

Aus dem
Physiologischen Institut
Abteilung Herz-Kreislaufphysiologie
der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Universitätsprofessor J. Schrader

**Die präkonditionierende Wirkung
geringer Glukosekonzentrationen
auf die Größe des Myokardinfarkts**

Untersuchungen an isolierten Rattenherzen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Silke Redler

2005

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

gez.: Univ-Prof. Dr. Raab
Dekan

Univ-Prof. Dr. Thämer
Referent

Prof. Dr. Schipke
Korreferent

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	4
Ausblick	6
MATERIAL UND METHODIK	
Präparation	7
Hämodynamische Messungen	8
Metabolische Messungen	9
Versuchsprotokoll	10
Datenanalyse und Statistik	11
ERGEBNISSE	
Hämodynamik	14
Trockengewicht und ischämische Kontraktur	17
Infarktgröße	18
DISKUSSION	23
LITERATURVERZEICHNIS	28
DANKSAGUNG	33
LEBENS LAUF	34
ZUSAMMENFASSUNG	35

ABBILDUNGEN

Abbildung 1: Versuchsprotokoll	12
Abbildung 2: Hämodynamische Variablen	15
Abbildung 3: Infarktgröße	19
Abbildung 4: Infarktgröße	21

TABELLEN

Tabelle 1: Perfusate	22
Tabelle2: Trockengewicht der Herzen	17

Einleitung

Eine Unterbrechung der myokardialen Durchblutung von nur wenigen Minuten Dauer, die selbst zu keiner Gewebsschädigung führt, schützt das betroffene Gebiet vor den Folgen einer anschließenden, längerdauernden Ischämie. Die Reduktion der Infarktgröße kann bis zu 50 % betragen und ist die wirksamste Myokardprotektion, die bisher gefunden wurde. Dieses Phänomen wurde von Murry und Kollegen 1986 erstmalig beschrieben und ist als ischämische Präkonditionierung (PC) bekannt.(22) Welche biochemischen Abläufe mit dem präkonditionierenden Reiz aktiviert werden, ist nicht sicher bekannt. Man vermutet, dass eine Kaskade von Reaktionen ausgelöst wird, bei denen unter anderem Proteinkinase C, Adenosinrezeptoren und Sauerstoffradikale eine Rolle spielen. Gut untersucht ist die Bedeutung der ATP-abhängigen Kaliumkanäle, die eine entscheidende Rolle in der Kaskade einnehmen. Ihre Wirkung läßt sich durch den spezifischen Blocker 5-Hydroxydekarbonat (5HD) ausschalten, was zur Folge hat, dass die Präkonditionierung aufgehoben wird. In den letzten Jahren hat sich herausgestellt, dass sich die Präkonditionierung auf verschiedene Weise auslösen läßt, von denen die ischämische PC nur eine ist. So führten Inhalationsanästhetika, die für nur 5 min eingeatmet werden, zu einer gleichartigen Protektion. (11,23,24) Soviel man weiß, ist der Weg, auf dem sie vermittelt wird, der gleiche wie bei der ischämischen Präkonditionierung. Auch eine Senkung des Glukosespiegels im Blut scheint den gleichen Effekt zu haben. Dafür sprechen Befunde aus einigen Studien, die zeigen, dass ein wenige Minuten dauernder Entzug von Glukose das Myokardgewebe gegen die Auswirkungen einer anschließenden Ischämie schützen kann. (1,2,3,4) Es scheint also, dass die ischämische Präkonditionierung durch Veränderungen im Stoffwechsel imitiert werden kann. Dieses Phänomen wird als metabolische Präkonditionierung bezeichnet. (1,2,3,4) Es ist bislang wenig darüber bekannt, welche biochemischen Reaktionen im Myokardgewebe hierbei eine Rolle spielen. Es wird jedoch angenommen, dass, ähnlich wie bei der ischämischen Präkonditionierung, die Aktivierung der gleichen Signaltransduktionskaskade, in der K_{ATP}-Kanäle, die Proteinkinase C sowie Adenosinrezeptoren eine wichtige Rolle einnehmen, für die Protektion der Herzzellen verantwortlich ist. (1,2) Untersuchungen, welches Ausmaß an Hypoglykämie erforderlich ist, um eine metabolische Präkonditionierung zu induzieren, gibt es bisher nicht. Man

weiß lediglich, dass Glukose eine zentrale Rolle in der metabolischen Präkonditionierung einnimmt und dass Hyperglykämie und/oder Diabetes mellitus die metabolische Präkonditionierung aufheben können. Ziel der hier vorliegenden Studie war es, zu untersuchen, welche Glukosekonzentrationen im Perfusat das Myokard gegen Infarkt präkonditionieren. Dabei stellten wir die Frage, ob sich die Reduktion der Myokardinfarktgröße durch verschiedene Glukosekonzentrationen im Perfusat abstimmen läßt (0, 40, 80, 100 mg/dl), d.h. ob die Reduktion des Myokardinfarkts zunimmt, wenn die Glukosekonzentration im Perfusat abnimmt. Wir führten die Studie an isolierten, durch Pufferlösung perfundierten Rattenherzen durch, da sich hierbei die Glukosekonzentrationen in der Perfusionslösung abstimmen ließen und auch eine glukosefreie Perfusion möglich war. Der physiologische Gehalt des Blutes an Glukose bei Ratten beträgt 60 – 100 mg/100 ml. (26) Die isolierten Rattenherzen wurden zunächst durch eine 10 minütige Perfusion mit verschiedenen Glukosekonzentrationen vorbehandelt, danach wurden sie einer 30 minütigen Hypoxie und einer anschließender 60 minütigen Reperfusion unterzogen. Zusätzlich verwendeten wir den Blocker 5-Hydroxydekarbonat, um zu untersuchen, ob mitochondriale K_{ATP} -Kanäle beteiligt sind. Eine weitere Fragestellung dieser Studie war, ob Veränderungen der Osmolarität bei hypoglykämischer und aglykämischer Perfusion auf die ischämische Präkonditionierung und die Größe des Myokardinfarkts Einfluß haben. Daher korrigierten wir den Osmolaritätsverlust bei Reduzierung der Glukose im Perfusat durch Zusatz von Harnstoff. Mit weiteren Versuchen untersuchten wir, ob die metabolische Präkonditionierung abhängig ist vom spezifischen Molekül Glukose, oder ob andere Zuckerformen die Wirkung von Glukose bei der Präkonditionierung imitieren können. Dafür behandelten wir zusätzliche Gruppen mit Glukose und reduzierten die Konzentrationen erneut auf Werte von 0, 40, 80 und 100 mg/dl. Den dadurch entstehenden Osmolaritätsverlust korrigierten wir hierbei nicht mit Urea, sondern mit dem Zucker 2-Deoxyglukose, so dass wir normoglykämische Perfusionslösungen erhielten. 2-Deoxyglukose unterscheidet sich von Glukose lediglich durch den Austausch der Hydroxylgruppe am zweiten Kohlenstoffatom gegen eine Wasserstoffgruppe. Für die Zelle ist dieser Unterschied zunächst nicht zu erkennen. Deshalb werden sowohl Glukose als auch 2-Deoxyglukose zuerst gemeinsam über den Stoffwechselweg der Glykolyse metabolisiert, bis der Punkt erreicht ist, an

dem der unterschiedliche Aufbau der Zuckermoleküle, die weitere Verstoffwechslung über den selben Weg verhindert. Der Metabolit 2-Deoxyglukose-6-Phosphat kann im Gegensatz zu Glukose-6-Phosphat, wegen des Fehlens der Hydroxylgruppe am zweiten Kohlenstoffatom, nicht zu Fruktose-6-Phosphat isomerisiert werden und spielt somit für den weiteren Stoffwechsel der Zelle kaum noch eine Rolle. (31)

Ausblick

Die myokardiale ischämische und metabolische Präkonditionierung ist ausschließlich im Tierexperiment untersucht worden. Für die protektive Wirkung beim Menschen gibt es jedoch deutliche Hinweise. So konnte die ischämische Präkonditionierung auch an humanen Kardiomyozyten nachgewiesen werden. Generell kann man davon ausgehen, dass koronarkranke Patienten aufgrund rezidivierender Angina pectoris Anfälle ischämisch präkonditioniert sind. Angina pectoris Anfälle bewirken somit eine myokardiale Präkonditionierung und stellen einen wesentlichen Protektionsmechanismus dar. (21,22,28,33) Diesem Protektionsmechanismus kommt bei koronarkranken Patienten eine besondere Bedeutung zu. Eventuell können aber auch niedrige Glukosespiegel zu einem zusätzlichen Schutz führen und dazu beitragen, die Letalität bei Patienten mit Myokardinfarkt zu reduzieren und zu einer Verminderung des myokardialen Zellschadens führen.

