

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

**Stereospezifische Effekte von Ketamin auf die späte ischämische  
Präkonditionierung -  
Untersuchung an narkotisierten Kaninchen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der  
Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von  
**Ralf Rulands**

2005

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

gez: Prof. Dr. med. Raab

Dekan

Referent: Prof. Dr. med. Schlack

Korreferent: Prof. Dr. rer. nat. Gödecke

## Inhaltsverzeichnis:

<b>Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>4</b>
<b>1. Einführung .....</b>	<b>5</b>
<b>2. Methoden.....</b>	<b>10</b>
2.1 Chirurgische Präparation.....	10
2.2 LPC-Protokoll .....	12
2.3 Myokardinfarktprotokoll .....	14
2.4 Infarktgrößenbestimmung.....	16
2.5 Studienprotokoll.....	17
2.6 Datenverarbeitung.....	18
2.7 Hämodynamische Variablen.....	18
2.8 Statistische Analysen .....	19
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>20</b>
3.1 Hämodynamische Variablen.....	20
3.2 Risikogebiete und Infarktgrößen .....	23
<b>4. Diskussion.....</b>	<b>25</b>
4.1 Methodenkritik.....	25
4.1.1 Ketamin als Bestandteil der Narkose .....	26
4.1.2 Beeinflussung durch den Reperfusionsschaden.....	28
4.1.3 Infarktgrößenbestimmung und Dauer der Reperfusion.....	29
4.2 Ergebnisinterpretation .....	30
<b>5. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>37</b>
<b>6. Danksagung .....</b>	<b>48</b>
<b>7. Lebenslauf.....</b>	<b>49</b>
<b>8. Zusammenfassung .....</b>	<b>50</b>

# **Tabellen- und Abbildungsverzeichnis**

## **Tabellen**

Tabelle 1:	Hämodynamische Variablen.....	22
Tabelle 2:	Gewichte und Risikogebiet .....	23

## **Abbildungen**

Abbildung 1:	EKG während der späten Präkonditionierung .....	13
Abbildung 2:	Instrumentierung der Herzen .....	15
Abbildung 3:	Studienprotokoll .....	17
Abbildung 4:	Hämodynamik.....	21
Abbildung 5:	Infarktgrößen .....	24
Abbildung 6:	Signaltransduktionsweg der LPC.....	32

# 1. Einführung

Herz- und Kreislauferkrankungen zählen in Deutschland nach wie vor zu den häufigsten Todesursachen.

Allein im Jahr 2000 registrierte das Bundesamt für Statistik Deutschland 545.215 Patienten mit chronisch ischämischer Herzkrankheit. 174.252 Patienten wurden in diesem Jahr auf Grund eines akuten Myokardinfarkts oder eines Infarktrezidivs in deutschen Krankenhäusern behandelt, insgesamt 73.265 Patienten erlagen den Folgen ihres Infarktes.

Myokardiale Ischämie-Reperfusionssituationen treten infolge unterschiedlicher Grunderkrankungen aber auch iatrogen, z. B. im Rahmen einer perkutanen transluminalen Koronarangioplastie auf und sind neben dem klassischen Infarkt auch mitverantwortlich für Herz-Rhythmus-Störungen und Herzinsuffizienz. Der Verschluss einer Koronararterie führt hierbei normalerweise bereits nach 20 min durch den Sauerstoffmangel zu irreversiblen Zellnekrosen im Herzmuskelgewebe [1].

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass kurze subletale Myokardischämien die Toleranz des Herzmuskelgewebes gegenüber einer darauf folgenden längeren Ischämieperiode signifikant erhöhen. Dieses Phänomen wurde als erstes 1986 von Murry *et al.* als „ischämische Präkonditionierung“ beschrieben (Preconditioning/PC). Murry *et al.* konnten damals anhand einer *in vivo*-Versuchsreihe an anästhesierten Hunden zeigen, dass vier fünfminütige Ischämieperioden mit jeweils nachfolgender fünfminütiger Reperfusion eine erwartete Infarktgröße nach einer 40-minütigen Ischämie von 29 auf nur 7% des Risikogebietes reduzieren konnten [2].

Seitdem sind mögliche Auslöser und Transduktionswege der Präkonditionierung Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Dabei konnten zwei Phasen der Kardioprotektion ermittelt werden. Der als klassische oder auch frühe Präkonditionierung (EPC/early preconditioning) bezeichnete initiale Effekt der Kardioprotektion tritt unmittelbar nach dem ischämischen Stimulus auf, schützt das Myokard jedoch nur für ungefähr 2 bis 3 Stunden.

Weiterführende Studien haben gezeigt, dass die Kardioprotektion durch PC ca. 24 Stunden nach der Kurzzeitischämie erneut einsetzt und dann das Myokard für bis zu 72 Stunden vor den Folgen einer Ischämie-Reperfusionssituation schützt [3; 4]. Es muss also ein zweiter endogener kardioprotektiver Mechanismus existieren, der

“Späte Präkonditionierung” (Late Preconditioning/LPC) oder “second window of protection” (SWOP) genannt wurde.

Das Phänomen der Präkonditionierung konnte bisher an allen untersuchten Säugetierspezies nachgewiesen werden, so z. B. auch an Ratten-, Kaninchen- und Schweineherzen [5...7].

Neben der myokardialen Ischämie wurden noch eine Vielzahl weiterer Stimuli für die beschriebene Präkonditionierung gefunden: Dazu gehören unter anderem verschiedene Pharmaka, wie z. B. Adenosin- [8...11],  $\alpha$ -adrenerge- [12], muskarinische- [13], Opioid- [14] sowie Bradykininrezeptoragonisten [15].

Des Weiteren wurde eine durch Hyperthermie des Körpers hervorgerufene frühe und späte myokardiale Präkonditionierung beschrieben [16; 17] und verschiedene Untersuchungen zeigen, dass auch extrakardiale Kurzzeitschämien, so z. B. die kurzzeitige Okklusion einer renalen oder mesenterialen Arterie (remote preconditioning) zu einer myokardialen Protektion führen können [18; 19]. Unsere Arbeitsgruppe demonstrierte kürzlich additive Effekte von EPC und LPC. Die Kombination von ischämischer LPC mit ischämischer EPC [20] oder mit pharmakologischer EPC [21] führte in den Versuchen zu einer zusätzlichen Reduzierung der Infarktgröße auf nunmehr ca 15% des Risikogebietes verglichen mit knapp 30% in der LPC- und über 50% in der Kontrollgruppe.

