (Emla[®]) wurde bei 40 weißen Neuseelandkaninchen mit einem Gewicht von 2,5-3,2 kg (Mittelwert 2,8 kg) die laterale Ohrvene punktiert um darüber die Anästhesie mit Propofol (Disoprivan[®] 10 mg/kg KG) einzuleiten. Zusätzlich bekamen die Tiere eine intramuskuläre S-Ketamin-Injektion (30 mg/kg KG). Anschließend wurden die Tiere mit einem Tubus (Innendurchmesser 3,0 mm) endotracheal intubiert und maschinell beatmet (Sulla 808, Dräger AG, Lübeck, Deutschland). Abhängig vom endtidal gemessenen CO₂-Gehalt (Datex Capnomac Ultima, Division of Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland), der bei 35 mmHg

liegen sollte, wurde die Beatmungsfrequenz zwischen 30 und 35/min und das Hubvolumen zwischen 15 und 20 ml eingestellt. Zur Aufrechterhaltung der Anästhesie wurde dem Atemgas 2-4 Vol.% Isofluran (Isofluran[®]) beigemischt. Die ausreichende Tiefe der Narkose wurde am Fehlen von Reflexen festgestellt. Alle chirurgischen Eingriffe wurden unter Einhaltung steriler Kautelen durchgeführt. Zur Infektionsprophylaxe erhielten die Tiere vor der Operation Cephazolin (Gramaxin[®], 35 mg/kg KG) i.v..

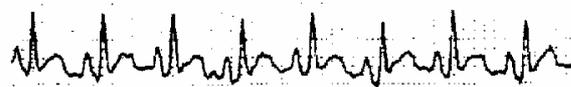
Der Thorax wurde durch eine Thorakotomie im linken vierten Interkostalraum eröffnet. Anschließend wurde die Herzhöhle durch einen kleinen Schnitt ins Perikard eröffnet. Es wurde ein Hauptast der linken Koronararterien aufgesucht und mit zwei 5-0 Prolene Fäden mit einer atraumatischen Nadel (Ethicon[®] 5/0, 1-metrisch, TF) umstochen. Der Abstand der beiden Ligaturen betrug weniger als 1mm und die Umstechung erfolgte im ersten Viertel der Strecke der Koronararterie auf ihrem Weg von der Herzbasis zur Herzspitze.

Ein Spiraltubus (2,5 mm Innendurchmesser, Mallinckrodt Medical, Athlone, Ireland) wurde nach außen geführt und dort zwischen den beiden Schulterblättern an der Haut fixiert. Das intrathorakal gelegene Ende wurde über den Koronarumstechungen am Perikard mit einer Naht fixiert. Die beiden Fadenpaare wurden durch den Tubus nach außen geleitet. Zur Verhinderung eines Pneumothorax wurde der Tubus mit Vaseline gefüllt und der Thorax unter Blähen der Lunge verschlossen. Die Wunde wurde mit einem sterilen Verband versorgt. Nach der Operation bekamen die Tiere Piritramid (Dipidolor[®], 2 mg/kg KG) und Amoxicillin (Duphamox[®] 15 mg/kg KG) zur Analgesie und Infektionsprophylaxe. Zum Schutz des Tubus und der Wunde wurde den Kaninchen eine Weste angezogen (Kaninchen Weste, Größe M, Byron, Grand Island, NY, USA).

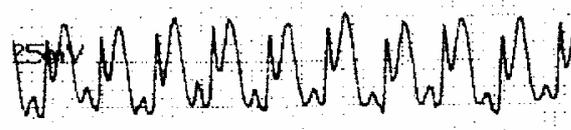
2.2 LPC-Protokoll

Nach sieben bis zehn Tagen Rekonvaleszenz wurde bei den Tieren zweier Gruppen mittels Koronarokklusion durch den chronisch implantierten Okkluder eine regionale Ischämie ausgelöst und durch ST-Streckenhebungen im EKG verifiziert (EKG; SC9000, Siemens AG, Düsseldorf, Germany). Die darauf folgende Reperfusion wurde durch das Verschwinden der EKG-Veränderung innerhalb von 2 Minuten bei jedem Tier bestätigt. (s. Abb. 3)

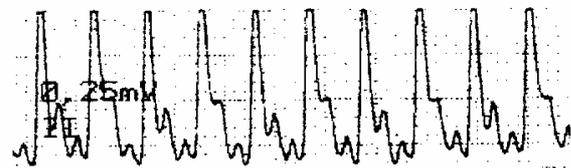
Abb. 3 EKG während der fünfminütigen Ischämie



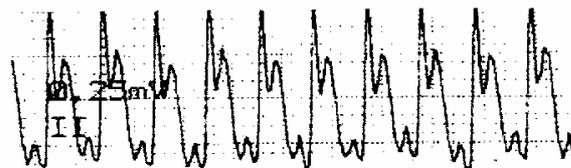
Ausgangs-EKG



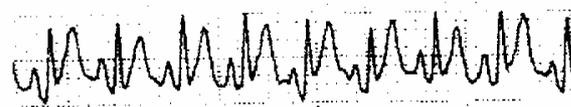
1 min. Okklusion



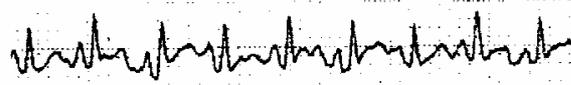
3 min. Okklusion



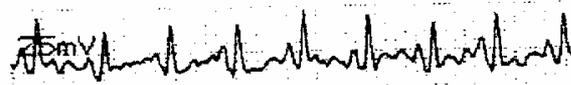
5 min. Okklusion



1 min. Reperfusion



3 min. Reperfusion



5 min. Reperfusion

2.3 Myokardinfarkt-Protokoll

24 Stunden nach der Präkonditionierung wurde den Kaninchen, wie bereits in der chirurgischen Präparation beschrieben, erneut ein venöser Zugang gelegt. Die Narkoseeinleitung erfolgte wieder mit Propofol (10 mg/kg Körpergewicht).

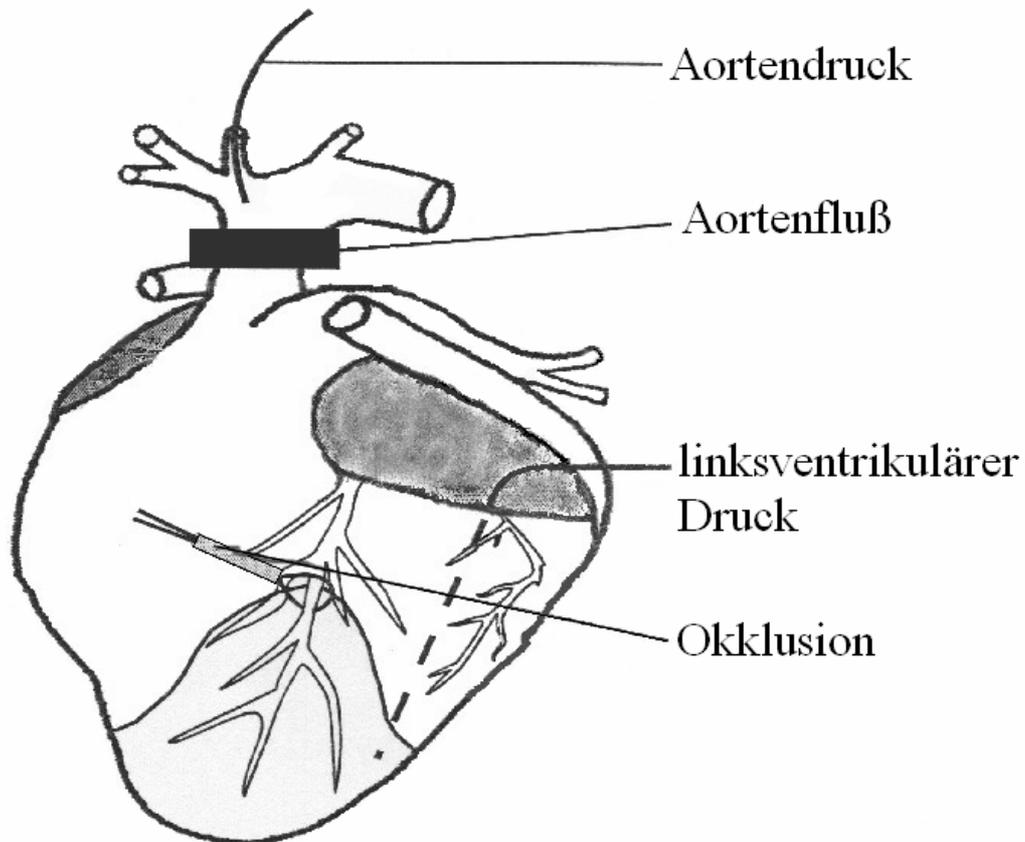
Die Intubation und die maschinelle Beatmung erfolgte wie bereits oben beschrieben. Zur Aufrechterhaltung der Narkose erhielten die Tiere eine Dauerinfusion von α -Chloralose (40 mg/kg KG), da α -Chloralose kaum Kreislaufreaktionen hervorruft. Zur Bestimmung von Glukosekonzentration, Hämoglobinkonzentration und Hämatokrit wurden regelmäßig Blutgasanalysen durchgeführt. Der Nachweis einer suffizienten Narkosetiefe erfolgte anhand ausbleibender Muskeleigenbewegungen und fehlender hämodynamischer Reaktionen auf chirurgische Stimuli.

Die rechte Vena jugularis communis wurde mit einer Venenverweilkanüle (VenflonTM 1,2 mm, Becton Dickinson, Helsingborg, Schweden) punktiert. Darüber erhielten die Tiere eine Dauerinfusion einer physiologischen Kochsalzlösung (15 ml/kg KG/h) um den intraoperativen Flüssigkeitsverlust auszugleichen.