MATERIAL UND METHODIK

Präparation

Die Studie wurde entsprechend den Vorschriften des deutschen Tierschutzgesetzes sowie mit Genehmigung der zuständigen Behörden durchgeführt.

Zur Beschreibung der experimentellen Präparation des isolierten Rattenherzmodells: Wir verwendeten isolierte Herzen von insgesamt 83 männlichen Wistar Ratten (250-300 g Gewicht). Die narkotisierten Ratten wurden getötet, danach wurden die Herzen schnell herausgeschnitten, an ein Langendorff Perfusionssystem angebracht und unverzüglich über die Aorta und die Koronararterien perfundiert. Die Perfusion mit modifizierter Krebs-Henseleit-Lösung (Tabelle 1) erfolgte bei einem konstantem Druck von 100 cm H₂O. Die retrograde Perfusion wurde mit einem oxygenierten modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer begonnen. Dieser Puffer enthielt (mmol/l): NaCl 116, KCl 4.7, MgSO₄ 1.1, KH₂PO₄ 1.17, NaHCO₃ 24.9, CaCl₂ 2.52, Glukose 8.3 (entsprechend: 100 mg/dl) und Pyruvat 2.0; Die Lösung wurde mit 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid begast. Mittels einer kalibrierten Rollerpumpe (Modell 7518, Cole-Parmer Instruments, IL, USA) füllten wir ein Reservoir auf, über das dem Herzen die Krebs-Henseleit-Lösung zugeführt wurde. Über die Pulmonalarterie wurde ein Teflon Katheter (1.2 mm) in den rechten Ventrikel gelegt. Über diesen Katheter entnahmen wir über das Experiment hin kontinuierlich Proben zur Gasanalyse sowie zur Berechnung des Sauerstoffverbrauchs. Die Herzfrequenz wurde durch atriale Schrittmacher bei 375 Schlägen/min konstant gehalten. Die stimulierende elektrische Spannung wurde bei 20 % oberhalb der Schwelle aufrechterhalten (Kontrolle 2-4V) und durch das Experiment hindurch kontinuierlich angeglichen (bei Bedarf bis zu 12 V in reperfundierten Herzen). Nach Fertigstellung der experimentellen Präparation wurde das Herz in einer abgedichteten Kammer plaziert, die mit angefeuchteter, erwärmter Luft gefüllt war, um die Herztemperatur nicht unter 38 °C absinken zu lassen. Zur Erwärmung des Herzens verwendeten wir eine Rotlichtlampe. Die Temperatur wurde mit einer in das Myokard eingebrachten Sonde gemessen. (Fa. Freisinger) Während der Hypoxie wurden die Kammer mit isotonischer Kochsalzlösung gefüllt, um die Herztemperatur bei 38°C konstant zu halten, und mit Stickstoff begast, um eine Sauerstoffversorgung des ischämischen Myokards mittels Diffusion zu verhindern.

Hämodynamische Messungen

Zur Messung des linksventrikulären, entwickelten Drucks (LVED) wurde ein Latexballon (Größe Nr.5, Hugo Sachs Elektronik, März, Deutschland) per Schnitt im linken Vorhof durch die Mitralklappe in den linken Ventrikel eingeführt. Der Ballon wurde an der Spitze einer Stahlkanüle (Länge 5,9cm) fixiert, die mit einem Druckaufnehmer (Gould P23, Cleveland, OH, USA) direkt verbunden war. Zu Beginn eines jeden Experimentes wurde der Latexballon, Luftblasen-frei, mit Krebs-Henseleit-Lösung gefüllt. Sein Volumen wurde ab dann konstant gehalten, so dass ein Druck von 9 mmHg resultierte. Dieser Druck war der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDD) bis zum Beginn der Reperfusion. Linksventrikulärer Druck und Geschwindigkeit der Veränderung des linksventrikulären Drucks (dP/dt) wurden auf einem Mehrkanaltintenschreiber kontinuierlich aufgezeichnet (Gould, March, 260, Cleveland, OH, USA). Der Koronarfluß (KF) wurde unter Verwendung einer Ultraschall-Flußsonde (In-Line-Flußsonde 2N, Transsonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) gemessen, die innerhalb des Perfusionssystems in der Nähe der aortalen Kanüle plziert war. Die Signale des linksventrikulären Druckes und der Koronarperfusion wurden bei einer Rate von 200 Hz unter Verwendung eines Analog-Digital-Konverters (Data Translation 2801, Marlboro, MA, USA) digitalisiert und wurden dann auf einem Personalcomputersystem weiterverarbeitet. Das Ende der linksventrikulären Diastole wurde als der Punkt determiniert, an dem der linksventrikuläre dP/dt nach Überschreiten der Nulllinie seinen schnellen Aufstrich begann. Das Ende der linksventrikulären Systole wurde als der Punkt des minimalen dP/dt definiert. Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDD), entwickelter Druck (LVED), maximales und minimales dP/dt (dP/dt max und dP/dt min) wurden aus den digitalisierten Signalen ermittelt. In dieser Studie wurden nur Herzen mit einem LVED, der mehr als 70 mm Hg während der initialen Kontrollphase betrug, verwendet.

Metabolische Messungen

Wir sammelten zu festgelegten Zeiten Anteile des Perfusionsmediums und des venösen koronaren Ausflusses, um den myokardialen Sauerstoffverbrauch zu bestimmen. Die Proben wurden umgehend zu P_{O_2} Messungen (ABL 30, Radiometer, Copenhagen, Denmark) weiterverwendet. Der Sauerstoffverbrauch (V_{O_2}) wurde bei $38^{\circ}C$ entsprechend dem Fick'schen Prinzip, unter Verwendung des Bunsen-Löslichkeitskoeffizienten ($a=0.036$ ml/mmHg), berechnet.

$$V_{O_2} (\mu\text{l}/\text{min}) = (P_{aO_2} - P_{vO_2}) \cdot a \cdot \text{KF}$$

mit:

P_{aO_2} = arterieller P_{O_2} (kPa)

P_{vO_2} = venöser P_{O_2} (kPa)

KF= Koronarfluß (ml/min)

Am Ende eines jeden Experiments wurde das Herz eingefroren und in parallele, 1 mm dicke Scheiben geschnitten. Im Durchschnitt ergaben sich 7 Scheiben. Diese wurden in gepufferter, 0.75% iger Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) Lösung für einen Zeitraum von 15 min bei $37^{\circ}C$ gefärbt und danach für 24 h in 4 %iger Formaldehydlösung inkubiert, um ungeschädigtes und nekrotisches Gewebe zu identifizieren. Anschließend wurde die basale Seite jeder Herzscheibe in ein Scannergerät eingelegt und die gewonnene Abbildung in ein Computerprogramm projiziert und gespeichert (Studio Scan Iisi, AGFA, Leverkusen, Deutschland). Das ungeschädigte Myokard konnte, mittels TTC, als rot gefärbtes Areal erkannt werden, während das nekrotische Gewebe blaß grau erschien. Die Größe des linken Ventrikels, des Risikogebietes und des infarzierten Gewebes wurde mit Hilfe EDV-unterstützter Planimetrie (Sigma Scan Pro 5 computer software, SPSS, Science Software Chicago, IL, USA) bestimmt. Nach dem Trocknen (24 h im Wärmeschrank bei $45^{\circ}C$) wurden alle Scheiben gewogen, um die Trockengewichte zu bestimmen. Die durch Planimetrie bestimmten Flächen wurden dann im entsprechenden Verhältnis zum Trockengewicht der jeweiligen Scheibe errechnet und die Infarktgröße ermittelt.