Die beschriebenen außergewöhnlich starken Protektionseffekte machen deutlich, welche große klinische Relevanz für den Menschen in der möglichen genauen Aufklärung und der Triggerung der zugrunde liegenden Mechanismen liegen könnte. Wenn es auch aus verständlichen Gründen nicht möglich ist, klinische Studien beim Menschen mit genauen Zahlen bzgl. der resultierenden Infarktgrößenunterschiede nach PC zu belegen, so zeigen doch verschiedene *in vitro* [22...26] und klinische Untersuchungen der letzten Jahre, dass sowohl ischämische als auch pharmakologische PC auch das menschliche Myokard schützen können. Als Korrelat zur Infarktgröße wurden hier EKG- bzw. Enzymveränderungen oder das subjektive Schmerzempfinden der Patienten herangezogen.

So haben Kloner *et al.* in einer retrospektiven Datenauswertung bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt herausgefunden, dass Patienten, die innerhalb der dem Myokardinfarkt vorangehenden 48 Stunden eine *Angina pectoris*-Symptomatik aufwiesen, eine signifikant geringere Infarktgröße zeigten als die Vergleichsgruppe

ohne Präinfarkt-Angina [27; 28]. Dies ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass späte Präkonditionierung auch das menschliche Myokard schützt.

Darüber hinaus gibt es in den letzten Jahren weitere klinische Beobachtungen, welche die Annahme stützen, dass beim koronarkranken Patienten die PC einen bedeutenden Protektionsmechanismus darstellt. Hierzu zählen u. a. das „Warm-up“-Phänomen [29], welches es Patienten ermöglicht, eine initial wegen *Angina pectoris* abgebrochene Belastung nach einem belastungsfreien Intervall bei gleichem Belastungsgrad ohne Beschwerden erneut durchzuführen sowie eine subjektiv geringere Schmerzempfindung und vermindertes Auftreten von Arrhythmien bei Koronarokklusionen im Verlauf mehrfacher Ballondilatationen im Rahmen einer perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) [30].

Beispiele für pharmakologische Kardioprotektion durch EPC im Menschen liefern Studien, in denen Patienten, die sich einer PTCA unterziehen mussten, durch vorherige Bradykinin- [31] bzw. Adenosin [32]-Gaben signifikant geringere Ischämiezeichen aufwiesen. Klinisch besonders bedeutsam sind Untersuchungen mit volatilen Anästhetika, die in tierexperimentellen (Halothan/Enfluran [33], Isofluran [34], Sevofluran [35; 36] und Desfluran [37]) wie auch in einer klinischen Studie am Menschen den Effekt einer präkonditionierenden Ischämie imitieren konnten. So wiesen Belhomme *et al.* bei Patienten, die im Rahmen einer koronaren Bypass-Operation ein 5minütiges Isofluran-Protokoll durchliefen, im Vergleich zur Kontrollgruppe in den ersten drei postoperativen Tagen eine signifikant geringere Troponin-I und Creatinkinase-MB Enzymfreisetzung nach [38].

Wesentlich in diesem Zusammenhang ist auch, dass im menschlichen Myokard eine PC nicht nur pharmakologisch durch bestimmte Stoffe induziert werden kann, sondern dass es auch Stoffe/Medikamente gibt, die eine ischämische PC blockieren und somit einen wichtigen endogenen Protektionsmechanismus verhindern können. In den letzten Jahren konnten spezifische Hemmstoffe für einzelne Schritte und Mediatoren in der Transduktionskaskade der EPC und LPC ausfindig gemacht werden.

Neben den spezifischen Hemmstoffen gibt es aber auch im klinischen Alltag Medikamente, die eine potentielle PC, z. B. im Rahmen von *Angina pectoris*-Anfällen oder auch stummer Ischämie, aufheben können. Ein solcher Effekt wurde u. a. für das orale Antidiabetikum Glibenclamid [39; 40] sowie für Naloxon nachgewiesen [41]. Für die Klinik heißt das zum einen, dass es theoretisch möglich wäre, bei Patienten

mit koronarer Herzerkrankung eine dauerhafte medikamentöse Myokardprotektion durch pharmakologische Präkonditionierung zu erzielen. Zum anderen könnte es von Bedeutung sein, gerade bei vorhersehbaren Ischämie/Reperfusionssituationen, wie z. B. bei Herzoperationen oder bei Katheterinterventionen, gezielt kardioprotektive Substanzen einzusetzen bzw. bewusst auf solche Medikamente zu verzichten, welche den Effekt der Präkonditionierung blockieren.

Die besondere Bedeutung der LPC gegenüber der bisher genauer untersuchten EPC liegt zum einen in dem größeren Zeitfenster, in dem LPC nach dem Stimulus anhält, zum anderen vermag die LPC im Gegensatz zur EPC, die postischämische myokardiale Dysfunktion (Stunning) zu vermindern [42]. Des Weiteren konnte sowohl für die ischämische als auch für die pharmakologische EPC eine Toleranzentwicklung nachgewiesen werden [43; 44], was eine medikamentöse Ausweitung des EPC-Fensters im Rahmen einer evtl. Prophylaxe bei KHK-Patienten verhindert. Die Verringerung des protektiven Effektes wurde hierbei auf eine Downregulation an Rezeptoren zurückgeführt.

Dieses Problem dürfte bei LPC nicht auftreten, da das Pharmakon nur alle 48-72 Stunden verabreicht werden müsste, um die Kardioprotektion aufrecht zu erhalten. So konnten Yellon *et al.* durch die mehrmalige Applikation von CCPA (Adenosin-Agonist) im Abstand von je 48 Stunden eine anhaltende PC über 10 Tage ohne Herunterregulation des Adenosinrezeptors hervorrufen [45; 46].

Obwohl beide Phasen der Präkonditionierung in Bezug auf ihren Transduktionsweg sehr genau untersucht wurden, sind die zugrunde liegenden Mechanismen auf zellulärer Ebene nach wie vor nicht vollständig aufgeklärt. Es ist bekannt, dass für die Myokardprotektion durch frühe Präkonditionierung eine Öffnung der mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanäle wesentlich ist. Über die Freisetzung von Sauerstoffradikalen [47; 48] durch einen ischämischen Stimulus oder z. B. via Adenosin/Bradykinin oder Opioid-Rezeptoren wird die Proteinkinase C aktiviert [49; 50]. Dies führt zu einer Aktivierung von Tyrosin [51; 52]- und Mitogen aktivierten Proteinkinasen (MAP-Kinasen) [53], die als Trigger und/oder Mediatoren der Protektion über den Weg der  $K^+_{ATP}$ -Kanäle wesentlich sind [54...56].

Es konnte nachgewiesen werden, dass den  $K^+_{ATP}$ -Kanälen auch während des „zweiten Fensters der Protektion“ eine wichtige Bedeutung zukommt [57; 88; 97].