Um kontinuierlich den Aortendruck messen zu können, wurde ein 20-Gauge Teflonkatheter über die linke Arteria carotis communis in den Aortenbogen eingeführt, mit 0,9 %iger NaCl-Lösung gefüllt und mit einem Drucktransducer (PD 23, Gould, Cleveland, Ohio, USA) verbunden.

Ein Ultraschallmesskopf (4S, T2008, Transonic System Inc., Ithaka, NY, USA) wurde nach Thorakotomie und Eröffnung des Perikards um die Aorta ascendens gelegt um das Herzzeitvolumen minus Koronardurchblutung kontinuierlich messen zu können.

Der linksventrikuläre Druck wurde mit Hilfe eines Katheterspitzenmanometers (SPC-340, Millar Instruments, Houston, USA), das über den linken Vorhof in den linken Ventrikel eingebracht wurde, gemessen.(s. Abb. 4)

Abb. 4 schematische Darstellung des Herzens nach Versuchspräparation

Außerdem wurde die Temperatur in der Thoraxhöhle gemessen (GTH 1160, Digital Thermometer, Geisinger Electronic, Deutschland) und mit Hilfe einer Infrarotlampe konstant zwischen 38,3 °C und 38,7 °C gehalten.

30 Minuten nach dieser chirurgischen Instrumentierung wurden die Ausgangswerte unter Ruhebedingungen registriert. Diese Messungen wurden regelmäßig bis zum Ende des Versuches wiederholt.

Die Hyperglykämie von ca. 600 mg/dl wurde in den entsprechenden Gruppen durch eine Dauerinfusion von 50%iger Glukoselösung 30 Minuten vor bis zum Ende der Okklusion induziert.

Die Kaninchen aller vier Gruppen wurden dann einer 30-minütigen regionalen Myokardischämie mittels des chronisch implantierten Okkluders, gefolgt von 120 Minuten Reperfusion unterzogen.

Die Ischämie wurde durch Erscheinen einer Zyanose distal der Okklusion verifiziert (s. Abb.4).

Eventuell auftretendes Kammerflimmern während der Okklusion wurde mit elektrischer Defibrillation (5 Joule, DCS261 Defibrillator, Piekser, Ratingen, Germany) behandelt.

Nach 30 Minuten wurde der Okkluder wieder gelöst. Die Reperfusion zeigte sich durch das Erscheinen einer Hyperämie auf der Oberfläche des vorher zyanotischen Gebiets.

2.4 Infarktgrößenbestimmung

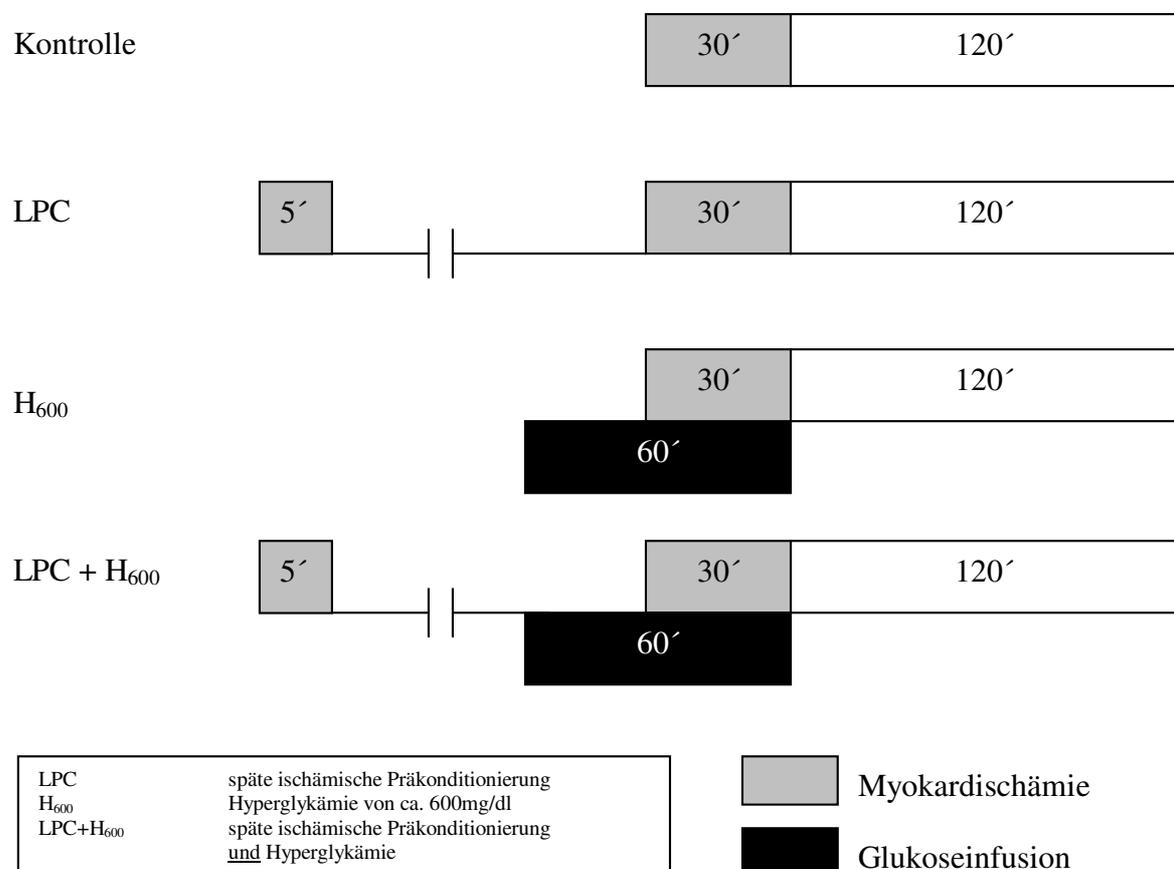
Nach der 30-minütigen Okklusion erfolgte eine zweistündige Reperfusion, an deren Ende das Herz durch eine Trapanal-Injektion (35 mg/kg KG) i.v. zum Stillstand gebracht wurde. Es wurde schnell entnommen und an eine modifizierte Langendorff-Apparatur überführt. Zuerst wurden die Koronararterien nun luftfrei retrograd über den Aortenstumpf mit einer physiologischen Kochsalzlösung mit einem Perfusionsdruck von 100 cm Wassersäule durchspült um Blutreste auszuwaschen. Anschließend wurde die Koronararterie mit dem verbliebenen Okkluder erneut zugezogen und das Herz wurde mit der Evans-Blau-Lösung mit einem Perfusionsdruck von 100 cm Wassersäule zehn Minuten lang durchspült. Verbleibende intravaskuläre Evans-Blau-Reste wurden danach durch erneute Perfusion mit der NaCl-Lösung ausgewaschen. Auf diese Weise blieb das ischämisch-reperfundierte Gebiet (Risikogebiet) als einziges ungefärbt. Dann wurde das Herz eingefroren und in ca. 2 mm dicke Scheiben geschnitten. Der rechte Ventrikel wurde entfernt, und die Scheiben wurden für 15 Minuten bei 38 °C in gepufferter 0,75 %igen Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung

inkubiert. Durch diese Behandlung färbte sich vitales Gewebe rot, nekrotisches Gewebe blieb ungefärbt. Die Größe des linken Ventrikels, des Risikogebiets und des Infarktgebiets wurde mittels EDV-unterstützter Planimetrie bestimmt. Die einzelnen Scheiben wurden nach Flüssigkeitsentzug im Trockenschrank gewogen. Aus den durch die Planimetrie bestimmten Flächen und den Gewichten der einzelnen Scheiben konnte nun das Gewicht des nekrotischen Bereichs sowie das Gewicht des Risikogebiets errechnet werden. Durch addieren der Werte der einzelnen Scheiben errechneten wir das Gesamtgewicht des Infarkts und das Gesamtgewicht des Risikogebiets für jedes Herz. Nun konnten wir das Infarktgebiet in Gewichtsprozent des Risikogebiets angeben.

2.5 Studienprotokoll

Das Studienprotokoll ist in Abb. 5 dargestellt. 40 Kaninchen wurden randomisiert einer von vier Gruppen zugeordnet (n=10 in jeder Gruppe). Alle Tiere wurden einer 30-minütigen Ischämie und 120-minütigen Reperfusion unterzogen. In zwei Gruppen (LPC und LPC+H₆₀₀) wurde späte ischämische Präkonditionierung durch eine fünfminütige regionale Myokardischämie 24 Stunden vor der infarktinduzierenden Ischämie ausgelöst. Die Kontrollgruppe und die Hyperglykämiegruppe (H₆₀₀) wurden nicht präkonditioniert. In der H₆₀₀- und der LPC+H₆₀₀-Gruppe wurde durch die Infusion von 50%iger Glukoselösung eine Blutzuckerkonzentration von ca. 600 mg/dl induziert, die 30 Minuten vor Beginn der Koronarokklusion bis zum Beginn der Reperfusion aufrecht erhalten wurde. In dieser Phase erhielten die Tiere der Kontroll- und der LPC-Gruppe statt der Glukoseinfusion eine 0,9 %ige NaCl-Infusion.

Abb. 5 Studienprotokoll



2.6 Datenaufzeichnung

Der linksventrikuläre Druck, seine erste Ableitung nach der Zeit (dp/dt), Aortendruck und Herzzeitvolumen wurden auf einem Mehrkanaltintenschreiber (Recorder 2800, Gould, Cleveland, Ohio) aufgezeichnet. Die Daten wurden mit einem analog-zu-digital Konverter (Data Translation, Marlboro, MS) digitalisiert und auf einem Computer gespeichert.