Versuchsprotokoll

Die Abbildung 1 zeigt das Protokoll des Experimentes. Es wurden 10 verschiedene Gruppen untersucht. Die Perfusion der Herzen wurde in allen Gruppen mit Krebs-Henseleit-Lösung begonnen. Nachdem sich die hämodynamischen Meßwerte nach Ende der chirurgischen Präparation stabilisiert hatten, führten wir nach 10 min die Basismessung zur Festlegung der Ausgangswerte durch. Im Anschluß daran wurden die Herzen für 10 min der Perfusion mit einem sich zum Teil unterscheidenden, zweiten Perfusat unterzogen. In einigen Gruppen bestand das zweite Perfusat aus einer modifizierten Pufferlösung. Es folgte für 10 min eine erneute Perfusion mit Krebs-Henseleit-Lösung. Alle Herzen unterliefen danach eine 30 minütige Hypoxie, die gefolgt wurde von 60 min Reperfusion, erneut mit Krebs-Henseleit-Lösung. Die in der Studie verwendeten Perfusate sind in Tabelle 1 aufgeführt. In der ersten Versuchsreihe wurden sieben verschiedene Gruppen untersucht. In der Kontrollgruppe (KON, n=9) enthielt das zweite Perfusat Krebs-Henseleit-Lösung. Die Herzen in der 5HD-Gruppe (5HD, n=10) erhielten ebenfalls Krebs-Henseleit-Lösung vor der Koronarokklusion. Zusätzlich applizierten wir zu der Pufferlösung 5HD in einer Konzentration von 100 µmol/l . 5HD ist ein spezifischer Blocker mitochondrialer K_{ATP} -Kanäle. Wir fügten ihn hinzu, um die Beteiligung dieser Kanäle zu untersuchen. Die Herzen in drei weiteren Gruppen wurden mit einem zweiten Perfusat, mit reduzierter Glukosekonzentration, behandelt. In der Gluk0-Gruppe (n=9) enthielt dieses Perfusat eine Glukosekonzentration von 0 mg/dl. In der Gluk40-Gruppe (Gluk40, n=9) 40 mg/dl und in der Gluk80-Gruppe (Gluk80, n=9) 80 mg/dl. In diesen Gruppen wurde der osmotische Druck des zweiten Perfusats durch Zusatz einer entsprechenden Menge Harnstoff konstant gehalten (Tabelle 1). Den Herzen in der Gluk0+5HD-Gruppe wurde zu dem zweiten präkonditionierenden Perfusat mit einer Glukosekonzentration von 0 mg/dl zusätzlich der mitochondriale K_{ATP} -Kanal-Blocker 5HD (n=10) appliziert, um die Beteiligung dieser Kanäle auch hier zu überprüfen. Um eine mögliche Auswirkung des Harnstoffzusatzes allein zu untersuchen, enthielt in einer letzten Gruppe (Urea, n=9) das zweite Perfusat der Krebs-Henseleit-Lösung einen Zusatz von 0.05 g/l Harnstoff (8.325 mmol/l).

Dadurch resultierte in dieser Gruppe im Vergleich zu den anderen Gruppen eine erhöhte Osmolarität. In einer zusätzlichen Versuchsreihe untersuchten wir drei weitere Gruppen (Abbildung 1, 2.Versuchsreihe). In einer erneuten Kontrollgruppe (KON, n=7) enthielt das zweite Perfusat vor der 30 minütigen Hypoxie Krebs-Henseleit-Lösung. Im Vergleich mit dieser Kontrollgruppe wurden zwei weitere Gruppen mit einer zweiten, modifizierten Pufferlösung, die reduzierte Glukosekonzentrationen enthielt, für 10 min behandelt. Den durch die Abstufung der Glukosekonzentration entstandenden Osmolaritätsverlust korrigierten wir hier nicht, wie in den Gruppen zuvor (Gluk0, Gluk40,Gluk80), mit Urea, sondern mit einem weiteren Zucker, 2-Deoxyglukose, um die Rolle eines anderen Zuckers in der Präkonditionierung zu testen (Tabelle 1). In der Gluk0-2-Deoxy-Gruppe (n=5) enthielt das präkonditionierende Perfusat 0 mg/dl Glukose, in der Gluk40-2-Deoxy-Gruppe (n=6) 40 mg/dl (Abbildung 1).

Datenanalyse und Statistik

Alle Daten sind ausgedrückt als Mittelwert und Standardabweichung (SD). Statistische Vergleiche (SPSS, SPSS Inc., USA) wurden durchgeführt unter Verwendung des Student`s t-Test, gefolgt von Bonferronis Korrektur für multiple Vergleiche. Unterschiede im p- Wert von weniger als 0.05 wurden als signifikant betrachtet.

Abbildung 1 Versuchsprotokoll

1. Kontrolle

20'	30'	60'
-----	-----	-----

2. Gluk0

10'	10'	30'	60'
-----	-----	-----	-----

3. Gluk0+5HD

10'	10'	30'	60'
-----	-----	-----	-----

4. Gluk40, Gluk80

10'	10'	30'	60'
-----	-----	-----	-----

5. 5HD

5HD	10'	30'	60'
-----	-----	-----	-----

6. Urea

Urea	10'	30'	60'
------	-----	-----	-----

- Glukosefreie Perfusion
 - Hypoxie
 - Perfusion mit Krebs-Henseleit-Lösung
 - Perfusion mit reduzierten Glukosekonzentrationen
- Die Gluk0, Gluk40 und Gluk80 Gruppen wurden durch 10 minütige Perfusion eines entsprechenden 0, 40 oder 80 mg/dl enthaltenden Perfusats präkonditioniert. Die Gluk0+5HD Gruppe wurde durch eine kurze glukosefreie Perfusion präkonditioniert und zusätzlich mit dem mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanalblocker 5HD behandelt. Die Ureagruppe wurde der Hypoxie vorangehend, 10 min mit zusätzlich zugefügtem 8.33 mmol/l Urea perfundiert.

Abbildung 1 (Fortsetzung)

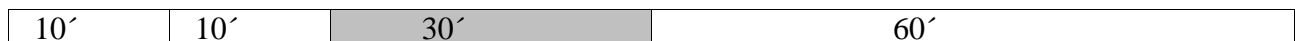
Versuchsprotokoll

2. Versuchsreihe

1. Kontrolle



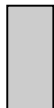
2. Gluk0-2-Deoxy



3. Gluk40-2-Deoxy



Glukosefreie Perfusion



Hypoxie



Perfusion mit Krebs-Henseleit-Lösung



Perfusion mit reduzierten Glukosekonzentrationen

In der zweiten Versuchsreihe untersuchten wir zwei weitere Gruppen im Vergleich mit einer erneuten Kontrollgruppe. In der 2-Deoxygruppe wurde der Osmolaritätsverlust bei reduzierten Glukosekonzentrationen durch Zusatz von 2-Deoxyglukose korrigiert.

ERGEBNISSE

Hämodynamik

Unter Basisbedingungen waren die hämodynamischen Variablen in allen Gruppen ungefähr gleich groß (Abbildung 2). Weder die Verwendung von Perfusaten mit verschiedenen Glukosekonzentrationen, mit 5-HD, noch mit Harnstoff führten zu Unterschieden zwischen den Gruppen vor der Hypoxie oder während der Reperfusionphase. Abbildung 2 zeigt den linksventrikulär entwickelten Druck LVED (oben), den Koronarfluß (Mitte) und den myokardialen Sauerstoffverbrauch (unten). Der LVED betrug im Anschluß an die stabilisierende Phase 100 ± 16 mmHg und 85 ± 24 mmHg unmittelbar vor der Hypoxie. Der LVED zeigte nur eine schwache Erholung auf Werte von 9 ± 3 % nach 60 min Reperfusion bezogen auf die präischämischen Werte. In allen Gruppen beobachteten wir ein ähnliches Ansteigen des LVEDD während der Hypoxie auf Werte von 82 ± 21 mmHg. Das Ansteigen des LVEDD ist ein Indikator für eine myokardiale Kontraktur und wird bezeichnet als hypoxische Kontraktur. Der mittlere Zeitraum, der nötig war zum Erreichen der maximalen hypoxischen Kontraktur betrug 17 ± 2 min, war jedoch leicht verlängert in der Gluk40 Gruppe (19 ± 2 vs. 16 ± 2 in der Kontrollgruppe, Tabelle 2). Koronarfluß und myokardialer Sauerstoffverbrauch betragen 16.8 ± 4.0 ml/min und 254 ± 65 μ l/min während der Basismessung und 14.2 ± 4.5 ml/min und 212 ± 62 μ l/min unmittelbar vor der Null-Fluß Ischämie. Nach 60 min Reperfusion erreichten Koronarfluß und myokardialer Sauerstoffverbrauch 46 ± 28 % und 41 ± 18 % der prähypoxischen Werte.