Ein wesentlicher Trigger/Mediator der beschriebenen Kardioprotektion, das Öffnen von ATP-sensitiven  $K^+$ -Kanälen, ist also eine der Gemeinsamkeiten der

ischämischen EPC und LPC. Auch an den anderen erwähnten Formen der PC ist das Öffnen dieser K<sup>+</sup>-Kanäle maßgeblich beteiligt [10; 20; 21; 58...60].

Wie oben erwähnt, wurde bereits für zahlreiche Anästhetika ein protektiver Effekt via pharmakologischer PC nachgewiesen. Für Thiopental [61; 62] und Ketamin [63] liegen aber auch Ergebnisse vor, dass sie über eine Blockade der K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>-Kanäle eine Präkonditionierung verhindern.

Molajavi A *et al.* konnten 2000 zeigen, dass dieser Effekt für das Anästhetikum Ketamin nur bei der Applikation des R(-)-Isomers bzw. des Razemats, nicht aber beim S(+)-Ketamin auftritt [64; 65]. Es liegt also eine enantiomerspezifische Wirkung des Ketamins auf die ATP-sensitiven Kaliumkanäle vor.

Natürlich unterscheidet sich der Signaltransduktionsweg der LPC in vielen Belangen von dem der EPC, und die Effekte razemischen Ketamins auf die LPC wurden bisher noch nicht untersucht. Ketamin könnte aber nicht nur die K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>-Kanäle blockieren, sondern auch in vorangehende Schritte der Transduktionskaskade der LPC eingreifen. Hier kommen z. B. die Blockade der Stickstoffmonooxyd (NO)-Synthase, die Hemmung von Tyrosinkinase oder der NFκB-Aktivität [66] in Frage.

In der hier vorliegenden Studie wurde nun der Effekt einer Bolusdosis von razemischem bzw. S(+)-Ketamin auf die klinisch bedeutsamere LPC in chronisch instrumentierten „New Zealand White Rabbits“ untersucht.

## 2. Methoden

Die vorliegende Studie entspricht den Leitlinien der Amerikanischen Gesellschaft für Physiologie sowie den örtlichen Bestimmungen und wurde durch den Regierungspräsidenten Düsseldorf genehmigt.

In einer ersten Operation wurde den Tieren ein Koronararterienokkluder implantiert.

Nach 7 bis 10 Tagen Erholungszeit wurde mit Hilfe dieses Okkluders bei den Tieren der LPC-, der LPC/Ketamin- und der LPC/S(+)-Ketamin-Gruppen eine regionale Myokardischämie zur Induktion der späten Präkonditionierung am wachen Tier ausgelöst (s. LPC-Protokoll).

24 Stunden später wurden die Tiere aller Gruppen erneut operiert und zur Messung der hämodynamischen Werte instrumentiert (s. Myokardinfarktprotokoll).

### 2.1 Chirurgische Präparation

Nach Lokalanästhesie mit einer Lidocain- und Prilocain haltigen Salbe (EMLA<sup>®</sup>) wurde bei 43 weißen Neuseeländerkaninchen mit einem Gewicht von 2.550 – 3.150 g (Mittelwert  $2.870 \pm 29$  g) Körpergewicht (KG) die laterale Ohrvene punktiert. Die Anästhesie wurde dann intravenös (i.v.) mit Xylazin (STRESNIL<sup>®</sup>, 6 mg/kg KG), Ketamin (KETANEST<sup>®</sup>, 6 mg/kg KG) und Propofol (DISOPRIVAN<sup>®</sup>, 10 mg/kg KG) eingeleitet. Die Trachea wurde mit einem Woodbridge Tubus intubiert (3,0 mm innerer Durchmesser) und die Lungen mit einem Neugeborenenbeatmungsbeutel beatmet. Im Anschluss wurden die Kaninchen an der linken Thoraxwand rasiert und in den Operationssaal gebracht.

Hier wurden die Tiere an ein Beatmungsgerät angeschlossen (Sulla 808, Dräger AG, Lübeck, Deutschland) und die Haut im Operationsbereich mit einem Antiseptikum (BRAUNOL<sup>®</sup>) sorgfältig desinfiziert. Die maschinelle Ventilation erfolgte mit einer Frequenz von 30-35/min und einem Hubvolumen zwischen 15 und 20 ml, um einen endtidalen CO<sub>2</sub>-Partialdruck von 35 mmHg aufrecht zu erhalten (Datex Capnomac Ultima, Division of Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland).

Die Anästhesie wurde durch die Inhalation von 2 bis 4 Vol% Isofluran (ISOFLURAN®) und 50%igem Stickstoffoxid aufrecht erhalten und die ausreichende Narkosetiefe anhand des Fehlens von Reflexen bestimmt. Alle chirurgischen Eingriffe an den Kaninchen wurden unter Einhaltung steriler Kautelen durchgeführt. Die antibiotische Prophylaxe erfolgte durch die präoperative Gabe von Cephazolin (GRAMAXIN®, 35 mg/kg KG) i.v.

Nach einer linksseitigen lateralen Thorakotomie im vierten Interkostalraum wurde der Thorax eröffnet. Der Zugang zur Herzhöhle erfolgte durch eine kleine Inzision des Perikardes. Ein Hauptast der linken Koronararterie wurde identifiziert und mit zwei 5-0 Prolenenähten mit einer atraumatischen Nadel (Ethicon 5/0, 1-metrisch, TF) umstochen. Der Abstand der beiden Ligaturen wurde streng  $< 1$  mm gehalten, um gleich große Risikogebiete für die Präkonditionierung und die eigentliche Ischämie zu gewährleisten. Im Regelfall wurde der Hauptast der linken Koronararterie im ersten Viertel der Strecke von der Herzbasis bis zur Herzspitze umschlungen.

Ein Spiraltubus (2,5 mm innerer Durchmesser, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland) wurde nach subkutaner Tunnelung zwischen den beiden Schulterblättern ausgeleitet und an der Haut fixiert. Das innere Ende des Tubus wurde in der Nähe der beiden Koronararterienumstechungen intrathorakal platziert, mit dem Perikard vernäht und so fixiert. Die beiden Fädenpaare wurden nun durch den Tubus nach außen geleitet. Das Lumen des Tubus wurde mit Vaseline gefüllt, um die Ausbildung eines Pneumothoraxes zu verhindern.