2.7 Hämodynamische Variablen

Als Maß für die globale systolische Funktion wurden linksventrikulärer Spitzendruck (LVPSP) und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{\max}) gemessen. Das Minimum des dP/dt (dP/dt_{\min}) wurde als Ende der Systole, der steile Anstieg des dP/dt als Ende der Diastole definiert. Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) und die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation wurden zur Beurteilung der linksventrikulären diastolischen Funktion herangezogen. Die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation (τ) wurde mit folgender Formel errechnet:

$P_t = P_0 \cdot \exp(-t/\tau)$, wobei P_t der Druck zum Zeitpunkt t ist, P_0 der LVEDP und τ die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation. Das Produkt aus Herzfrequenz (HF) und LVPSP, rate-pressure-product (RPP), wurde als Maß für den myokardialen Sauerstoffverbrauch berechnet. Der systemische vaskuläre Widerstand (SVR) wurde aus dem mittleren Aortendruck (AOP_{mean}) und dem Herz-Zeit-Volumen (HZV) unter der Annahme berechnet, dass der rechtsatriale Druck bei geöffnetem Thorax 0 mmHg beträgt.

2.8 statistische Analyse

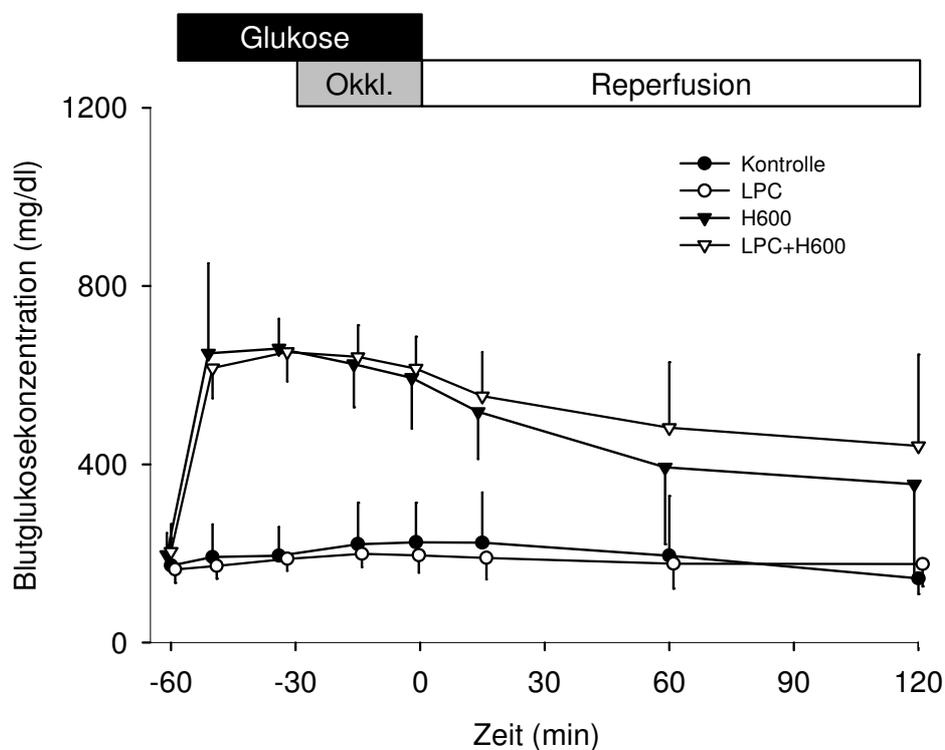
Alle Daten wurden als Mittelwert plus/minus Standardabweichung präsentiert. Zum statistischen Vergleich wurde der Student's t-Test mit der Bonferroni-Korrektur für Mehrfachvergleiche durchgeführt. Änderungen waren signifikant, wenn der P-Wert kleiner als 0,05 war.

3. Ergebnisse

3.1 Blutglukosekonzentration

Die Glukosekonzentration während der Versuche ist in Abb. 6 dargestellt. Die mittlere Konzentration zwischen chirurgischer Präparation und Ischämie (Ausgangswert) lag bei 185 ± 53 mg/dl und unterschied sich nicht zwischen den Gruppen (Blutzuckernormalwerte von Kaninchen: 112-135 mg/dl, s. Methodenkritik). Nach der 30-minütigen Glukoseinfusion in der H₆₀₀- und der LPC+H₆₀₀-Gruppe wurden Blutglukosekonzentrationen von 660 ± 66 bzw. 652 ± 66 mg/dl erreicht. Am Ende der Koronarokklusion lag die Blutglukosekonzentration bei 594 ± 114 bzw. 615 ± 71 mg/dl und fiel am Ende der Reperfusion auf 355 ± 211 bzw. 441 ± 205 mg/dl ab.

Abb. 6 Blutglukosekonzentration



LPC späte ischämische Präkonditionierung
H₆₀₀ Hyperglykämie von ca. 600mg/dl
LPC+H₆₀₀ späte ischämische Präkonditionierung und Hyperglykämie
Okkl. Koronararterienokklusion
Die Glukose-Infusion führte zu einer Blutglukosekonzentration von ca. 600 mg/dl in der H₆₀₀ und der LPC+H₆₀₀- Gruppe.

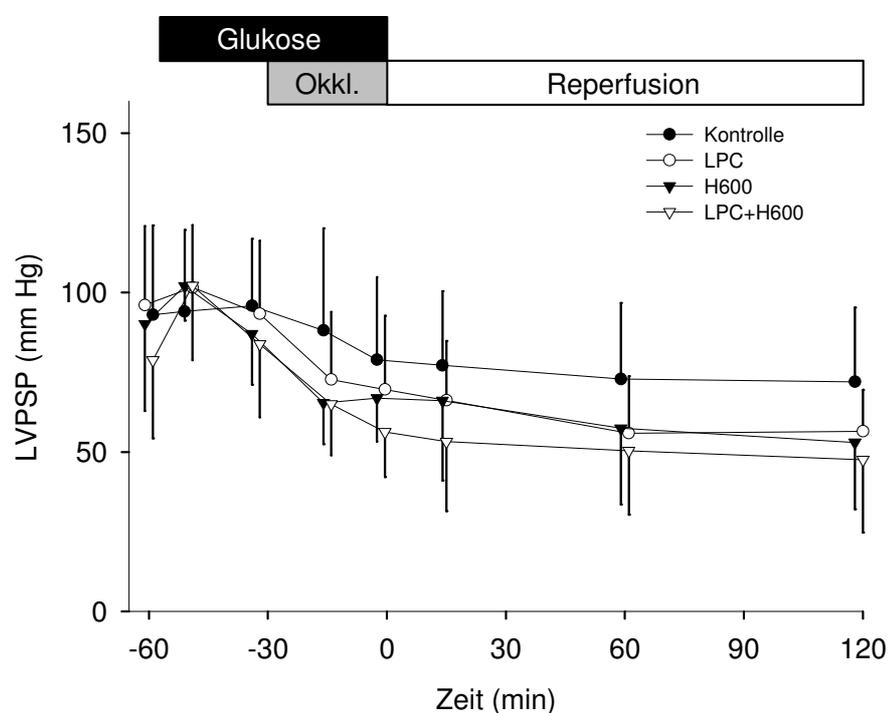
3.2 Hämodynamische Variablen

Die hämodynamischen Variablen sind in den Abbildungen 7-9 und Tabelle 1 und 2 zusammengefasst.

Linksventrikulärer systolischer Spitzendruck (LVPSP) (s. Abb. 7):

Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Mit Beginn der Glukose- bzw. NaCl-Infusion stieg LVPSP leicht an und sank dann um ca. 19 % während der Koronararterienokklusion. Anschließend fiel er bis zum Ende des Versuches auf ca. 64 % der Ausgangswerte.

Abb. 7 Linksventrikulärer systolischer Spitzendruck (LVPSP)



LPC	späte ischämische Präkonditionierung
H ₆₀₀	Hyperglykämie von ca. 600mg/dl
LPC+H ₆₀₀	späte ischämische Präkonditionierung <u>und</u> Hyperglykämie
Okkl.	Koronararterienokklusion
Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.	

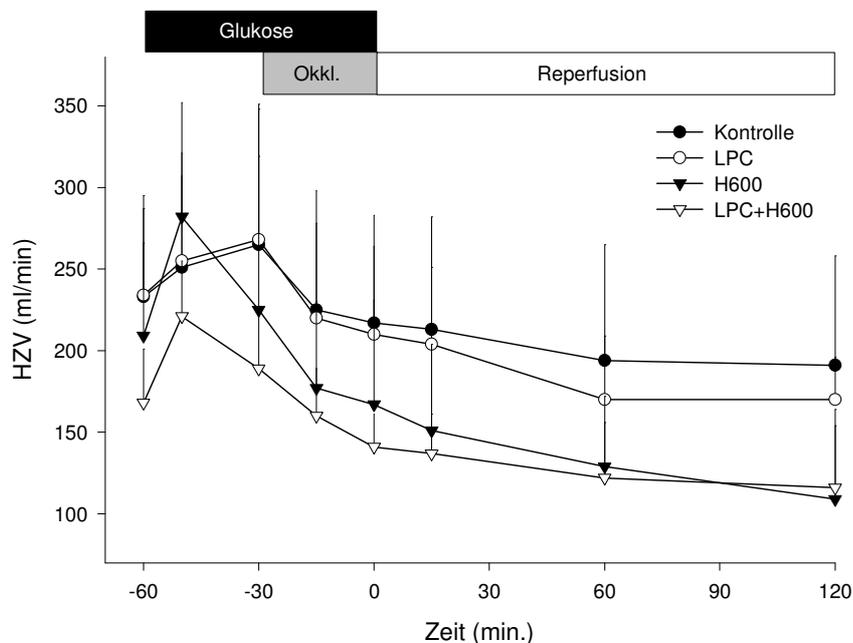
Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP):

Beim LVEDP gab es leichte Schwankungen in allen Gruppen, ohne dass man steigende oder sinkende Werte einer bestimmten Versuchsphase zuordnen konnte. Signifikante Unterschiede konnten wir nach 15 Minuten Reperfusion zwischen der Kontrollgruppe und der LPC-Gruppe feststellen ($3,5 \text{ mmHg} \pm 0,6$ vs. $1,4 \text{ mmHg} \pm 0,5$). Sonst gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Herzzeitvolumen (HZV) (s.Abb. 8) :

Mit Beginn der Glukose- bzw. NaCl-Infusion stiegen die Werte in allen Gruppen leicht an. In der Koronarokklusion konnten wir einen stetigen Abfall der Werte beobachten (um ca. 18 % zu Beginn der Okklusion bis auf ca. 62 % am Ende des Versuchs). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. (s.Abb.)