Abbildung 2

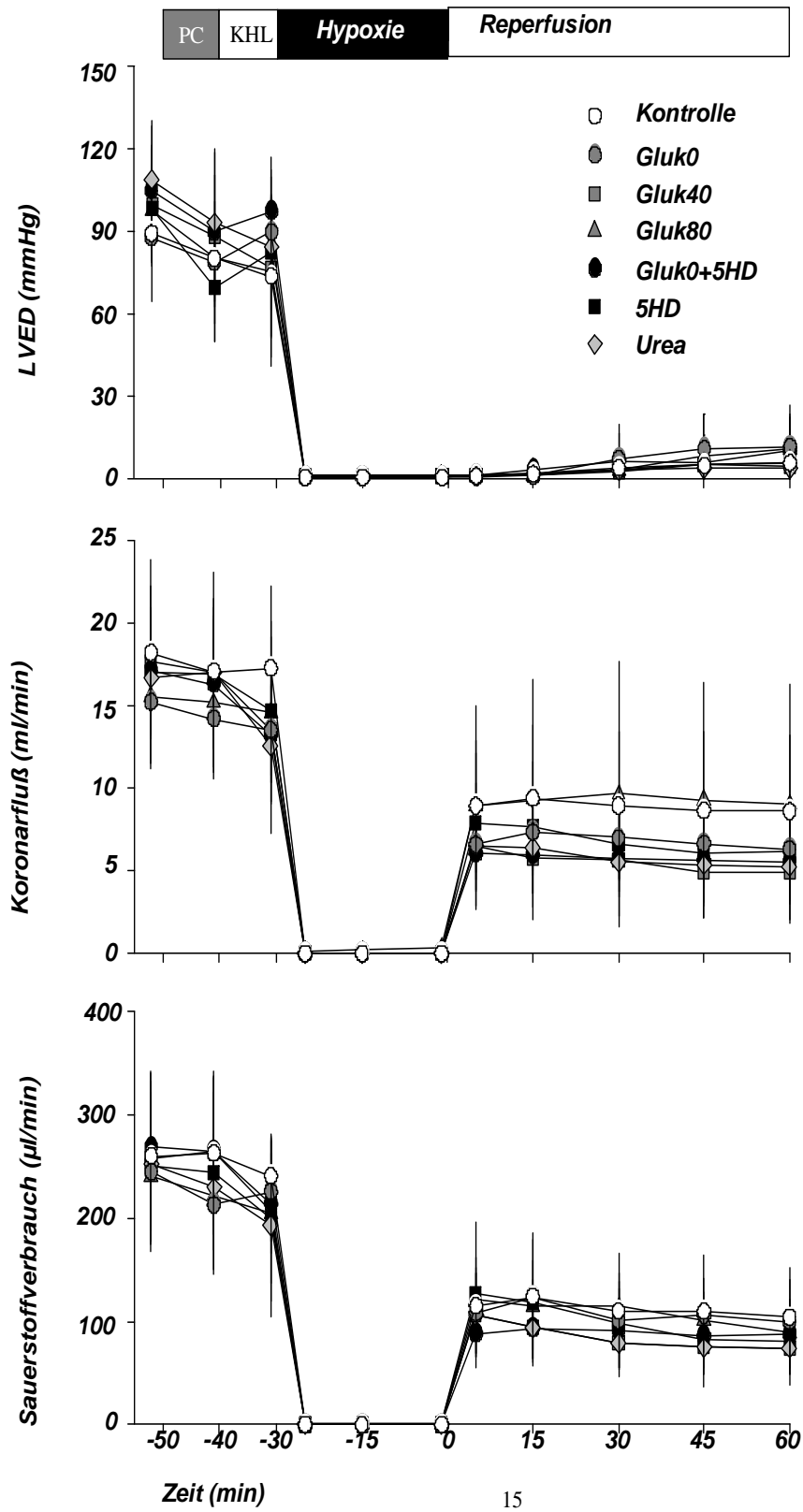


Abbildung 2, Hämodynamische Variablen

Diese Abbildung zeigt die hämodynamischen Variablen: linksventrikulär entwickelter Druck (LVED), Koronarfluß und myokardialer Sauerstoffverbrauch im Verlauf des Experimentes. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen.

Trockengewicht und ischämische Kontraktur

Das Trockengewicht der Herzen betrug 0.16 ± 0.02 g und unterschied sich nicht zwischen den Gruppen (Tabelle2).

Tabelle 2 Trockengewicht der Herzen, maximale ischämische Kontraktur, und Zeit bis zur maximalen ischämischen Kontraktur. * $p < 0.05$ vs Kontrolle

	Trockengewicht der Herzen (g)	Maximaler enddias- tolischer Druck während der Kontrak- turphase (mm Hg)	Zeit bis Erreichen maximalen oxischen traktur (min)
Kontrolle	0.16 ± 0.01	84 ± 11	16 ± 2
Gluk0	0.16 ± 0.02	80 ± 17	17 ± 2
Gluk40	0.17 ± 0.03	85 ± 23	$19 \pm 2^*$
Gluk80	0.15 ± 0.02	92 ± 26	18 ± 2
Gluk0+5HD	0.17 ± 0.02	78 ± 17	16 ± 1
5HD	0.15 ± 0.04	81 ± 35	18 ± 2
Kontroll-Deoxy	0.16 ± 0.03	79 ± 12	18 ± 2
Gluk0+2-Deoxy	0.16 ± 0.04	80 ± 10	19 ± 3
Gluk40+2-Deoxy	0.17 ± 0.03	81 ± 11	18 ± 4

Infarktgröße

Die Abbildungen 3 und 4 zeigen die Infarktgrößen in % des Herzens (rechter und linker Ventrikel, ausgenommen rechter und linker Vorhof). Dreißig Minuten Null-Fluß Hypoxie in der Kontrollgruppe (Glukosekonzentration im Perfusat: 100 mg/dl) führte zu einer Infarktgröße von 41 ± 10 %. Weder die kurzzeitige prähypoxische Perfusion einer hyperosmolaren Harnstofflösung (Krebs-Henseleit-Lösung + 0,05g Urea), noch die Vorbehandlung mit 5HD reduzierte die Infarktgröße (Urea, 37 ± 8 %; 5HD, 38 ± 13 %; jeweils $p = 1.0$ vs. Kontrollgruppe).

Zehn Minuten prähypoxischer glukosefreier Perfusion, gefolgt von 10 min glukosehaltiger Perfusion, führten hingegen zu einer Reduktion der Infarktgröße auf 23 ± 12 % (Gluk0, $p = 0.02$ vs. Kontrollgruppe). Dieser präkonditionierende Effekt glukosefreier Perfusion wurde durch die simultane Infundierung des mitochondrialen K_{ATP} -Kanallockers 5HD (Gluk0 + 5HD, 38 ± 9 %, $p = 0.047$ vs. Gluk0) geblockt. Ebenso führte die prähypoxische Perfusion einer Lösung, die moderat niedrige Glukosekonzentration von 40 mg/dl enthielt, zu einer Reduktion der Infarktgröße (Gluk40, 26 ± 8 %, $p = 0.01$ vs. Kontrollgruppe). Sowohl glukosefreie Perfusion (0 mg/dl) als auch die Perfusion mit reduzierter Glukosekonzentration (40 mg/dl), führten zu einem präkonditionierendem Schutz von Myokardzellen bei prolongierter Hypoxie. Wir konnten jedoch keine Reduktion der Infarktgröße bei einer Glukosekonzentration von 80 mg/dl feststellen.