Nach Luftaspiration wurde der Thorax schichtweise verschlossen und die Wunde mit einem sterilen Verband versorgt. Postoperativ erhielten die Tiere Piritramid (DIPIDOLOR®, 2 mg/kg KG) zur Analgesie und Amoxicillin (DUPHAMOX®, 15 mg/kg KG) als Antibiotikum zur Infektionsprophylaxe. Die Wunde und der Tubus mit den ausgeleiteten Fäden wurden mit einer Weste (Kaninchen-Weste, Größe M, Byron, Grand Island, NY, USA) geschützt.

## 2.2 LPC-Protokoll

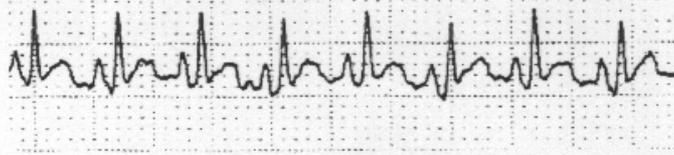
Innerhalb von 7 bis 10 Tagen erholten sich die Kaninchen von dem operativen Eingriff. Nach dieser Erholungsphase wurde unter Elektrokardiographie (EKG)-Kontrolle (SC 9000, Siemens AG, Düsseldorf, Deutschland) ein Paar der Fäden für fünf Minuten zugezogen. Dadurch kam es zu einer Okklusion der Koronararterie mit nachfolgender Ischämie des abhängigen Versorgungsgebietes. Die erfolgte Okklusion zeigte sich anhand der resultierenden ST-Streckenhebungen im abgeleiteten EKG.

Um einen möglichen Effekt auf die Signaltransduktionskette der PC zu vermeiden, wurde die Okklusion ohne die Gabe von Analgetika oder Sedativa durchgeführt. Am Ende der fünfminütigen Koronararterienokklusion wurde durch Entfernung des Fadens eine sichere Reperfusion gewährleistet, welche durch die Normalisierung des EKGs innerhalb von 5 Minuten bei jedem Tier verifiziert wurde (s. Abb. 1). Dieses Prozedere wurde bei allen Kaninchen mit Ausnahme derer der Kontrollgruppe durchgeführt.

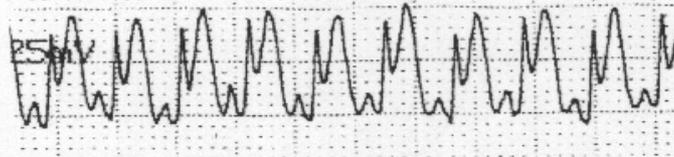
Insgesamt wurden 43 Kaninchen für die Versuchsreihe präpariert. Sieben davon starben bei der beschriebenen Präkonditionierung. Mit den übrigen 36 wurde wie im Myokardinfarktprotokoll beschrieben weiter verfahren.

**Abbildung 1 : EKG während der späten Präkonditionierung**

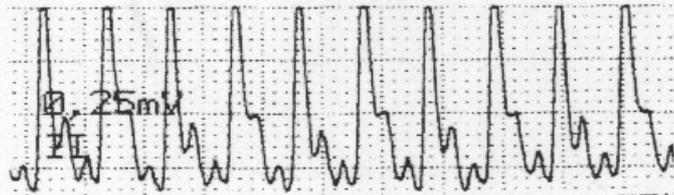
Ausgangsbedingungen



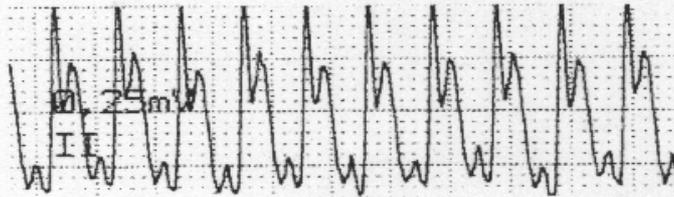
1 Minute Okklusion



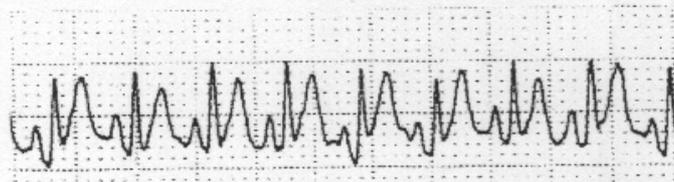
3 Minuten Okklusion



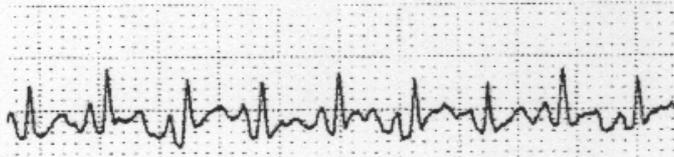
5 Minuten Okklusion



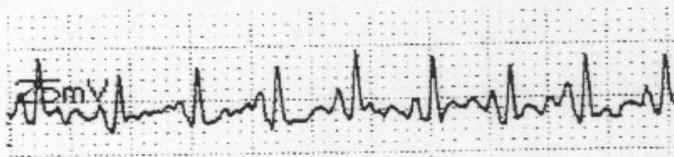
1 Minute Reperfusion



3 Minuten Reperfusion



5 Minuten Reperfusion



## 2.3 Myokardinfarktprotokoll

24 Stunden nach dem LPC-Protokoll wurden die Kaninchen erneut operiert. Nach Anlegen eines venösen Zuganges (s. Chirurgische Präparation) wurde die Anästhesie bei den Kaninchen durch Propofol (10 mg/kg KG) eingeleitet und durch eine kontinuierliche Infusion von  $\alpha$ -Chloralose (40 mg/kg KG h) aufrecht erhalten. Die Tiere wurden anschließend endotracheal intubiert und maschinell beatmet (s. oben). Blutgasanalysen sowie die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration und des Hämatokrits wurden in regelmäßigen Intervallen durchgeführt (präoperativ, vor, und nach der Studie).