Abb. 8 Herzzeitvolumen (HZV)

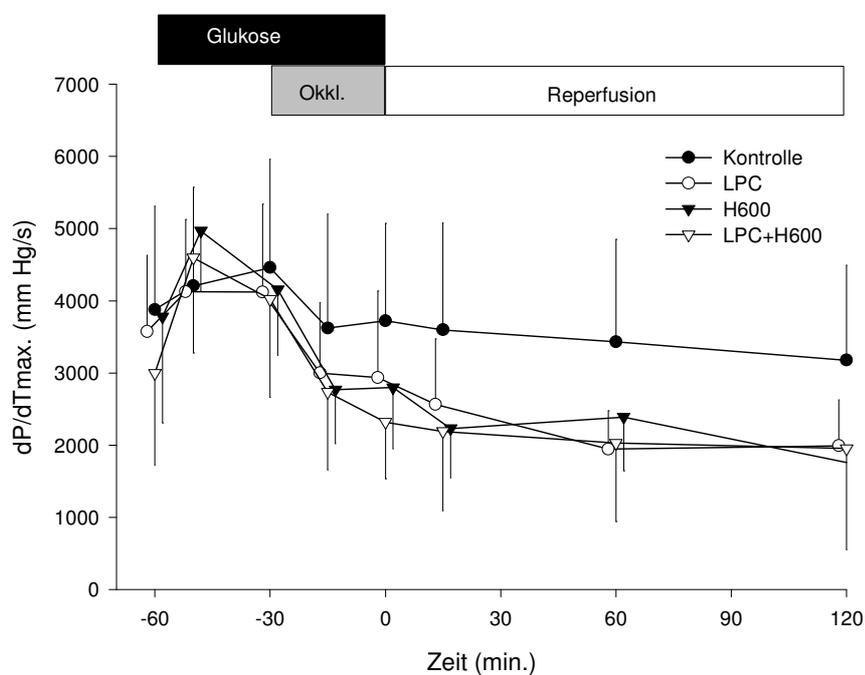


LPC späte ischämische Präkonditionierung
H₆₀₀ Hyperglykämie von ca. 600mg/dl
LPC+H₆₀₀ späte ischämische Präkonditionierung und Hyperglykämie
Okkl. Koronararterienokklusion
Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dP/dT_{max.}$) (s. Abb. 9):

Es zeigte sich ein paralleler Verlauf des $dP/dT_{max.}$ in allen Gruppen. Auch hier konnten wir einen Anstieg der Werte zu Beginn der Glukose- bzw. NaCl-Infusion gefolgt von einem Abfall der Werte ab der Koronararterienokklusion beobachten (um ca. 28 % während der Okklusion bis auf 52 % am Ende des Versuchs).

Abb. 9 maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dP/dT_{max.}$)



LPC späte ischämische Präkonditionierung
H₆₀₀ Hyperglykämie von ca. 600mg/dl
LPC+H₆₀₀ späte ischämische Präkonditionierung und Hyperglykämie
Okkl. Koronararterienokklusion
Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Auch für die minimale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dp/dT_{\min.}$), rate-pressure-product (RPP) und den systemischen vaskulären Widerstand (SVR) gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (s. Tabelle 1 und 2).

Tabelle 1 Hämodynamische Variablen: links-ventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP), Herzzeitvolumen (HZV), Produkt aus Herzfrequenz und Blutdruck (RPP, rate pressure product), Gruppe mit später ischämischer Präkonditionierung (LPC, late ischemic preconditioning group), Gruppe mit Hyperglykämie (H_{600}), Gruppe mit später ischämischer Präkonditionierung und Hyperglykämie (LPC+ H_{600}). Die Daten sind angegeben \pm Standardabweichung, * $P < 0.05$ verglichen mit der Kontrollgruppe.

	Ruhebedingung	Intervention (evtl. Glukoseinfusion)		Koronarokklusion		Reperfusion		
		10 min	30 min	15 min	29 min	15 min	60 min	120 min
LVEDP (mm Hg)								
Kontrolle	3.2 \pm 1.6	2.9 \pm 1.9	3.3 \pm 2.2	3.7 \pm 1.7	3.5 \pm 1.1	3.4 \pm 0.6	3.3 \pm 0.8	3.9 \pm 1.2
LPC	2.2 \pm 0.9	2.3 \pm 0.7	2.2 \pm 0.9	1.9 \pm 0.6	1.7 \pm 0.8	1.4 \pm 0.5*	1.9 \pm 1.2	1.7 \pm 0.6
H_{600}	2.7 \pm 1.2	2.7 \pm 1.0	2.7 \pm 1.2	3.3 \pm 2.5	3.2 \pm 2.9	3.4 \pm 2.4	2.5 \pm 0.8	1.9 \pm 0.4
LPC+ H_{600}	3.9 \pm 1.3	3.3 \pm 1.0	3.4 \pm 1.3	2.8 \pm 1.2	2.6 \pm 1.1	2.8 \pm 1.3	2.7 \pm 0.9	3.0 \pm 1.2
HZV (ml min⁻¹)								
Kontrolle	233 \pm 62	251 \pm 70	265 \pm 83	225 \pm 73	217 \pm 66	213 \pm 69	194 \pm 71	191 \pm 67
LPC	234 \pm 32	255 \pm 52	268 \pm 83	220 \pm 58	210 \pm 54	204 \pm 47	170 \pm 39	170 \pm 26
H_{600}	209 \pm 78	282 \pm 70	225 \pm 94	177 \pm 53	167 \pm 64	151 \pm 53	129 \pm 43	109 \pm 55
LPC+ H_{600}	168 \pm 33	221 \pm 34	189 \pm 36	160 \pm 29	141 \pm 20	137 \pm 24	122 \pm 34	116 \pm 38
RPP (mm Hg bpm)								
Kontrolle	24535 \pm 8310	24412 \pm 7599	25478 \pm 6976	23199 \pm 9486	20690 \pm 6985	20121 \pm 6031	118646 \pm 5942	17882 \pm 6240
LPC	25848 \pm 7728	27371 \pm 6341	25479 \pm 6797	20410 \pm 6755	19490 \pm 7496	18317 \pm 6213	13919 \pm 5554	13085 \pm 4717
H_{600}	21322 \pm 7631	24586 \pm 3956	21752 \pm 5244	15682 \pm 4085	16230 \pm 3916	15167 \pm 5997	12675 \pm 5132	10749 \pm 4270
LPC+ H_{600}	20928 \pm 6427	27775 \pm 7289	23114 \pm 7559	17633 \pm 5800	15499 \pm 4997	14480 \pm 7410	102373 \pm 6591	10388 \pm 6474

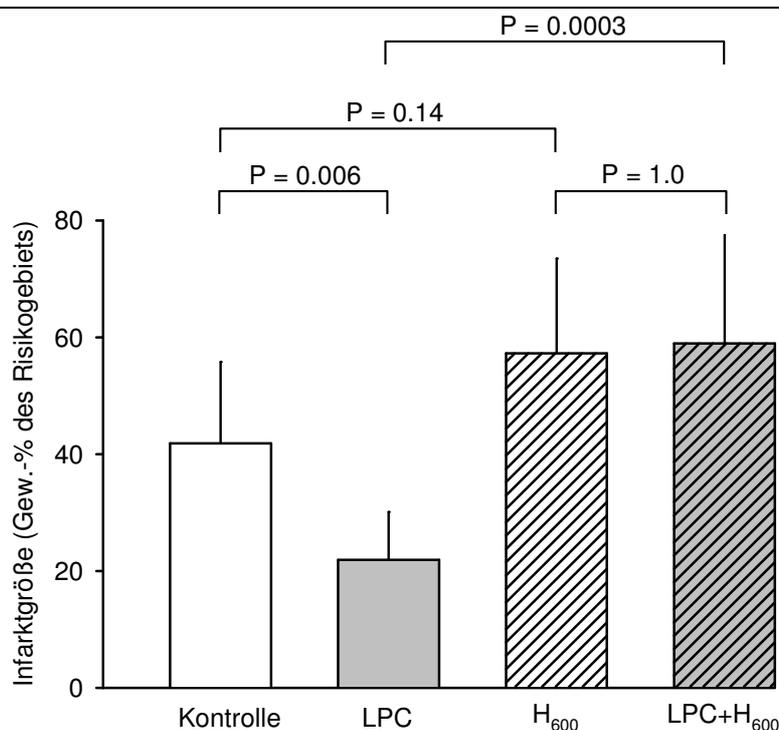
Tabelle 2 Hämodynamische Variablen: systemischer vaskulärer Widerstand (SVR), maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel (dP/dt_{\max}), minimale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{\min}).