Abbildung 3

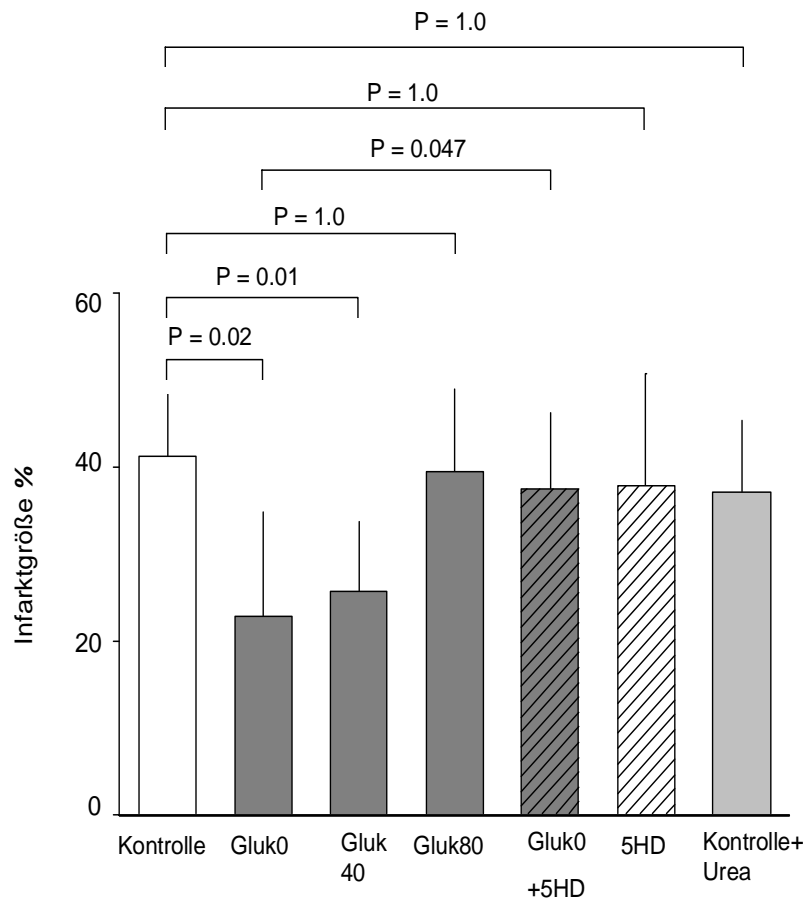


Abbildung 3, *Infarktgröße*. Die der Hypoxie/Reperfusion vorausgehende kurzzeitige Perfusion mit glukosefreier und 40 mg/dl glukosehaltiger Lösung führte zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße. Dieser präkonditionierende Effekt wurde durch den mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanalblocker 5HD geblockt. Die Glukosekonzentration von 80 mg/dl, der Zusatz von Harnstoff zu dem Perfusat sowie die Behandlung mit 5 HD alleine, reduzierte die Infarktgröße nicht.

In zusätzlichen Gruppen verwendeten wir anstelle von Urea 2- Deoxyglukose zur Korrektur der Osmolaritätsverluste bei modifizierten Glukosekonzentrationen. In der Kontrollgruppe (Deoxy) betrug die Infarktgröße 46 ± 8 %. Der Ersatz von Glukose durch 2-Deoxyglukose in dem präkonditionierenden Perfusat (Gluk-Deoxy) reduzierte die Infarktgröße auf 23 ± 8 % ($p = 0.003$ vs. Kontroll-Deoxy). Die prähypoxische Perfusion mit 40 mg/dl Glukose in Kombination mit 2-Deoxyglukose als ersetzendes Substrat, reduzierte die Infarktgröße in einem ähnlichen Umfang (Gluk40-Deoxy, $25\pm 3\%$, $p = 0,0004$ vs. Kontroll-Deoxy). Wir konnten damit demonstrieren, dass 2- Deoxyglukose die Präkonditionierung durch niedrige Glukosekonzentrationen nicht verhinderte. Das Phänomen der Präkonditionierung war lediglich abhängig von der Glukosekonzentration im Perfusat (Tabelle1). Wir konnten ebenfalls mit unserer Studie ausschließen, daß der präkonditionierende Effekt metabolischer Präkonditionierung abhängig ist oder beeinflußt wird von der Osmolarität der Perfusionslösung. Wir korrigierten den Osmolaritätsverlust bei absteigenden Glukosekonzentrationen durch Addition von Urea, beziehungsweise 2-Deoxyglukose. Eine Gruppe wurde mit einem hyperosmolaren Perfusat behandelt. Es zeigten sich weder bei Perfusion mit normoglykämischen Pufferlösungen, noch bei hyperosmolarer Lösung (Krebs-Henseleit+0,05g/l Urea), Veränderungen der Infarktgröße.(Abb. 3+4)

Abbildung 4

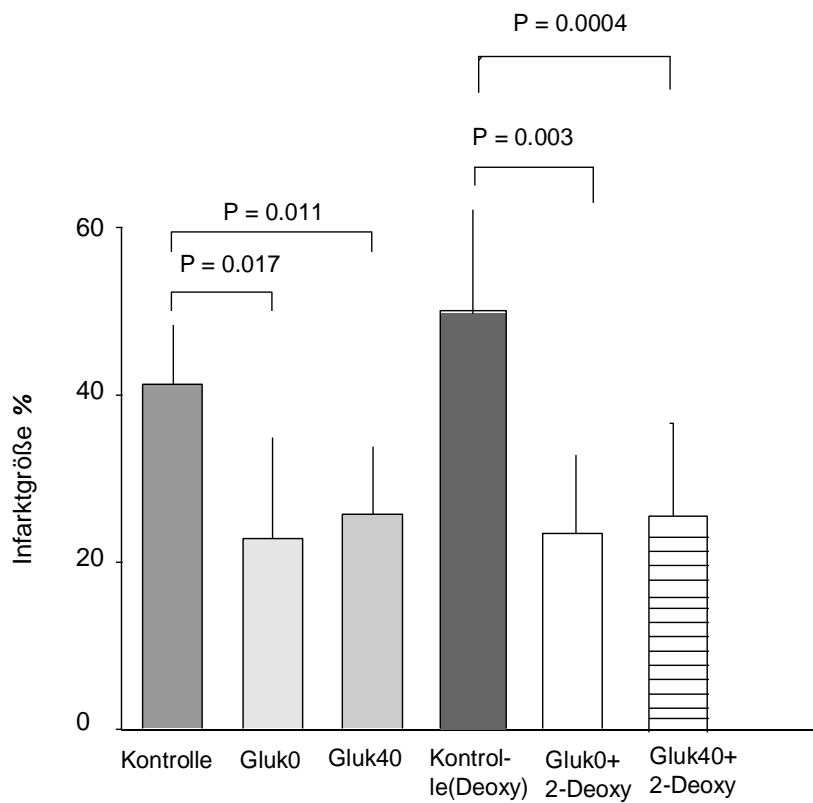


Abbildung 4, Infarktgröße.

Eine kurzzeitige Perfusion mit glukosefreier und 40 mg/dl enthaltender Lösung führt zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße. Der Einsatz von 2-Deoxyglukose zeigt keine Auswirkung auf die Größe des Myokardinfarkts. Die Präkonditionierung war lediglich von der Glukosekonzentration abhängig.

Tabelle 1 In der Studie verwendete Perfusate. Das zweite Perfusat wurde verwendet für 10 min, beginnend 20 min vor der Ischämiephase.

Krebs-Henseleit-Lösung (mmol/l)

NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9, CaCl ₂ 2.52, Glukose 8.33 Pyruvat 2.0
--

Zweites (präkonditionierendes) Perfusat (mmol/l)

Kontrolle	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Glukose 8.33
Gluk0	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Urea 8.33
Gluk40	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Glukose 2.22, Urea 6.11
Gluk80	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Glukose 4.44, Urea 3.89
Gluk0 + 5HD	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Urea 8.33
5HD	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Glukose 8.33
Urea	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Glukose 8.33, Urea 8.33
Kontrolle (Deoxy)	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Glukose 8.33
Gluk0-Deoxy	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Deoxyglukose 8.33
Gluk40-Deoxy	NaCl 116, KCl 4.7, MgSO ₄ 1.1, KH ₂ PO ₄ 1.17, NaHCO ₃ 24.9 CaCl ₂ 2.52, Pyruvat 2.0, Glukose 2.22, Deoxyglukose 6.11

DISKUSSION

Das wichtigste Ergebnis dieser Studie ist, dass ein Glukoseentzug ab einer Konzentration von 40 mg/dl das Myokard im isolierten pufferperfundiertem Rattenherz präkonditioniert. Wir demonstrierten die Beteiligung mitochondrialer K_{ATP} -Kanäle bei der Präkonditionierung gegen tödliche Zellverletzung durch glukosefreie Perfusion.