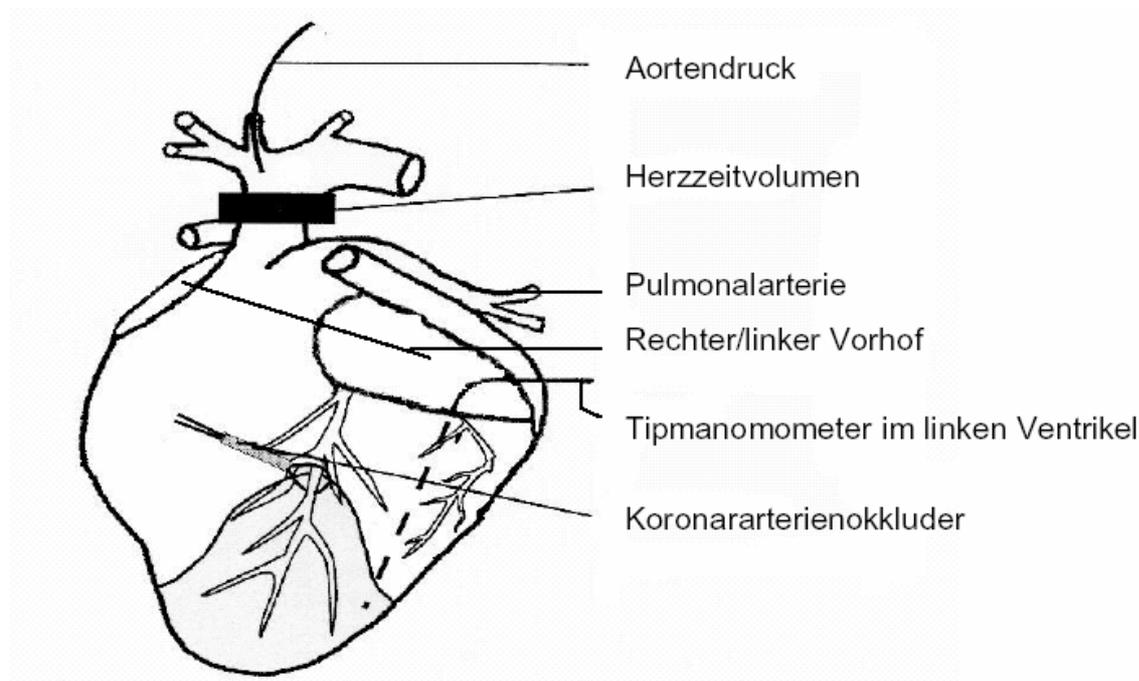
Eine suffiziente Narkosetiefe wurde anhand des Fehlens von Muskelbewegungen und dem Ausbleiben von hämodynamischen Reaktionen auf chirurgische Stimuli während der Operation sichergestellt. Bei den Tieren wurde erneut ein Oberflächen-EKG abgeleitet. Zur Messung des Aortendruckes wurde ein 20-Gauge-Teflonkatheter über die linke Arteria carotis communis in den Aortenbogen eingeführt, mit Flüssigkeit (NaCl 0,9%) gefüllt und mit einem Statham-Drucktransducer (PD 23, Gould, Cleveland, Ohio, USA) verbunden. Über die mit einer Venenverweilkanüle (Venflon™, 1,2 mm, Becton Dickinson, Helsingborg, Schweden) punktierte rechte Vena jugularis erhielten die Tiere eine kontinuierliche Infusion einer physiologischen NaCl-Lösung (15 ml/kg KG h), um intraoperative Flüssigkeitsverluste auszugleichen. Nach medianer Thorakotomie und Eröffnung des Perikardes wurde ein Ultraschallflussmesskopf (4S, T208, Transonic System Inc., Ithaca, NY, USA) um die Aorta ascendens gelegt. Damit wurde das Herzzeitvolumen (HZV) abzüglich der Koronardurchblutung gemessen.

Zur Messung des linksventrikulären Druckes wurde ein Katheterspitzenmanometer (Millar tipcatheter, SPC-340, Houston, TX) über den linken Vorhof in den linken Ventrikel eingebracht. Das verbliebene zweite Paar Fäden der Koronarumstechung wurde freipräpariert und ein Plastikröhrchen darübergezogen. Mit diesem Okkluder konnte die Koronararterie für die Auslösung der Ischämie (30 Minuten) verschlossen werden. Die Körperkerntemperatur wurde in der Herzhöhle gemessen (GTH 1160, Digital Thermometer, Geisinger Elektronik, Deutschland) und mittels einer Wärmematte und einer Infrarotlampe zwischen 38,3 und 38,7°C konstant gehalten. Am Ende der Präparation wurden die Kaninchen mit 500 i. E. Heparin (LIQUEMIN®) heparinisiert.

Nach einer fünfzehnminütigen Stabilisierungsphase wurden die hämodynamischen Ausgangswerte registriert und bis zum Ende des Versuches in regelmäßigen Abständen erneut gemessen (siehe Abbildung 3).

Bei den entsprechenden Versuchsgruppen wurde daraufhin razemisches Ketamin oder S(+)-Ketamin ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) bzw. nur Benzethoniumchlorid ( $0.1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) als Trägersubstanz des Ketamins (LPC- und Kontroll-Gruppe) verabreicht. Zehn Minuten später wurde die Koronararterie mittels des Okkluders verschlossen und der Erfolg der Okklusion anhand einer sofort auftretenden epikardialen Zyanose im abhängigen Versorgungsgebiet sowie durch ST-Streckenhebungen im EKG verifiziert. Eventuell auftretendes Kammerflimmern wurde durch sofortige interne elektrische Defibrillation (5J, DCS 261 Defibrillator, Piekser, Ratingen, Deutschland) therapiert. Die Aufhebung der Koronarokklusion erfolgte nach 30 Minuten, denen sich eine 120-minütige Reperfusionphase anschloss (siehe Abbildung 3). Die Aufhebung der Zyanose und der Rückgang der ST-Streckenhebung zeigten die erfolgreiche Reperfusion an.

**Abbildung 2:** Instrumentierung der Herzen



## 2.4 Infarktgrößenbestimmung

Nach zwei Stunden Reperfusion wurde das Herz durch Injektion von 20 ml eiskalter Kaliumchloridlösung (16 mmol/l) in den linken Vorhof stillgestellt, zügig inkl. Aortenwurzel entnommen und an eine modifizierte Langendorff-Apparatur überführt. Diese bestand aus einer Knopfkanüle und einem Dreiwegehahn, über den die Perfusionslösungen luftfrei retrograd über die Aortenwurzel in die Koronararterien perfundiert werden konnten. An dieser wurde das Herz für fünf Minuten mit eiskalter physiologischer Kochsalzlösung mit einem Perfusionsdruck von 40 cm Wassersäule perfundiert. Dadurch wurden Blutreste in den Koronargefäßen ausgewaschen.

Dann wurde die Koronararterie mit dem verbliebenen Okkluder erneut verschlossen und das Herz mit einer 0,2%igen Evans-Blau-Lösung für zehn Minuten mit einem Perfusionsdruck von 40 cm Wassersäule perfundiert. Um intravaskulär verbliebene Evans-Blau-Lösung auszuwaschen, wurde anschließend erneut mit physiologischer Kochsalzlösung bei anhaltender Okklusion für einige Minuten perfundiert. Durch dieses Verfahren wurde das Risikogebiet, also das Gebiet, das während der 30-minütigen Okklusion ischämisch war, als ungefärbt identifiziert.