	Ruhebedingung	Intervention		Koronarokklusion		Reperfusion		
		10 min	30 min	15 min	29 min	15 min	60 min	120 min
SVR (mm Hg ml⁻¹ min)								
Kontrolle	0.42±0.11	0.38±0.10	0.35±0.10	0.35±0.12	0.37±0.11	0.36±0.10	0.39±0.15	0.38±0.15
LPC	0.51±0.12	0.50±0.16	0.44±0.14	0.41±0.11	0.43±0.16	0.40±0.16	0.35±0.08	0.36±0.14
H ₆₀₀	0.39±0.05	0.36±0.10	0.38±0.15	0.36±0.16	0.41±0.18	0.41±0.15	0.40±0.23	0.43±0.17
LPC+H ₆₀₀	0.49±0.14	0.47±0.12	0.45±0.09	0.47±0.16	0.41±0.07	0.39±0.11	0.38±0.09	0.37±0.14
dP/dt_{max} (mm Hg s⁻¹)								
Kontrolle	3877±1432	4207±1365	4460±1501	3621±1579	3721±1353	3598±1482	3432±1417	3177±1316
LPC	3574±1058	4125±1001	4120±1218	2999±978	2935±1200	2565±905	1946±531	1991±635
H ₆₀₀	3779 1471	4968±836	4158±910	2769±748	2799±847	2233±685	2389±742	1739±617
LPC+H ₆₀₀	2995±1270	4595±1317	4024±1361	2735±1078	2320±787	2192±1096	2029±1087	1953±1398
dP/dt_{min} (mm Hg s⁻¹)								
Kontrolle	3822±1950	4022±2016	4106±1781	3032±1481	3093±1514	2998±1610	2778±1527	2736±1472
LPC	4048±1363	4065±1189	4112±1475	2647±1089	2552±1279	2338±996	1596±823	1540±688
H ₆₀₀	3554±1406	4425±807	3570±1122	2221±684	2241±681	2177±811	2199±942	1505±731
LPC+H ₆₀₀	3149±1693	4728±1603	3545±1515	2434±1015	1983±911	1855±1247	1517±985	1335±1006

3.3 Risikogebiet und Infarktgröße

Das Trockengewicht aller untersuchten Herzen lag im Mittel bei $0,71 \pm 0,15$ g ohne Gruppenunterschiede. Das Trockengewicht des Risikogebietes betrug $0,25 \pm 0,17$ g und machte 34 ± 17 % des linken Ventrikels aus. Die Werte der einzelnen Gruppen sind in Tabelle 3 aufgelistet. Die Ergebnisse der Infarktgrößenbestimmung sind in Abb. 4 zu sehen. Die späte Präkonditionierung verkleinerte den Infarkt von 42 ± 14 % des Risikogebietes (Kontrollgruppe) auf 22 ± 8 % (LPC; $P = 0,006$ vs. Kontrolle). Die akute Hyperglykämie führte zu einem geringfügig größeren Infarkt verglichen mit der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied war allerdings nicht statistisch signifikant (H_{600} , 54 ± 14 %; $P = 0,14$ vs. Kontrolle). Die Kardioprotektion durch späte Präkonditionierung war bei den hyperglykämischen Tieren blockiert (LPC+ H_{600} 59 ± 19 %, $P = 0,0003$ vs. LPC). Die Infarktgröße der H_{600} -Gruppe war ähnlich der in der LPC+ H_{600} -Gruppe ($P = 1,0$). (s. Abb. 10 und Tabelle 3)

Abb. 10 Die Infarktgröße in Gewichtsprozent des Risikogebiets (Mittelwerte)



LPC	späte ischämische Präkonditionierung
H_{600}	Hyperglykämie von ca. 600mg/dl
LPC+ H_{600}	späte ischämische Präkonditionierung <u>und</u> Hyperglykämie

Tabelle 3 Gewichte und Größe des Risikogebietes: LV, linker Ventrikel. Die Daten sind angegeben \pm Standardabweichung, * P < 0.05 verglichen mit der Kontrollgruppe

	Kontrolle	LPC	H₆₀₀	LPC+H₆₀₀
Körpergewicht (g)	2881 \pm 202	2793 \pm 225	2704 \pm 176	2831 \pm 194
LV-Trockengewicht (g)	0.69 \pm 0.12	0.73 \pm 0.13	0.66 \pm 0.07	0.74 \pm 0.24
Risikogebiet (g)	0.27 \pm 0.16	0.18 \pm 0.08	0.26 \pm 0.14	0.28 \pm 0.25
Risikogebiet/LV (%)	39 \pm 20	24 \pm 8	39 \pm 19	35 \pm 16
Infarktgröße (g)	0.11 \pm 0.06	0.04 \pm 0.04*	0.13 \pm 0.06	0.19 \pm 0.22

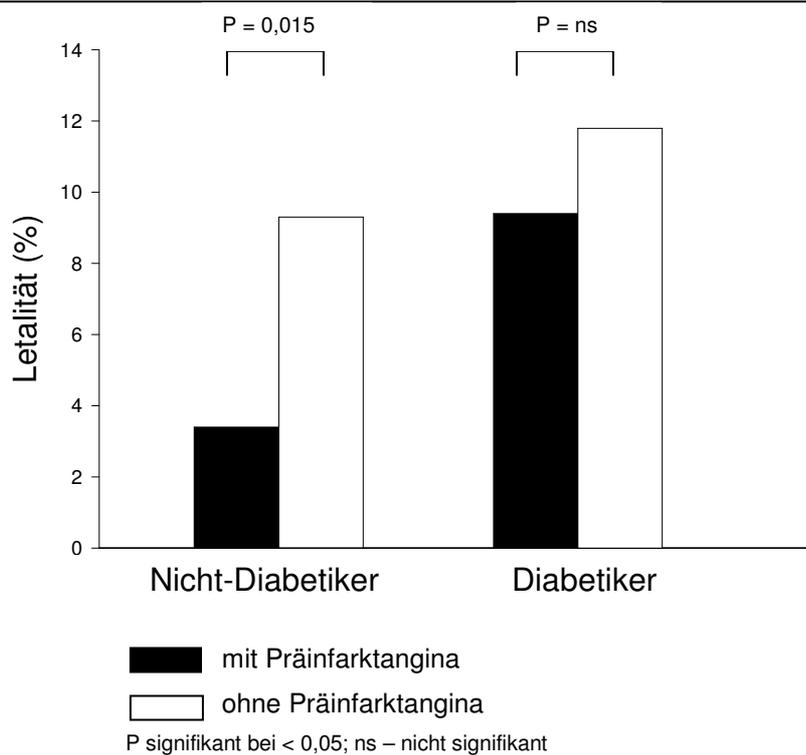
4. Diskussion

Wir untersuchten den Effekt einer akuten Hyperglykämie auf die Myokardprotektion durch späte ischämische Präkonditionierung. Unsere Ergebnisse zeigen eindeutig, dass ein Anstieg des Plasmaglukosespiegels vor und während der infarktauslösenden Ischämie zu einem Verlust der Kardioprotektion durch späte ischämische Präkonditionierung führt.

4.1 Interpretation der Ergebnisse

Diabetiker haben trotz einer Verbesserung der Koronarvorsorge ein höheres Risiko an einem Myokardinfarkt zu sterben als Nicht-Diabetiker (8). Zum einen liegt die Prävalenz der KHK bei Diabetikern viel höher als in der Gesamtbevölkerung (55% vs. 2-4%) (68). Außerdem ist die Überlebensrate nach Myokardinfarkt bei Diabetikern geringer (s. Abb.2) (49). Nahezu 50 % der Todesfälle unter Diabetikern sind auf die Folgen einer koronaren Herzerkrankung zurückzuführen (4). Ob das diabetische Herz vulnerabler gegenüber Ischämien ist, konnte im Tiermodell bisher nicht endgültig geklärt werden, wie widersprüchliche Ergebnisse zeigen (9-11). Ishihara und Mitarbeiter untersuchten Diabetiker und Nicht-Diabetiker mit akutem Vorderwandinfarkt mit und ohne Präinfarktangina. Wie auch schon von Kloner und Mitarbeitern beschrieben, zeigten die nicht-diabetischen Infarktpatienten mit Präinfarktangina eine geringere Kreatin-Kinase-Freisetzung als Zeichen kleinerer Infarkte, eine bessere linksventrikuläre Ejektionsfraktion und eine niedrigere Letalität als Infarktpatienten ohne Präinfarktangina. Bei diabetischen Patienten war eine Präinfarktangina dagegen nicht mit vermindertem Zellschaden, besserer Funktion und reduzierter Letalität assoziiert (2, 28-29) (s. Abb.11)

Abb. 11 Krankenhausletalität des akuten Myokardinfarkts



modifiziert nach Ishihara et al., J AM Coll Cardiol, 2001

Eine mögliche Erklärung dafür ist der Verlust der endogenen kardioprotektiven Mechanismen durch Diabetes mellitus und/oder Hyperglykämie. Die ischämische Präkonditionierung ist der stärkste bekannte endogene Protektionsmechanismus des Herzens gegen die Folgen einer Ischämie. Ischämische Präkonditionierung verkleinert deutlich die Infarktgröße in vivo (1) und scheint ein wichtiger Faktor für die Reduktion der Infarktausdehnung bei Patienten mit Angina pectoris in der Vorgeschichte zu sein (2;3).

Die „klassische“ oder frühe Präkonditionierung beginnt direkt nach der präkonditionierenden Ischämie, hält aber nur für zwei bis drei Stunden an. Die späte Präkonditionierung dagegen beginnt zwar erst 12-24 Stunden nach Ischämie, hält aber bis zu vier Tage an (1). Kersten und Mitarbeiter haben gezeigt, dass Hyperglykämien von 300 und 600 mg/dl und Diabetes mellitus die frühe Präkonditionierung bei anästhesierten Hunden blockiert, und zwar

unabhängig von Insulinkonzentration und Plasmaosmolarität (5, 12). In einer Folgestudie zeigten Kersten und Mitarbeiter, dass die medikamenteninduzierte frühe Präkonditionierung mit Diazoxid, einem spezifischen Öffner mitochondrialer K_{ATP} -Kanäle, durch Diabetes und Hyperglykämie aufgehoben wird. Demnach scheint ein hoher Plasmaglukosespiegel, ein entscheidender Faktor bei Diabetes mellitus, die frühe Präkonditionierung durch Blockierung der K_{ATP} -Kanäle aufzuheben. Es ist bekannt, dass die Öffnung dieser K_{ATP} -Kanäle ein Schlüsselmechanismus für die Entstehung der Kardioprotektion durch frühe Präkonditionierung, späte Präkonditionierung und deren Kombination ist (7;13). In dieser Studie untersuchten wir den Effekt einer akuten Hyperglykämie auf die Kardioprotektion durch späte Präkonditionierung. Bei den Tieren ohne Glukoseinfusion reduzierte die späte Präkonditionierung die Infarktgröße um ca. 48%. Bei den Tieren mit akuter Hyperglykämie verminderte späte ischämische Präkonditionierung die Infarktgröße nicht (57 vs. 59 % des Risikogebietes). Eine mögliche Erklärung aufgrund der Daten von Kersten und Mitarbeitern ist die Blockade der K_{ATP} -Kanäle durch die Hyperglykämie (6). Da diese K_{ATP} -Kanäle in der Signaltransduktionskaskade der LPC eine wichtige Rolle spielen, ist es wahrscheinlich, dass diese Kaskade hier unterbrochen wird (s. Abb.1).