Neue Versuche haben gezeigt, dass beim Vorliegen einer Hyperglykämie das Phänomen der ischämischen Präkonditionierung nicht zu beobachten ist. (10,19) Schon in früheren Studien wurde beobachtet, dass Glukose bei der ischämischen Präkonditionierung und der Ausbildung eines Myokardinfarkts eine wichtige Rolle einnimmt. So ist eine Hyperglykämie, sowohl bei vorhandenem als auch bei nicht vorhandenem Diabetes mellitus, assoziiert mit einer erhöhten Mortalität bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt. (6,18,24,26) In anderen Studien wurde gezeigt, dass Glukosekonzentrationen von mehr als 300 mg/dl die ischämische Präkonditionierung bei Hunden in vivo, unabhängig von Hyperosmolarität und Insulinkonzentration, blockieren. (19,20) Andererseits besteht jedoch die Annahme, dass eine Glukose-Insulin-Infusion eine wichtige Rolle einnimmt in der Reduktion der hospitalen Letalität bei akutem Myokardinfarkt. (12) Die Aussagen über die Funktion und Auswirkung von Glukose im Rahmen des myokardialen Infarkts sind also widersprüchlich. Ganz offenbar kann Glukose aber den Wirkungsmechanismus, der zum protektiven Effekt der ischämischen Präkonditionierung führt, beeinflussen. (16,17) Vor diesem Hintergrund stellten wir uns die Frage, ob das Fehlen von Glukose im Perfusat eventuell selbst eine präkonditionierende Wirkung hat. Unsere Befunde zeigen, dass die Verwendung einer glukosefreien Perfusionslösung für nur 10 min die letalen Folgen einer nachfolgenden Ischämie von 30 min erheblich reduzieren kann. In unserem Modell verringerte sich die Infarktgröße von 40% auf 20% des Risikogebiets. Diese Halbierung entspricht dem protektiven Effekt, den auch eine ischämische Präkonditionie-

rung besitzt. Ähnliche Ergebnisse wurden sowohl bei glukosefreier Perfusion in isolierten Kardiomyozyten (1,2) als auch in isolierten Herzen (5,14,23) in anderen Studien an Kaninchenherzen gezeigt. Die ischämische Präkonditionierung wird über eine Kaskade von Einzelschritten ausgelöst, von denen einer die Aktivierung ATP-abhängiger K-Kanäle ist. (5,15) Deshalb läßt sich die ischämische Präkonditionierung durch 5HD, einem Blocker mitochondrialer K_{ATP} -Kanäle, vollständig aufheben. Unsere Ergebnisse zeigen, dass der protektive Effekt der glukosefreien Perfusion ebenfalls durch 5HD blockiert werden kann. Das zeigt, dass auch in diesem Fall die Aktivierung von mitochondrialen Kaliumkanälen notwendig ist. Diese Erkenntnis bestätigen die Ergebnisse von Awan und Kollegen, die die Öffnung dieser K_{ATP} -Kanäle als wesentliche Beteiligung an der ischämischen wie auch an der metabolischen Präkonditionierung sehen. (1,2,5) Dies widerlegt eine frühere These, nach welcher die Abnahme der Infarktgröße bei reduzierten Glukosekonzentrationen lediglich durch einen Energiemangel im Myokard hervorgerufen wird, und dass es nicht zu einer Aktivierung der Signaltransduktionskaskade kommt, die bei der Präkonditionierung zu erwarten ist. Wir konnten in dieser Studie erstmals zeigen, dass nicht nur ein kompletter Glukoseentzug, sondern auch ein reduzierter Glukosegehalt von 40 mg/dl im Perfusat das Myokard gegen die Auswirkungen einer 30 minütigen Hypoxie schützen kann. Erst bei einer Glukosekonzentration von 80 mg/dl war das Auftreten dieses Phänomens nicht mehr zu beobachten. Hier entsprach die Infarktgröße der in der Kontrollgruppe. Die Reduktion der Infarktgröße bei 0 sowie 40 mg/dl Glukose im Perfusat war vergleichbar. Es zeigte sich keine Abstufung in der Infarktgröße.

Allerdings führt der Entzug von Glukose in den Perfusionslösungen zu einer Änderung der Osmolarität. Alle vorherigen Studien, die die Präkonditionierung durch Glukoseentzug untersuchten, beschränkten sich darauf, dem Perfusat Glukose zu entziehen, was nicht nur zu einer Änderung des Glukosegehalts führte, sondern auch zu einer Änderung der Osmolarität in den Perfusionslösungen. Wir konnten mit unserer Studie ausschließen, dass der präkonditionierende Effekt metabolischer Präkonditionierung zurückzuführen ist oder beeinflusst wird durch eine Veränderung der Osmolarität in den Perfusionslösungen mit reduziertem Glukosegehalt, da wir den osmotischen Druck konstant hielten durch die Addition von Harnstoff zu den Perfusaten mit erniedrigten Glukosekonzentrationen.

Wir verwendeten Urea zur Osmolaritätskorrektur, da davon auszugehen ist, dass Harnstoff für das Myokard weitgehend stoffwechselneutral ist. Wurde der osmotische Druck des Perfusats durch Zugabe von Urea zu der Kontrollgruppe erhöht, war die Infarktgröße ähnlich wie bei den Kontrollherzen, d.h. Hyperosmolarität beeinflusste die Infarktgröße nicht. In weiteren Versuchen wurde die fehlende Glukose im Perfusat durch 2-Deoxyglukose ersetzt, um den osmotischen Druck konstant zu halten. Es änderte sich dadurch nichts an den Ergebnissen der Infarktgröße. Auch 2-Deoxyglukose ist, obwohl sie teilweise über den Stoffwechselweg der Glykolyse metabolisiert wird, ähnlich wie Urea, für das Herz aller Wahrscheinlichkeit nach nicht zur Energieverwertung zu verwenden. (31) 2-Deoxyglukose konnte in unserer Studie den Effekt der metabolischen Präkonditionierung durch Glukoseentzug nicht ausschalten. Damit scheint metabolische Präkonditionierung von dem Entzug des spezifischen Moleküls Glukose abhängig zu sein. Andere Zuckerarten können sie offenbar nicht aufheben. Ob die Funktion von Glukose im Metabolismus oder ein anderer spezifischer, bislang unbekannter Effekt, darauf Hinweise gibt, kann nicht beantwortet werden.

Eine mögliche Ursache für das beobachtete Phänomen könnte als Folge der vorausgegangenen glukosefreien Perfusion, der herabgesetzte intrazelluläre Glukosegehalt sein. Diese Erklärung ist wenig wahrscheinlich, denn in den 10 min, die der glukosefreien Perfusion folgen und in denen mit 100 mg/dl Glukose perfundiert wurde, würde die fehlende intrazelluläre Glukose wieder angestiegen sein. Außerdem hätten wir einen Abfall des LVED und des dp/dt max sehen müssen. Dies war aber nicht der Fall.

Der Infarktschaden, der bei unserem Versuchsablauf eintritt, setzt sich zusammen aus dem Schaden, der durch die Ischämie selbst entsteht und dem, den die Reperfusion zusätzlich herbeiführt. Denn mit der Reoxygenierung entstehen in den Myokardzellen, die im Zellverband liegen, rasch sehr starke Kontraktionen, die die Zellstruktur zerstören können. (7)

Die Wiedereröffnung eines zuvor verschlossenen Herzkranzgefäßes, ein an sich wegen der damit einhergehenden Wiederherstellung der Sauerstoff- und Nähr-

stoffversorgung der Herzmuskelzellen erwünschter Vorgang, kann weitere Schädigungsmechanismen aktivieren (Reperfusionsschaden) und dadurch das Ausmaß eines Infarkts erhöhen. Die Zellen werden dabei vor allem durch den exzessiven Anstieg der zytosolischen Calciumkonzentration geschädigt, was die Nekrotisierung von Muskel- und Endothelzellen beschleunigt und zur Ausbildung von Kontrakturen führen kann.(32) Sichtbar ist dieser Vorgang am Ansteigen des diastolischen Drucks in unserem Modell. (Tabelle 2) Die Zeit bis zum Erreichen des Maximums schwankte kaum und zeigte eine nur geringe Zunahme, wenn die Glukosekonzentration 40 mg/dl betrug.