Anschließend wurden die Herzen durch transversale Schnitte in zwei mm dicke Scheiben geschnitten. Der rechte Ventrikel wurde entfernt, so dass sich alle Auswertungen nur auf den linken Ventrikel beziehen. Danach wurden die Scheiben für fünfzehn Minuten in einer gepufferten 0,75%igen Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung bei 38 °C inkubiert. Durch diese Färbung erschien vitales Gewebe rot, nekrotisches Gewebe hingegen wurde nicht angefärbt. Die Größe des linken Ventrikels, des Risikogebietes und des Infarktes wurde mittels EDV-unterstützter Planimetrie bestimmt. Nach 24stündigem Trocknen bei 45°C im Wärmeschrank wurden alle Scheiben gewogen und so die Trockengewichte bestimmt.

Die durch die Planimetrie bestimmten Flächen wurden dann im entsprechenden Verhältnis zum Trockengewicht der entsprechenden Scheibe als Gewichte errechnet.

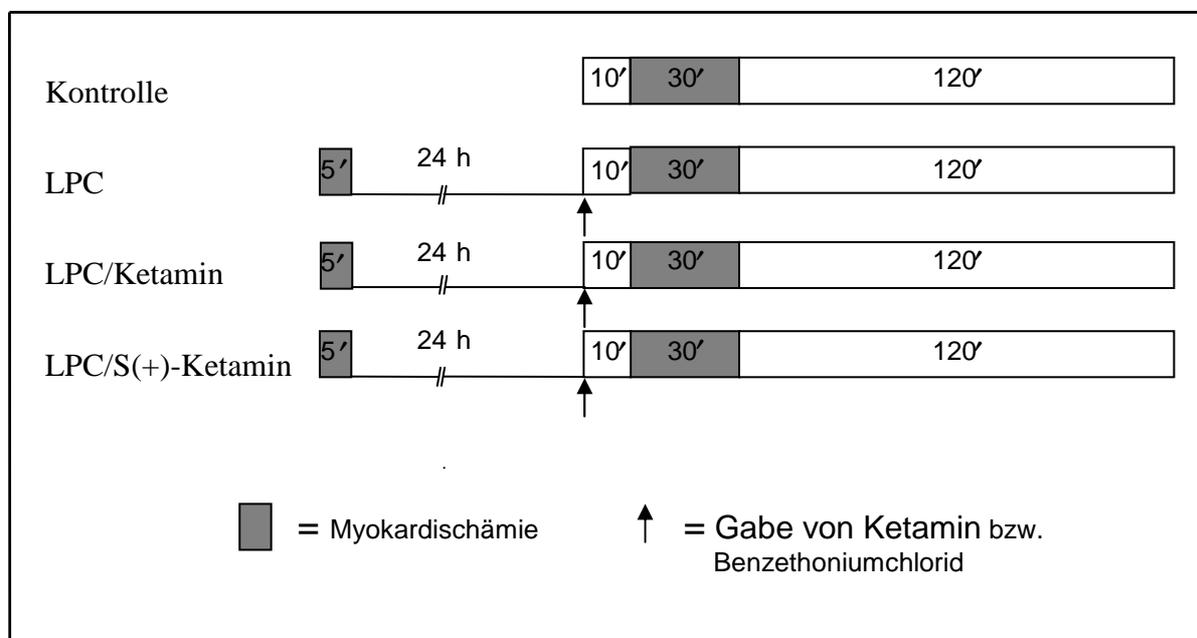
## 2.5 Studienprotokoll

Die Tiere wurden vor dem ersten Eingriff randomisiert einer unserer vier Versuchsgruppen zugeordnet. Alle Kaninchen wurden nach einer Stabilisierungsphase (Baseline) einer 30-minütigen regionalen Myokardischämie unterzogen, gefolgt von zwei Stunden Reperfusion.

Mit Ausnahme der Kontrollgruppe wurde in allen Gruppen 24 Stunden vor der prolongierten Ischämie eine LPC durch fünfminütige Koronarokklusion am wachen Tier induziert.

Im Rahmen der 2. Operation wurde den Tieren der Ketamin-Gruppen zehn Minuten vor der 30-minütigen Ischämie Ketamin  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  (LPC/Ketamin-Gruppe) bzw. S(+)-Ketamine  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  [LPC/S(+)-Ketamin-Gruppe] i.v. injiziert. Die Kaninchen der Kontroll- und die der reinen LPC-Gruppe erhielten zum gleichen Zeitpunkt Benzethoniumchlorid  $0.1 \text{ mg kg}^{-1}$ , der Trägersubstanz des Ketamins.

**Abbildung 3:** Studienprotokoll



## 2.6 Datenverarbeitung

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

## 2.7 Hämodynamische Variablen

Linksventrikulärer Spitzendruck (LVSD) und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ( $dP/dt_{max}$ ) wurden als Maß für die globale systolische Funktion gemessen. Das Minimum des  $dP/dt$  ( $dP/dt_{min}$ ) definierte das Ende der Systole, der steile Anstieg des  $dP/dt_{max}$  markierte das Ende der Diastole. Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDD) und die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation ( $\tau$ ) wurden zur Beurteilung der linksventrikulären diastolischen Funktion herangezogen. Die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation wurde anhand folgender Formel errechnet:  $P(t) = P_0 \exp^{-t/\tau}$  wobei  $P(t)$  der Druck zum Zeitpunkt  $t$  ist,  $P_0$  der LVEDD und  $\tau$  die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation.

Das Produkt aus Herzfrequenz (HF) und linksventrikulärem Spitzendruck (LVSD), das Frequenz-Druck-Produkt (FDP), wurde als Determinante des myokardialen Sauerstoffverbrauches berechnet. Der systemische vaskuläre Widerstand (SVR) wurde aus dem mittleren Aortendruck ( $AOP_{mean}$ ) und dem HZV unter der Annahme berechnet, dass bei geöffnetem Thorax der rechtsatriale Druck 0 mmHg beträgt.

## 2.8 Statistische Analyse

Alle Daten sind als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben.

Zur Ermittlung statistischer Unterschiede in den hämodynamischen Messungen führten wir eine Zwei-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) entlang der Zeit und zwischen den Gruppen durch. Zeigten sich hierbei statistische Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen, wurden die betreffenden Zeitpunkte durch eine Ein-Weg-Varianzanalyse (ANOVA), gefolgt von einem Dunetts Post-Hoc-Test, einzeln mit der LPC-Gruppe als Referenzgruppe verglichen.