In einer nachfolgenden Studie an diabetischen Kaninchen konnten wir zeigen, dass die späte ischämische Präkonditionierung bei Diabetes mellitus ebenfalls blockiert ist.

Interessanterweise führt aber eine kurzfristige Blutzuckersenkung mittels Insulin nicht zu einer Wiederherstellung der Protektion. Die Blutzuckersenkung fand dabei genau in dem Zeitraum statt, in dem in dieser Studie die Hyperglykämie die Protektion blockiert (27). Der Diabetes mellitus führt wahrscheinlich noch über den erhöhten Blutzucker hinaus zu Veränderungen, die in einer Blockade der späten ischämischen Präkonditionierung resultieren.

Eine Hyperglykämie allein scheint die Infarktgröße zu erhöhen. In unseren Experimenten führte die Hyperglykämie zu einem um 37 % größeren Infarkt. Dies erreichte allerdings keine

statistische Signifikanz ($P = 0,14$) nach P-Wertadjustierung nach Bonferroni. Das ist konkordant mit den Ergebnissen von Kersten und Mitarbeitern, die eine Infarktvergrößerung bei akut hyperglykämischen Hunden (5) sowie eine Korrelation zwischen Infarktgröße und Blutglukosekonzentration (6) beobachten konnten. Es gibt viele Effekte der Hyperglykämie, die für den Anstieg der Infarktgröße verantwortlich sein können:

Erstens verhindert Hyperglykämie koronare mikrozirkulatorische Effekte als Antwort auf Ischämie. Kersten und Mitarbeiter zeigten an Hunden, dass kleine myokardiale Gefäße unter Ischämie bei normoglykämischen Tieren deutlich dilatieren, bei diabetischen und hyperglykämischen Tieren dagegen kaum (14). Hyperglykämie vermindert endothel-abhängige vaskuläre Antworten, die zu Gefäßdilatationen führen: Bohlen und Mitarbeiter zeigten an Rattenarteriolen, dass der Endothelium-derived relaxing factor (EDRF) bei akuter Hyperglykämie vermindert ist (15); Pieper und Mitarbeiter beobachteten eine fehlende dilatatorische Antwort auf Acetylcholin bei aus hyperglykämischen Ratten entnommenen Aorten (16).

Zweitens spielt Stickstoffmonoxid (NO) eine entscheidende Rolle als Mediator bei der späten Präkonditionierung (17) (s. Abb.1). Das steht im Einklang mit Lessar und Mitarbeitern, die herausfanden, dass bei Patienten späte Präkonditionierung mit Nitroglycerin ausgelöst werden kann (18). Giugliano und Mitarbeiter zeigten an menschlichen Probanden, dass eine mittels Glukoseinfusion induzierte Hyperglykämie einen steigenden Blutdruck, sinkenden Blutfluss der Beine und eine erhöhte Thrombozytenaggregation bewirkt. Die gleichen Effekte, wenn auch stärker ausgeprägt, zeigten sich bei der Gabe von NG-monomethyl-L-Arginine, einem Hemmstoff der endogenen NO-Synthese. Daraus lässt sich ableiten, dass Hyperglykämie die Verfügbarkeit von NO vermindert (19).

Drittens steigert Hyperglykämie die sauerstoffabhängige Entstehung von freien Radikalen in Ratten-Arteriolen (15), und freie Sauerstoffradikale vergrößern den Ischämie/Reperfusionsschaden (Erhöhung der Infarktgröße) (20).

4.2 Methodenkritik

Wir beobachteten relativ hohe Blutglukosekonzentrationen von 185 ± 53 mg/dl unter Ruhebedingungen (nach chirurgischer Präparation) in allen Gruppen. Blutzuckernormalwerte von Kaninchen liegen bei 112-135mg/dl (69). Das kann leicht durch den chirurgischen Stress erklärt werden, der die Glukosekonzentration durch verminderten Verbrauch (21) und erhöhte Glukoneogenese (22) erhöht. Trotz dieser Glukosewerte fanden wir einen deutlichen protektiven Effekt der späten Präkonditionierung. Deshalb scheint eine nur geringe Erhöhung der Blutglukosekonzentration keinen oder einen nur geringen Effekt auf die Kardioprotektion durch LPC zu haben.

Die Infusion 50-%iger Glukose ändert nicht nur die Glukosekonzentration sondern auch die Osmolarität des Blutes. Den Effekt dieser Osmolaritätsänderung kurz vor Beginn der Infarkt-induzierenden Ischämie auf die Kardioprotektion durch LPC haben wir nicht untersucht.

Daher können wir anhand unserer Daten nichts über einen eventuellen Beitrag der Osmolaritätserhöhung zur Blockade der späten Präkonditionierung sagen. Die Studie von Kersten und Mitarbeitern zeigte jedoch weder einen Effekt der Osmolarität noch der Insulinkonzentration auf die durch Öffnung von K_{ATP} -Kanälen vermittelte frühe Präkonditionierung (12). Eine Studie unseres Labors zeigte, dass ein Entzug der Glukose im Perfusat isolierter Rattenherzen keinen anderen Effekt bezüglich der Infarktgröße hatte als ein Perfusat mit physiologischem Glukosespiegel (70). Es erscheint daher unwahrscheinlich, dass die Osmolarität die späte Präkonditionierung beeinflusst.

In unserer Studie hatte die Reduktion der Infarktgröße in der LPC-Gruppe keine bessere funktionelle Erholung zur Folge, obwohl die Infarktgröße nahezu halbiert wurde. Das ist aus zwei Gründen nicht überraschend. Zum einen waren die verbleibenden postischämischen Myokardareale in ihrer Funktion sicherlich eingeschränkt (stunning). Wir konnten keine Verbesserung der Herzfunktion während der 120 Minuten Reperfusionzeit beobachten.

Dieses Ergebnis deckt sich mit einer Studie von Cohen und Mitarbeitern, in der kleine Infarkte nichts über die Funktionsverbesserung des Herzens in der Reperfusionphase aussagten (23). Erst zwei bis vier Tage nach der Ischämie wurde eine Verbesserung der Herzfunktion deutlich. Zum anderen nahm das Risikogebiet durchschnittlich 34% des linken Ventrikels ein. Die Infarktgröße lag zwischen 22% (LPC-Gruppe) und 59% (LPC+H600) des Risikogebietes. Der Infarkt betrug also nur 7-20% des linksventrikulären Gewichtes. Diese kleinen Unterschiede könnten erklären, warum keine verbesserte funktionelle Erholung durch Infarktgrößenreduzierung beobachtet werden konnte.

Wir können nicht ausschließen, dass unter hyperglykämischen Bedingungen, wie sie in unserer Studie vorlagen, ein anderes Präkonditionierungsprotokoll andere Effekte hat als unseres. Dennoch ist die Verkleinerung des Infarktes in der LPC-Gruppe verglichen mit der Kontroll-Gruppe, erreicht durch eine fünfminütige Ischämie, ähnlich umfangreich wie die Verkleinerung, die von anderen Arbeitsgruppen mit anderen Protokollen beobachtet wurde (24; 25). Baxter und Mitarbeiter berichteten, dass die Ischämiezeit, die benötigt wird, um die späte Präkonditionierung auszulösen, nur fünf Minuten beträgt, also die Zeit, die unser Protokoll vorsah, und dass weitere Ischämie-Zyklen keine Verstärkung der Kardioprotektion erbringen (26). Das stimmt mit Daten unseres Labors überein, in denen aus einer fünfminütigen Ischämie eine ähnliche Infarktgrößenreduktion resultiert wie aus fünf Zyklen vierminütiger Ischämien (30). Es ist also wahrscheinlich, dass durch unser Präkonditionierungsprotokoll maximale Wirkung erreicht wurde.

Wir beobachteten einen Anstieg des LVPSP, HZV und dp/dT_{max} in allen Gruppen in der Zeit, in der in zwei Gruppen Glukose und in den anderen beiden Gruppen 0,9 %ige NaCl-Lösung infundiert wurde (s. Abb. 7-9). Eine Erklärung dafür können wir nicht mit Sicherheit geben. Möglicherweise ist der Anstieg der Werte auf die vermehrte Volumengabe zurückzuführen.

5. Schlussfolgerung

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die späte ischämische Präkonditionierung durch akute Hyperglykämie kurz vor und während der Ischämie aufgehoben wird. Der Verlust dieses endogenen Mechanismus könnte zu der schlechten Prognose von Diabetikern und hyperglykämischen Patienten mit Herzinfarkt beitragen.

Zusammenfassung

Hyperglykämie und Diabetes mellitus sind bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt mit erhöhter Letalität assoziiert. Es ist bekannt, dass erhöhte Blutzuckerwerte K_{ATP} -Kanäle blockieren können, die bei der Vermittlung der Protektion durch späte ischämische Präkonditionierung am Herzen eine wichtige Rolle spielen. Wir untersuchten, ob eine akute Hyperglykämie die kardioprotektive Wirkung der ischämischen späten Präkonditionierung blockiert.