Cross und andere vermuteten, dass die ischämische und auch die metabolische Präkonditionierung hervorgerufen würde durch eine Erschöpfung des Glykogenspeichers, die durch die präkonditionierende Ischämie verursacht wird.(8) Es ist möglich, dass in unserer Studie die glukosefreie Perfusion eine Glykogenabnahme verursacht hat, jedoch finden sich für diese These keine stichhaltigen Hinweise, zumal die Funktion des Herzens unverändert war. (Abbildung 2)

Obwohl das Herz in der Lage ist verschiedene Stoffe zur Energieverwertung zu verwenden, scheint der Metabolisierung von Glukose ein besonderer Stellenwert zuzukommen. Nach einige Studien spielt die Glukoseverbrennung eine wichtige Rolle, wenn das Sauerstoffangebot im hypertrophen und chronisch minderperfundierten Herzen reduziert ist. (25,34) Es kommt zu einer reduzierten Verstoffwechslung von Fetten und zu einer vermehrten Aufnahme von Glukose im Myokard, was assoziiert ist mit einer vermehrten Expression des Insulin-unabhängigen Glukosetransporters GLUT 1. Diese Umstellung im Metabolismus führt zu einer Adaption gegenüber einer ischämischen Schädigung des Herzens und verbessert die kardiale Funktion. Wodurch die erhöhte Glukoseverwertung im Myokard bewirkt wird, ist bislang jedoch wenig bekannt. (25,34) Denkbar wäre, dass es im isolierten Rattenherz zu einer Veränderung des Stoffwechsels kommt und das Herz auf Glukose angewiesen ist.

Im Vergleich zu vorausgegangenen Studien konnten wir bei unseren Gruppen keine bessere Erholung der Funktion während der Reperfusion, korrespondierend mit der Reduktion der Infarktgröße zeigen (Abbildung 2), wie wir sie früher beobachteten. (9,11) Der mangelnde Schutz durch Glukoseentzug gegenüber dem Auftreten eines myokardialen Stunning, einer Verminderung der kontraktile Funktion des Herzens, die über mehrere Stunden bestehen kann, bei einer akuten regionalen Ischämie, könnte eine Ursache für die geringe Erholung der Funktion in der Reperfusion sein. Diese Erklärung steht jedoch im Gegensatz zu den Aussagen von Awan und Kollegen. Sie zeigten, dass Glukoseentzug die post-ischämische mechanische Erholung in isolierten Rattenherzen steigerte. (5)

Zusammenfassend stellen unsere Ergebnisse die Bedeutung der Glukosekonzentrationen als einen beeinflussenden Faktor der Präkonditionierung heraus. Wir zeigten, dass eine kurzzeitige Reduktion der Glukosekonzentration bis 40 mg/dl das Myokard gegen einen Infarkt präkonditioniert. Dies lässt sich am ehesten erklären, wenn man annimmt, dass der Glukosemangel im Perfusat den gleichen Vorgang auslöst wie eine ischämische Präkonditionierung. Zumindestens könnten beide Ereignisse eine gemeinsame Endstrecke haben. Dafür spricht, dass sich beide durch 5HD blockieren lassen.(15)

LITERATURVERZEICHNIS

3. Armstrong, S., Downey, J.M., and Ganote, C.E. (1994)
Preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: induction by metabolic stress and blockade by the adenosine antagonist SPT and calphostin C, a protein kinase C inhibitor. *Cardiovasc Res* 28: 72-77

4. Armstrong, S. and Ganote, C.E. (1994)
Adenosine receptor specificity in preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: evidence of A3 receptor involvement.
Cardiovasc Res 28: 1049-1056

5. Armstrong, S. and Ganote, C.E. (1994)
Preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: effects of glycolytic blockade, phorbol esters, and ischemia.
Cardiovasc Res 28: 1700-1706

6. Arstall, M.A., Zhao, Y.Z., Hornberger, L., Kennedy, S.P., Buchholz, R.A., Osathanondh, R., Kelly, R.A. (1998) Human ventricular myocytes in vitro exhibit both early and delayed preconditioning responses to simulated ischemia
J Mol Cell Cardiol. 30(5):1019-25

5. Awan, M.M., Makaula, S., Forresti, S., Sack, M.N., and Opie, L.H. (2000)
Mechanisms whereby glucose deprivation triggers metabolic preconditioning in the isolated rat heart.
Mol Cell Biochem 211: 111-121

6. Bellodi, G., Manicardi, V., Malavasi, V., Veneri, L., Bernini, G., Bossini, P., Distefano, S., Magnanini, G., Muratori, L., Rossi, G., and Zuarini, A. (1989)
Hyperglycemia and prognosis of acute myocardial infarction in patients without diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 64: 885-888

7. Cohen,M.V., Yang,M.X., Downey,J.M. (1999) Smaller infarct after preconditioning does not predict extent of early functional improvement of reperfused heart.
Am J Physiol. 277: 1754-1761
8. Cross,H.R., Opie,L.H., Radda,G.K., and Clarke,K. (1996)
Is a high glycogen content beneficial or detrimental to the ischemic rat heart? A controversy resolved. *Circ Res* 78: 482-491
9. Ebel,D., Lipfert,P., Fräßdorf,J., Preckel,B., Müllenheim,J., Thämer,V.,and Schlack,W.(2001) Lidocaine reduces ischaemic but not reperfusion injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 86: 846-852
- 10 .Ebel,D., Müllenheim,J., Fräßdorf,J., Heinen,A., Huhn,R., Bohlen,T., Ferrari,J., Südkamp,H., Preckel,B., Schlack,W.,and Thämer,V.(2003)
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 Arch Eur J Physiol* 446: 175-182
11. Ebel,D., Preckel,B., You,A., Müllenheim,J., Schlack,W., and Thämer,V.(2002)
Cardioprotection by sevoflurane against reperfusion injury after cardioplegic arrest in the rat is independent of three types of cardioplegia.
Br J Anaesth 88: 828-835
12. Fath-Ordoubadi,F. and Beatt,K.J. (1997) Glucose-insulin-potassium therapy for treatment of acute myocardial infarction- An overview of randomized placebo-controlled trials.*Circulation* 96: 1152-1156
13. Ferdinandy,P., Szilvassy,Z., Koltai,M., and Dux,L.(1995) Ventricular overdrive pacing-induced preconditioning and no-flow ischemia induced preconditioning in isolated working rat hearts.
J Cardiovasc Pharmacoll 25: 97-104

14. Goto,M.,Tsuchida,A., Liu,Y., Cohen,M.V., and Downey,J.M. (1995)
Transient inhibition of glucose uptake mimics ischemic preconditioning
by salvaging ischemic myocardium in the rabbit heart.
J Mol Cell Cardiol 27: 1883-1894
15. Gross,G.J. and Peart,J.N. (2003) KATP channels and myocardial
preconditioning: an update *Am J Physiol* 285: H921-H930
16. Ishihara,M., Inoue,I., Kawagoe,T., Shimatani,Y., Kurisu,S., Nishioka,K.,
Kouno,Y., and Umemura,T.(2001) Diabetes mellitus prevents ischemic
preconditioning in patients with a first acute anterior wall myocardial
infarction. *J Am Coll Cardiol* 38: 1007-1011
17. Ishihara,M., Inoue,I., Kawagoe,T., Shimatani,Y., Kurisu,S., Nishioka,K.,
Umemura,T., Nakamura,S., and Yoshida,M. (2003) 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
18. Jelesoff,N.E., Feinglos,M., Granger,C.B., and Califf;R.M. (1996) Outcomes
of diabetic patients following acute myocardial infarction: a review of the
major thrombolytic trials. *Coron Artery Dis* 7: 732-743
19. Kersten,J.R., Schmeling,T.J., Orth,K.G., Pagel,P.S., and Warltier,D.C. (1998)
Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning in vivo.
Am J Physiol 275: H721-H725
20. Kersten,J.R., Toller,W.G., Gross,E.R., Pagel,P.S., and Warltier,D.C. (2000)
Diabetes abolishes ischemic preconditioning: role of glucose, insulin, and
osmolality. *Am J Physiol* 278: H1218-H1224
21. Kloner,R.A., Shook,T., Przyklenk,K., Davis,V.G., Junio,L ,Matthews,R.V.,
Burstein,S, Gibson,M, Poole,W.K., Cannon,C.P., Mc Cabe,C.H.,and Braunwald,E.
(1995) Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4
Circulation 91:37-45