Mit statistischen Unterschieden in Bezug auf zeitliche Veränderungen innerhalb einer Gruppe (time effect) wurde in gleicher Weise mit den Ausgangswerten als Kontrolle verfahren. Unterschiede bezüglich der Infarktgrößen zwischen den Gruppen wurden anhand einer Ein-Wege-Varianzanalyse ermittelt und mittels dem Dunetts Post-Hoc-Test mit der Präkonditionierungsgruppe als Bezugsgruppe statistisch ausgewertet. Unterschiede wurden ab einem Wert von  $P < 0,05$  als signifikant betrachtet.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Hämodynamische Variablen

Für 36 Kaninchen konnten jeweils komplette Datensätze erhoben werden. Die hämodynamischen Variablen sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Abbildung 4 zeigt die Hämodynamik (Verlauf von HF, LVSD und HZV) über den Zeitverlauf der Ischämie-Reperfusionen für alle 4 Versuchsgruppen.

Die Ausgangswerte von LVSD, HZV, HF und damit auch von FDP unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant. Nach der Gabe von S(+)-Ketamin blieben die genannten hämodynamischen Variablen unverändert.

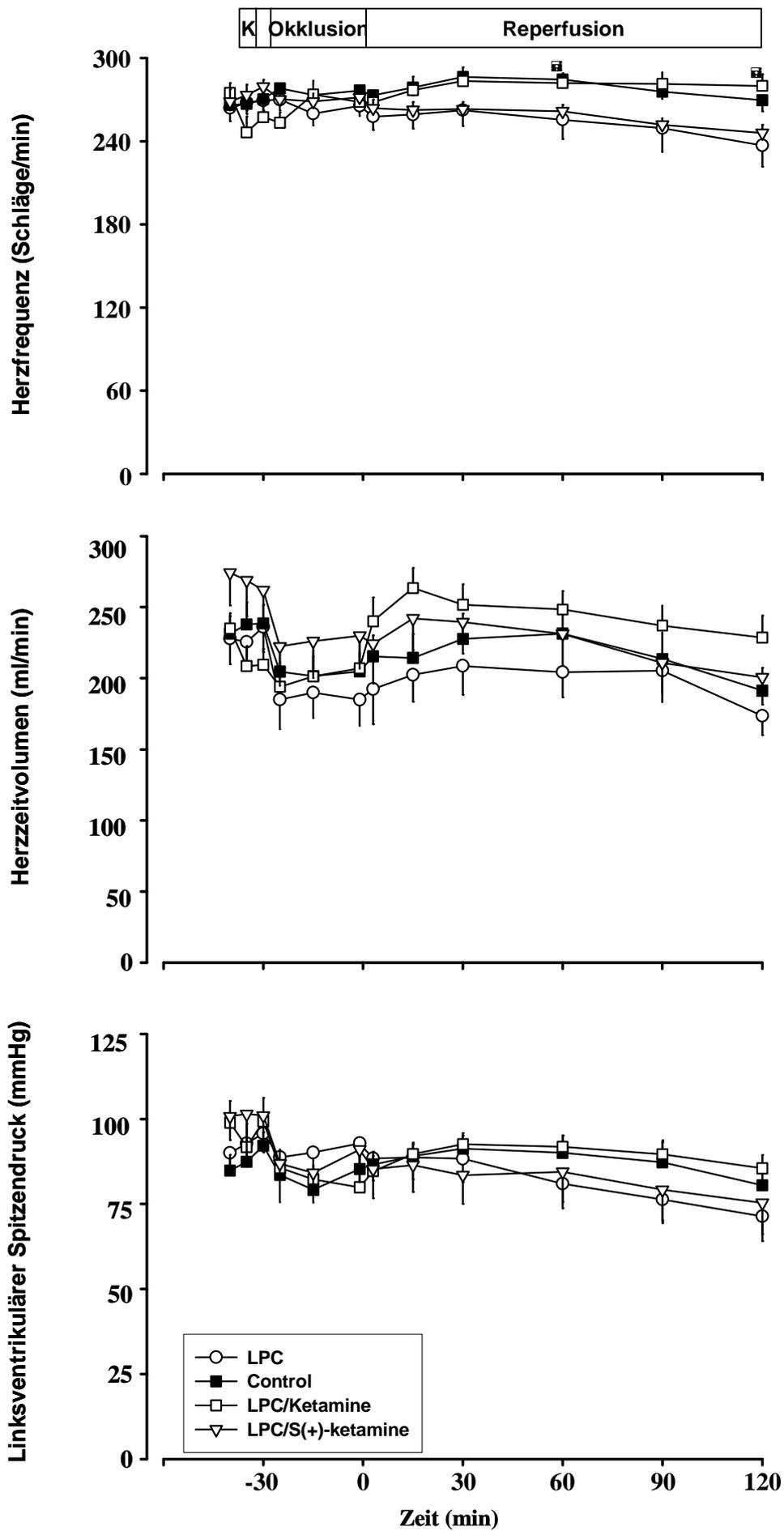
Wie in den Abbildungen zu sehen, führte die Okklusion der präparierten Koronararterie in allen Gruppen zu einer Reduktion des LVSD (im Mittel  $7\pm 4\%$ ), des  $dP/dt_{max}$  (im Mittel  $15\pm 5$ ) und des HZV (im Mittel  $16\pm 4\%$ ).

Die Beeinträchtigung der linksventrikulären diastolischen Funktion zeigte sich im Anstieg von  $\tau$  um  $32\pm 6\%$  sowie im Anstieg des linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDD) von  $4\pm 1$  unter Ausgangswert-Konditionen auf  $9\pm 1$  mmHg während der Okklusion (alle Werte bei 25-minütiger Okklusion aufgenommen). Bezüglich des RPP zeigten die einzelnen Gruppen während der 30-minütigen Okklusion keine signifikanten Unterschiede.

Nach der zweistündigen Reperfusion waren der LVSD um  $15\pm 4$  und  $dP/dt_{max}$  um  $28\pm 5\%$  in Bezug auf die Ausgangswerte als Ausdruck der herabgesetzten myokardialen Kontraktionskraft weiterhin reduziert. FDP war um  $16\pm 5\%$  vermindert. Auch die diastolische Funktion war mit einem um  $34\pm 8\%$  verlängertem  $\tau$  und einem LVEDD Anstieg um  $3\pm 1$  mmHg gegenüber Baseline nach wie vor beeinträchtigt.

#### **Abbildung 4:** Hämodynamik

Die Graphen zeigen die Herzfrequenz, das Herzzeitvolumen sowie den linksventrikulären Spitzendruck in Abhängigkeit zu der auf der X-Achse aufgetragenen jeweiligen Versuchszeit für die Gruppen Späte Präkonditionierung (LPC), Kontrolle sowie LPC/Ketamin und LPC S(+)-Ketamin jeweils als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung und  $n=9$ . Der Zeitpunkt K entspricht der Ketamingabe.  $^{\dagger}P < 0,05$  vs. LPC-Gruppe.