Dafür wurden 40 Kaninchen chronisch mit einem Koronararterienokkluder instrumentiert und in vier Gruppen eingeteilt. Alle Tiere wurden einer 30-minütigen Koronararterienokklusion gefolgt von einer zwei Stunden dauernden Reperfusion (I/R) unterzogen. Anschließend wurde die Infarktgröße bestimmt. Tiere der Kontrollgruppe wurden nicht weiter behandelt. In zwei Gruppen wurden die Tiere einer fünfminütigen myokardialen Ischämie 24 Stunden vor I/R unterzogen. In einer dieser Gruppen (LPC+H₆₀₀) und in der vierten Gruppe (H₆₀₀) wurde 30 Minuten vor I/R bis zum Ende der Ischämie eine Hyperglykämie von ca. 600 mg/dl durch eine Glukoseinfusion induziert.

Die späte Präkonditionierung reduzierte die Infarktgröße von 42 ± 14 (Kontrolle) auf $22 \pm 8\%$ des Risikogebietes ($P = 0,006$). Die Hyperglykämie allein führte zu einer tendenziellen Vergrößerung des Infarktes (H₆₀₀ $57 \pm 16\%$, $P = 0,14$ vs. Kontrolle). Der durch LPC erzeugte myokardiale Schutz wurde durch Hyperglykämie vollständig blockiert (LPC+H₆₀₀ $59 \pm 19\%$, $P = 0,0003$ vs. Kontrolle).

Schlussfolgerung:

Eine akute Hyperglykämie während der infarktinduzierenden Ischämie blockiert den Schutz der späten Präkonditionierung am Kaninchen *in vivo*.

Literaturverzeichnis

1. Bolli R: The late phase of preconditioning. *Circ.Res.* 87:972-983, 2000
2. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, Burstein S, Gibson M, Poole WK, Cannon CP: Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. A clinical correlate to preconditioning? *Circulation* 91:37-45, 1995
3. Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Sorbello F, Limonetti P, Pantoli D, Rusticali F: Prodromal angina limits infarct size. A role for ischemic preconditioning. *Circulation* 91:291-297, 1995
4. Jelesoff NE, Feinglos M, Granger CB, Califf RM: Outcomes of diabetic patients following acute myocardial infarction: a review of the major thrombolytic trials. *Coron.Artery Dis.* 7:732-743, 1996
5. Kersten JR, Schmeling TJ, Orth KG, Pagel PS, Warltier DC: Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning in vivo. *Am.J.Physiol.* 275:H721-H725, 1998
6. Kersten JR, Montgomery MW, Ghassemi T, Gross ER, Toller WG, Pagel PS, Warltier DC: Diabetes and hyperglycemia impair activation of mitochondrial K_{ATP} channels. *Am.J.Physiol* 280:H1744-H1750, 2001
7. Müllenheim J, Schlack W, Fräßdorf J, Preckel B, Thämer V: Additive protective effects of late and early ischaemic preconditioning are mediated by opening of K_{ATP} channels in vivo. *Pflügers Arch.Eur.J.Physiol.* 442:178-187, 2001
8. Malmberg K, Ryden L: Myocardial infarction in patients with diabetes mellitus. *Eur.Heart J.* 9:259-264, 1988

9. Liu Y, Thornton JD, Cohen MV, Downey JM, Schaffer SW: Streptozotocin-induced non-insulin-dependent diabetes protects the heart from infarction. *Circulation* 88:1273-1278, 1993
10. Vogel WM, Apstein CS: Effects of alloxan-induced diabetes on ischemia-reperfusion injury in rabbit hearts. *Circ.Res.* 62:975-982, 1988
11. Forrat R, Sebbag L, Wiernsperger N, Guidollet J, Renaud S, De Lorgeril M: Acute myocardial infarction in dogs with experimental diabetes. *Cardiovasc.Res.* 27:1908-1912, 1993
12. Kersten JR, Toller WG, Gross ER, Pagel PS, Warltier DC: Diabetes abolishes ischemic preconditioning: role of glucose, insulin, and osmolality. *Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol.* 278:H1218-H1224, 2000
13. O'Rourke B: Myocardial K_{ATP} channels in preconditioning. *Circ.Res.* 87:845-855, 2000
14. Kersten JR, Brooks LA, Dellsperger KC: Impaired microvascular response to graded coronary occlusion in diabetic and hyperglycemic dogs. *Am.J.Physiol* 268:H1667-H1674, 1995
15. Bohlen HG, Lash JM: Topical hyperglycemia rapidly suppresses EDRF-mediated vasodilation of normal rat arterioles. *Am.J.Physiol* 265:H219-H225, 1993
16. Pieper GM, Meier DA, Hager SR: Endothelial dysfunction in a model of hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Am.J.Physiol* 269:H845-H850, 1995
17. Bolli R, Dawn B, Tang XL, Qiu Y, Ping P, Xuan YT, Jones WK, Takano H, Guo Y, Zhang J: The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. *Basic Res.Cardiol.* 93:325-338, 1998

18. Leesar MA, Stoddard MF, Dawn B, Jasti VG, Masden R, Bolli R: Delayed preconditioning-mimetic action of nitroglycerin in patients undergoing coronary angioplasty. *Circulation* 103:2935-2941, 2001
19. Giugliano D, Marfella R, Coppola L, Verrazzo G, Acampora R, Giunta R, Nappo F, Lucarelli C, D'Onofrio F: Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine. Evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. *Circulation* 95:1783-1790, 1997
20. Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P: Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Resolved and unresolved issues. *Circulation* 80:1115-1127, 1989
21. Schricker T, Lattermann R, Fiset P, Wykes L, Carli F: Integrated analysis of protein and glucose metabolism during surgery: effects of anesthesia. *J.Appl.Physiol.* 91:2523-2530, 2001
22. Long CL, Spencer JL, Kinney JM, Geiger JW: Carbohydrate metabolism in normal man and effect of glucose infusion. *J.Appl.Physiol* 31:102-109, 1971
23. Cohen MV, Yang XM, Downey JM: Smaller infarct after preconditioning does not predict extent of early functional improvement of reperfused heart. *Am.J.Physiol* 277:H1754-H1761, 1999
24. Qiu Y, Rizvi A, Tang XL, Manchikalapudi S, Takano H, Jadoon AK, Wu WJ, Bolli R: Nitric oxide triggers late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits. *Am.J.Physiol* 273:H2931-H2936, 1997
25. Yang XM, Baxter GF, Heads RJ, Yellon DM, Downey JM, Cohen MV: Infarct limitation of the second window of protection in a conscious rabbit model. *Cardiovasc.Res.* 31:777-783, 1996

26. Baxter GF, Goma FM, Yellon DM: Characterisation of the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: timecourse and dose-dependency studies in rabbit myocardium. *Basic Res. Cardiol.* 92:159-167, 1997
27. Ebel D, Müllenheim J, Fräßdorf J, Heinen A, Huhn R, Bohlen T, Ferrari J, Südkamp H, Preckel B, Schlack W, Thämer V: Effect of acute hyperglycemia and diabetes mellitus with and without short-term insulin-treatment on myocardial ischemic late preconditioning in the rabbit heart in vivo. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology.* 446:175-182, 2003
28. Ishihara M, Inoue I, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, Nishioka K, Kouno Y, Umemura T: Diabetes mellitus prevents ischemic preconditioning in patients with a first acute anterior wall myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 38:1007-1011, 2001
29. Ishihara M, Inoue I, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, Nishioka K, Umemura T, Nakamura S, Yoshida M: Effect of acute hyperglycemia on the ischemic preconditioning effect of prodromal angina pectoris in patients with a first anterior wall acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 92:288-291, 2003
30. Ebel D, Müllenheim J, Preckel B, Schlack W: Five minutes of ischemia induces ischemic late preconditioning with maximum protection. *Anesthesiology* 2004;101:A713 (abstract)
31. Jaffe AS, Spadaro JJ, Schechtman UK, Roberts R, Geltman EM, Sobel BE: Increased congestive heart failure after myocardial infarction of modest and extent in diabetic patients. *Am Heart J* 108: 31-37, 1984
32. Stone PH, Muller JE, Hartwell T, York BJ, Rutherford JD, Parker CB, Turi ZG, Strauss HW, Willerson JT, Robertson T, Braunwald E, Jaffe AS, and the MILIS Study Group: The effect of diabetes mellitus on prognosis and serial left ventricular function after acute myocardial infarction: Contribution of both coronary disease and diastolic left ventricular dysfunction to the adverse prognosis. *J Am Coll Cardiol* 14: 49-57, 1989

33. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, Mitch W, Smith SC, Sowers JR: Diabetes and Cardiovascular Disease. A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation* 100:1134-1146, 1999
34. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74:1124-1136, 1986
35. Liu Y, Downey JM: Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am J Physiol* 263: H1107-1112, 1992
36. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AW, Olsson RA, Downey JM: Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A₁ adenosin receptors in rabbit heart. *Circulation* 84: 350-356, 1992
37. Vahlhaus C, Schulz R, Post H, Onallah R, Heusch G: No prevention of ischemic preconditioning by protein kinase C inhibitor staurosporine in swine. *Circ Res* 79: 407-414, 1996
38. Bernardo NL, D'Angelo M, Ocubo S, Joy A, Kukreja RC: Delay ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart. *Am J Physiol* 276: H1323-H1330, 1999
39. Kitakaze M, Hori M, Morioka T, Minamino T, Takashima S, Sato H, Shinozaki Y, Chujo M, Mori H, Inoue M, Kamada T: Infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning is blunted by inhibition of 5'-Nucleotidase activity and attenuation of adenosine release. *Circulation* 89: 1237-1246, 1994
40. Tsuchida A, Liu A, Liu GS, Cohen MV, Downey JM: Alpha-1-adrenergic agonists precondition rabbit myocardium independent of adenosine by direct activation of protein kinase C. *Circulation Research* 75: 576-585, 1994
41. Yao Z, Gross GJ: Acetylcholine mimics ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in dogs. *Am J Physiol* 264: H2221-H2225, 1993