22. Kloner,R.A., Shook,K., Przyklenk,K., Davis,V.G., Junio,L., Matthews,R.V., Burstein,S., Gibson,M., Poole,W.K., Cannon,C.P. (1995) Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. A clinical correlate to preconditioning
Circulation 15; 92(4): 1064-5
23. King,L.M., and Opie,L.H. (1996) Does preconditioning act by glycogen depletion in the isolated rat heart? *J Mol Cell Cardiol 28: 2305-2321*
24. Kuusisto,J., Mykkanen,J., Pyorala,K., and Laakso,M. (1994) NIDDM and its metabolic control predict coronary heart disease in elderly subjects.
Diabetes 43: 960-967
25. Liao R., Jain M., Cui L., D`Agostiono,J., Aiello,F., Luptak, I., Ngoy, S., Mortensen, R., Tian,R. (2002) Cardiac-specific overexpression of glut1 prevents the development of heart failure attributable to pressure overload in mice
Circulation 106: 2125-2131
26. Malmberg,K., Ryden,L.,Hamsten,A., Herlitz,J.,Waldenström,A., and Wedel,H. (1997) Mortality prediction in diabetic patients with myocardial infarction: experience from the DIGAMI study. *Cardiovasc res 34: 248-253*
27. Murry,C.E., Jennings,R.B., and Reimer,K.A. (1986) Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium.
Circulation 74:1124-1136
28. Ottani,F., Galli,M., Zerboni,S., Galvani,M. (2005) Prodromal angina limits infarct size in the setting of acute anterior myocardial infarction treated with primary percutaneous intervention
Am J Physiol. 45 (9): 1545-47
29. Rauen,H.M. (1964) Der Gehalt des Blutes an Glucose beim Menschen und bei verschiedenen Tierarten *Biochemisches Taschenbuch, 2. Teil, Springer*

30. Schlack,W.,Preckel,B.,Stunneck,D.,and Thämer,V. (1998) Effects of halothane, enflurane,isoflurane,sevoflurane, and desflurane on myocardial reperfusion injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth 81:913-919*
31. Sokoloff,L., Reivich,M., Kennedey,C., Des Rosiers,M.H., Patlak,C.S., Pettigrew,K.D., Sakurada,O., and Shinohara,M. (1977) The (14 C) Deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat *J. Neurochem 28: 897-906*
32. Siegmund,B., Schlüter,K.D., Piper,H.M. (1993) Calcium and the oxygen paradox *Cardiovasc. Res. 27 (10): 1778-83*
33. Schaefer,S., Carr,L.J., Prussel,E., Ramassamy,R. (1995) Effects of glycogen depletion on ischemic injury in isolated rat hearts: insights into preconditioning *Am J Physiol.: H 935-44; 268 (37(2))*
34. Taegtmeyer,H., Phil,D. (2002) Switching metabolic genes to build a better heart *Circulation 106: 2043-2045*
35. Yashamita,N.,Hoshida,S.,Taniguchi;N.,and Hori,M. (1998) Whole-body hyperthermia provides biphasic cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in the rat. *Circulation 98:1414-1421*

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn Universitätsprofessor Dr. med. Volker Thämer für die Überlassung des Themas und für die hervorragende und stets freundliche Betreuung. Mein besonderer Dank gilt darüber hinaus Herrn Dr. med Dirk Ebel für die Hilfe bei der Durchführung der Versuche sowie der stets großen Unterstützung.

LEBENS LAUF

Silke Redler

geboren am: 23.11.1979 in Düsseldorf

Eltern: Hans-Jürgen Redler, Industriekaufmann
Elisabeth Redler, Beamtin

Geschwister: Björn Redler, Rechtsreferendar
Jens Redler, Lehramtsstudent

Konfession: römisch-katholisch

Schulbildung

- 1986-1990 : Geschwister-Scholl-Grundschule, Monheim am Rhein
- 1990-1999 : Otto-Hahn-Gymnasium, Monheim am Rhein
- 1999 : Allgemeine Fachhochschulreife

Medizinische Ausbildung

- Beginn des Medizinstudiums an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf zum Wintersemester 1999/2000
- Physikum, August 2001
- Erstes Staatsexamen, August 2002
- Zweites Staatsexamen, August 2004
- Praktisches Jahr im Universitätsklinikum Düsseldorf, Oktober 2004 – September 2005
- Ärztliche Prüfung, November 2005
- Assistenzärztin im Institut für Humangenetik der Universität Bonn, seit Januar 2006

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung:

Ein kurzer Zeitraum glukosefreier Perfusion präkonditioniert das Myokard gegen die Auswirkungen einer folgenden Ischämie. ATP-abhängige Kaliumkanäle (K_{ATP}) spielen eine wichtige Rolle in der Signaltransduktionskaskade der ischämischen Präkonditionierung. Wir untersuchten erstens, ob K_{ATP}-Kanäle an der durch Hypoglykämie herbeigeführten Präkonditionierung beteiligt sind und zweitens, ob moderate Hypoglykämie ebenfalls Myokard präkonditioniert.

Material und Methodik:

Wir verwendeten ein isoliertes, Puffer-perfundiertes, Rattenherzmodell, an dem Herzfrequenz und Perfusionsdruck konstant gehalten wurden. Wir maßen den linksventrikulär entwickelten Druck (LVED), den Koronarfluß (KF), den myokardialen Sauerstoffverbrauch (VO₂) sowie die Infarktgröße (IG). Es wurden zehn Gruppen untersucht. Die Herzen durchliefen eine 30 minütige Null-Fluß Ischämie, gefolgt von einer 60 minütigen Reperfusion. Die Kontrollherzen (KON, n=9) wurden nicht weiter behandelt. Drei Gruppen wurden durch 10 minütige Perfusion mit 0, 40 oder 80 mg/dl Glukose (Gluk. 0, n=9; Gluk 40, n=9; Gluk 80, n=9) präkonditioniert, gefolgt von 10 min Perfusion mit normaler Krebs-Henseleit-Lösung (100 mg/dl Glukosekonzentration) vor der Hypoxie/Reperfusion. Bei diesen Gruppen wurde der osmotische Druck durch die Addition von Harnstoff zu dem hypoglykämischen Perfusat korrigiert. Um die Rolle von K_{ATP}-Kanälen zu untersuchen, wurden 100 µmol/l des mitochondrialen K_{ATP}-Kanalblockers 5-HD während der 20 minütigen prähypoxischen Phase zu dem glukosefreien Perfusat hinzugefügt (Gluk 0 + 5HD, n=10). Um eine Beeinflussung durch 5-HD und Harnstoff auszuschließen, wurden zwei Gruppen vor der Ischämiephase mit 5-HD (5-HD, n=10) und zusätzlich Harnstoff (Urea, n=9) behandelt.

Ergebnisse:

Linksventrikulär entwickelter Druck (LVED), Koronarfluß (KF) und Sauerstoffverbrauch (VO₂) zeigten keinen Unterschied zwischen den Gruppen während der Basismessung (98±20 mmHg; 16.7±4.9 ml/min; 254±65 µl/min), der frühen Reperfusion (2±2 mmHg; 7.4±4.1 ml/min; 112±47 µl/min) oder der späten Reperfusion (7±11 mmHg; 6.6±4.0 ml/min; 87±38 µl/min). Präkonditionierung mit einem 0 und 40 mg/dl Glukose enthaltendem Puffer reduzierte die Infarktgröße von 41±10% (KON) auf 23±12% (p =0.017 vs. KON) und 26±8% (p =0.011 vs. KON). Der mitochondriale K_{ATP}-Kanalblocker 5-HD blockt die Präkonditionierung durch Hypoglykämie (38±9%, p =0.04 vs. Gluk 0) während 5-HD und Harnstoff keine Auswirkung auf die Infarktgröße zeigten (38±13%, p =1.0; 37±8%, p =1.0 beide vs. KON). Zusätzlich untersuchten wir den präkonditionierenden Effekt von 0 (n=5) und 40 mg/dl (n=6) Glukose und osmotischer Korrektur mit 2- Deoxyglukose im Vergleich mit zusätzlichen Kontrollen (n=6). In diesen Experimenten führte die Präkonditionierung mit einem 0 und 40 mg/dl Glukose enthaltendem Puffer zu einer Reduktion der Infarktgröße von 46±8% auf 23±8% (p =0.003) bzw. 25±3% (p =0.0004).

Schlußfolgerungen:

Wir schließen daraus, dass eine kurzzeitige völlige und moderate Hypoglykämie das isolierte Rattenherz über die Öffnung von K_{ATP}-Kanälen präkonditioniert.