42. Schultz JJ, Hsu AK, Gross GJ: Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. *Circulation Research* 78: 1100-1104, 1996
43. Hartmann JC, Wall TM, Hulliger TG, Shebuski RJ: Reduction of myocardial infarct size by Ramiprilat: Reversal by the bradykinin antagonist HOE 140. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 21: 996-1003, 1993
44. Arstall MA, Zhao YZ, Hornberger L, Kennedy SP, Buchholz RA, Osathanondh R, Kelly RA: Human ventricular myocytes in vitro exhibit both early and delayed preconditioning responses to simulated ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 30: 1019-1025, 1998
45. Kloner RA, Shook T, Antman EM, Cannon CP, Przyklenk K, Yoo K, McCabe CH, Braunwald E: TIMI-9B investigators: Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome. *Circulation* 97: 1042-1045, 1998
46. Downey JM, Cohen MV: Do mitochondrial K_{ATP} channels serve as triggers rather than end-effectors of ischemic preconditioning's protection. *Basic Res Cardiol* 95: 272-274, 2000
47. Stambourgh K, Elliot GT, Jacobson KA, Liang BT: Additive effects of late preconditioning produced by monophosphoryl lipid A and the early preconditioning mediated by adenosine receptors and K_{ATP} channel. *Circulation* 99: 3300-3307, 1999
48. Sasaki N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B, Marban E: Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation* 101: 439-445, 2000
49. Mukamal KJ, Nesto RW, Cohen MC, Muller JE, Maclure M, Sherwood JB, Mittleman MA.: Impact of diabetes on long-term survival after acute myocardial infarction: comparability of risk with prior myocardial infarction. *Diabetes Care* 24(8):1422-7, 2001
50. Goraya TY, Leibson CL, Palumbo PJ, Weston SA, Killian JM, Pfeifer EA, Jacobsen SJ, Frye RL, Roger VL: Coronary atherosclerosis in diabetes mellitus: a population-based autopsy study. *J Am Coll Cardiol* 40: 946-53, 2002

51. Tajaddini A, Klingensmith JD, Vince DG: An intravascular ultrasound study of coronary artery compliance in the diabetic population. *Circulation* 102: suppl II, II-636, 2000
52. Zoneraich S, Silverman G: Myocardial small vessel disease in diabetic patients. In: Zoneraich S, ed. *Diabetes and Heart*, Springfield, Charles C. Thomas, p 3-18, 1978
53. Factor SM, Okun EM, Minase T: Capillary microaneurysms in the human diabetic heart. *N Engl J Med* 302: 384-388, 1980
54. Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptekar E, Attali JR: Impairment of coronary vascular reserve and ACH-induced coronary vasodilation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function. *Diabetes* 42: 1017-25, 1993
55. Aoki I, Shimoyama K, Aoki N, Homori M, Yanagisawa A, Nakahara K, Kawai Y, Kitamura SI, Ishikawa K: Platelet-dependent thrombin generation in patients with diabetes mellitus: effects of glycemic control on coagulability in diabetes. *J Am Coll Cardiol* 27: 560-6, 1996
56. Cariello A, Coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. *Diabetologia* 36: 1119-1125, 1993
57. Davi G, Catalano I, Averna M, Notarbartolo A, Strano A, Ciabattoni G, Patrono C: Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 322(25):1769-74, 1990
58. Aronson D, Bloomgarden Z, Rayfield EJ: Potential mechanisms promoting restenosis in diabetic patients. *J Am Coll Cardiol*. 27(3):528-35, 1996
59. Jain SK, Nagi DK, Slavin BM, Lumb PJ, Yudkin JS: Insulin therapy in type 2 diabetic subjects suppresses plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity and proinsulin-like molecules independently of glycaemic control. *Diabet Med*.10(1):27-32, 1993
60. Stanley WC, Hall JL, Hacker TA, Hernandez LA, Whitesell LF: Decreased myocardial glucose uptake during ischemia in diabetic swine. *Metabolism*. 46(2):168-72, 1997

61. Strödter D, Willmann P, Willmann J, Federlin K, Schaper W: Results of a balance of energy in the diabetic heart, pp 383-393. In: *The Diabetic Heart*, edited by Nagano M and Dhalla NS, Raven Press, LTD, New York, 1991
62. Di Bello V, Talarico L, Picano E, Di Muro C, Landini L, Paterni M, Matteucci E, Giusti C, Giampietro O: Increased echodensity of myocardial wall in the diabetic heart: an ultrasound tissue characterization study. *J Am Coll Cardiol.* 25(6):1408-15, 1995
63. van Hoeven KH, Factor SM: A comparison of the pathological spectrum of hypertensive, diabetic, and hypertensive-diabetic heart disease. *Circulation.* 82(3):848-55, 1990
64. Fisher BM, Gillen G, Lindop GB, Dargie HJ, Frier BM: Cardiac function and coronary arteriography in asymptomatic type 1 (insulin-dependent) diabetic patients: evidence for a specific diabetic heart disease. *Diabetologia.* 29(10):706-12, 1986
65. Trödter D, Wegenaer M, Federlin K: Reduziert diastolische Funktion bei Typ-I-Diabetikern. *Diab Stoffw* 4, 395-401, 1995
66. Grossman E, Shemesh J, Shamiss A, Thaler M, Carroll J, Rosenthal T: Left ventricular mass in diabetes-hypertension. *Arch Intern Med.* 152(5):1001-4, 1992
67. Zarich S, Waxman S, Freeman RT, Mittleman M, Hegarty P, Nesto RW: Effect of autonomic nervous system dysfunction on the circadian pattern of myocardial ischemia in diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 24(4):956-62, 1994
68. Fein F, Scheuer J: Heart disease in diabetes mellitus: theory and practice. In: Rifkin H, Porre D Jr, editors. New York: Elsevier, 812-823, 1990
69. McLaughlin R.M, Fish R.F.: *Clinical biochemistry and haematology, The Biology of the laboratory rabbit*, second edition. Academic press (1994), 111-114
70. Dissertation von Silke Redler, mündliche Mitteilung

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Bohlen
Vorname: Thomas
Geburtsdatum/-ort: 08.03.1978 in Dorsten
Anschrift: Aachener Str. 159
40223 Düsseldorf
Familienstand: ledig

Schulbildung:

08/1984 - 07/1988 Antonius-Grundschule in Dorsten
08/1988 - 06/1997 Gymnasium Petrinum Dorsten

Zivildienst:

07/1997 - 07/1998 Rettungsdienst, Deutsches Rotes Kreuz, Recklinghausen

Hochschulausbildung:

10/1998 - 05/2005 Universität Düsseldorf: Studiengang Medizin
09/2000 Ärztliche Vorprüfung
03/2002 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2004 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2004-03/2005 Praktisches Jahr am Evangelischen Krankenhaus
Düsseldorf
05/2005 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Danksagung

Zuerst möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Volker Thämer für seine Betreuung danken, die keine Wünsche offen ließ.

Besonderer Dank gebührt Dr. Dirk Ebel, der die Versuche organisierte und sich jederzeit für mich als Doktorand verantwortlich fühlte.

Herzlichen Dank auch der gesamten Arbeitsgruppe. Die Zusammenarbeit war sehr produktiv und in eurer Gesellschaft habe ich mich immer wohl gefühlt.

Ich möchte auch meinen Eltern danken, die mir wie selbstverständlich das Studium ermöglicht haben und deren Unterstützung mir immer sicher war.

Vielen Dank auch meinem Bruder Florian, mit dem ich gerade auch in schweren Zeiten viele Gespräche führen konnte.

Meiner Freundin Iris möchte ich dafür danken, dass sie mir ein ständiger Rückhalt ist und ich mich immer auf sie verlassen kann. Ein Leben ohne dich kann ich mir gar nicht mehr vorstellen.

Danke auch an meine Freunde Jan, Dennis und Jenny. Ihr seid ein wichtiger Teil meines Lebens.

Abstract

Hyperglykämie und Diabetes mellitus sind bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt mit erhöhter Letalität assoziiert. Es ist bekannt, dass erhöhte Blutzuckerwerte K_{ATP} -Kanäle blockieren können, die bei der Vermittlung der Protektion durch späte ischämische Präkonditionierung am Herzen eine wichtige Rolle spielen. Wir untersuchten, ob eine akute Hyperglykämie die kardioprotektive Wirkung der ischämischen späten Präkonditionierung blockiert.

Dafür wurden 40 Kaninchen chronisch mit einem Koronararterienokkluder instrumentiert und in vier Gruppen eingeteilt. Alle Tiere wurden einer 30-minütigen Koronararterienokklusion gefolgt von einer zwei Stunden dauernden Reperfusion (I/R) unterzogen. Anschließend wurde die Infarktgröße bestimmt. Tiere der Kontrollgruppe wurden nicht weiter behandelt. In zwei Gruppen wurden die Tiere einer fünfminütigen myokardialen Ischämie 24 Stunden vor I/R unterzogen. In einer dieser Gruppen (LPC+H₆₀₀) und in der vierten Gruppe (H₆₀₀) wurde 30 Minuten vor I/R bis zum Ende der Ischämie eine Hyperglykämie von ca. 600 mg/dl durch eine Glukoseinfusion induziert.

Die späte Präkonditionierung reduzierte die Infarktgröße von 42 ± 14 (Kontrolle) auf $22 \pm 8\%$ des Risikogebietes ($P = 0,006$). Die Hyperglykämie allein führte zu einer tendenziellen Vergrößerung des Infarktes (H₆₀₀ $57 \pm 16\%$, $P = 0,14$ vs. Kontrolle). Der durch LPC erzeugte myokardiale Schutz wurde durch Hyperglykämie vollständig blockiert (LPC+H₆₀₀ $59 \pm 19\%$, $P = 0,0003$ vs. Kontrolle).

Schlussfolgerung:

Eine akute Hyperglykämie während der infarktinduzierenden Ischämie blockiert den Schutz der späten Präkonditionierung am Kaninchen *in vivo*.

Himmelstorf, den 23. Juni 2005 N. V. Thämer