	Ausgangs- werte	Interventionszeitraum		Okklusion		Reperfusion		
		Ket. / LSG:	10 min	5 min	25 min	5 min	30 min	120 min
<b>LVEDD (mmHg)</b>								
Kontrolle	3.3 ± 0.9	3.5 ± 0.9	4.0 ± 1.0	6.6 ± 1.4	8.7 ± 2.3	9.7 ± 2.2	7.6 ± 1.9	6.7 ± 2.0
LPC	4.8 ± 0.7	5.1 ± 0.9	5.4 ± 1.0	6.3 ± 1.9	9.2 ± 2.1	9.5 ± 1.8	8.1 ± 1.4	6.8 ± 1.8
LPC/Ketamin	4.7 ± 1.5	5.4 ± 1.4	5.4 ± 1.1	8.9 ± 1.9	9.4 ± 1.3	10.6 ± 1.5	10.1 ± 1.5	9.7 ± 1.6
LPC/S(+)-Ketamin	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5	3.5 ± 0.5	7.1 ± 1.1	9.6 ± 1.8	10.6 ± 2.4	7.9 ± 2.1	6.2 ± 1.7
<b>dP/dtmax (mmHg/s)</b>								
Kontrolle	3843 ± 419	4066 ± 413	4413 ± 386	3559 ± 185	3530 ± 237	2954 ± 276	3817 ± 297	2951 ± 352
LPC	3927 ± 401	4088 ± 409	4234 ± 400	3754 ± 422	3532 ± 388	3394 ± 395	3953 ± 451	2795 ± 413
LPC/Ketamin	4382 ± 633	3337 ± 562	3401 ± 466	3172 ± 386	3246 ± 523	3372 ± 411	3882 ± 311	3154 ± 253
LPC/S(+)-Ketamin	4801 ± 502	4787 ± 676	4876 ± 702	3567 ± 631	3526 ± 556	2602 ± 318*	3191 ± 464	2762 ± 472
<b>SVR (mmHg min l<sup>-1</sup>)</b>								
Kontrolle	307 ± 24	311 ± 26	331 ± 28	355 ± 30	344 ± 31	318 ± 31	330 ± 22	326 ± 17
LPC	375 ± 31	387 ± 33	380 ± 27	464 ± 41	445 ± 40	437 ± 39	378 ± 25	341 ± 28
LPC/Ketamin	354 ± 25	386 ± 24	425 ± 29	403 ± 33	311 ± 29 <sup>†</sup>	299 ± 16 <sup>†</sup>	314 ± 18	317 ± 23
LPC/S(+)-Ketamin	350 ± 36	356 ± 44	358 ± 40	355 ± 42	366 ± 33	316 ± 31 <sup>†</sup>	302 ± 29	315 ± 38
<b>FDP (mmHg min<sup>-1</sup> 10<sup>3</sup>)</b>								
Kontrolle	22.6 ± 1.2	23.3 ± 1.2	24.9 ± 1.2	23.3 ± 1.1	23.2 ± 1.1	23.4 ± 1.4	26.2 ± 1.4	21.9 ± 2.0
LPC	24.1 ± 2.3	25.2 ± 2.2	26.0 ± 2.1	24.2 ± 2.2	24.5 ± 2.6	23.5 ± 2.3	23.4 ± 2.5	17.3 ± 2.6
LPC/Ketamin	27.4 ± 2.2	22.7 ± 2.2	25.9 ± 2.8	21.8 ± 1.7	21.1 ± 2.3	23.3 ± 1.7	26.3 ± 1.5	24.1 ± 1.7
LPC/S(+)-Ketamin	27.2 ± 2.2	27.7 ± 3.0	28.3 ± 3.2	23.5 ± 3.1	22.6 ± 2.8	22.1 ± 2.1	21.8 ± 2.1	18.8 ± 2.6
<b>τ (ms)</b>								
Kontrolle	14.1 ± 1.2	13.8 ± 1.0	13.8 ± 0.9	15.9 ± 1.1	16.3 ± 1.4	16.5 ± 1.6	14.4 ± 1.2	15.4 ± 1.6
LPC	15.1 ± 0.6	15.4 ± 0.8	15.1 ± 1.1	17.4 ± 1.1	18.9 ± 1.4	17.7 ± 1.6	17.0 ± 2.2	20.8 ± 2.8
LPC/Ketamin	14.6 ± 1.6	16.4 ± 1.4	16.2 ± 1.7	19.0 ± 2.2	19.7 ± 2.4	18.6 ± 2.4	16.8 ± 2.1	18.3 ± 2.3
LPC/S(+)-Ketamin	12.6 ± 0.6	13.9 ± 0.9	13.1 ± 0.6	18.3 ± 1.2*	18.2 ± 1.2*	16.9 ± 1.2	16.4 ± 1.0	20.3 ± 3.3*

Daten als Mittelwerte ± Standardabweichung. n=9 in jeder Gruppe; LPC=Späte Präkonditionierung; LVEDD=linksventrikulärer enddiastolischer Druck; dP/dtmax=maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit; SVR=systemischer vaskulärer Widerstand; FDP=Frequenz-Druck-Produkt; τ=Zeitkonstante der isovolumetrischen linksventrikulären Relaxation. Ket./LSG.=Ketamin bzw. Lösungsmittel; \*P<0.05 vs. Ausgangswerte; †P<0.05 vs.LPC Gruppe.

**Tabelle 1: Hämodynamische Variablen**

### 3.2 Risikogebiet und Infarktgröße

Zur Bestimmung der Risikogebiete und der Infarktgrößen wurde nur der linke Ventrikel ausgewertet. Das mittlere Trockengewicht des linken Ventrikels betrug  $0,74 \pm 0,02$  g ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (die Werte für die einzelnen Gruppen sind der Tabelle 2 zu entnehmen). Das Risikogebiet machte im Mittel  $62 \pm 3\%$  des linken Ventrikels entsprechend  $0,47 \pm 0,03$  g aus. Auch hier unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant. Signifikante Unterschiede zeigten sich hinsichtlich der prozentualen Infarktgrößen bezogen auf das Risikogebiet zwischen der LPC- und der Kontrollgruppe. LPC reduzierte die Infarktgröße von  $44 \pm 3\%$  des Risikogebietes der Kontrollgruppe auf  $22 \pm 3\%$  (LPC;  $P=0.002$ ) (siehe Abbildung 5).

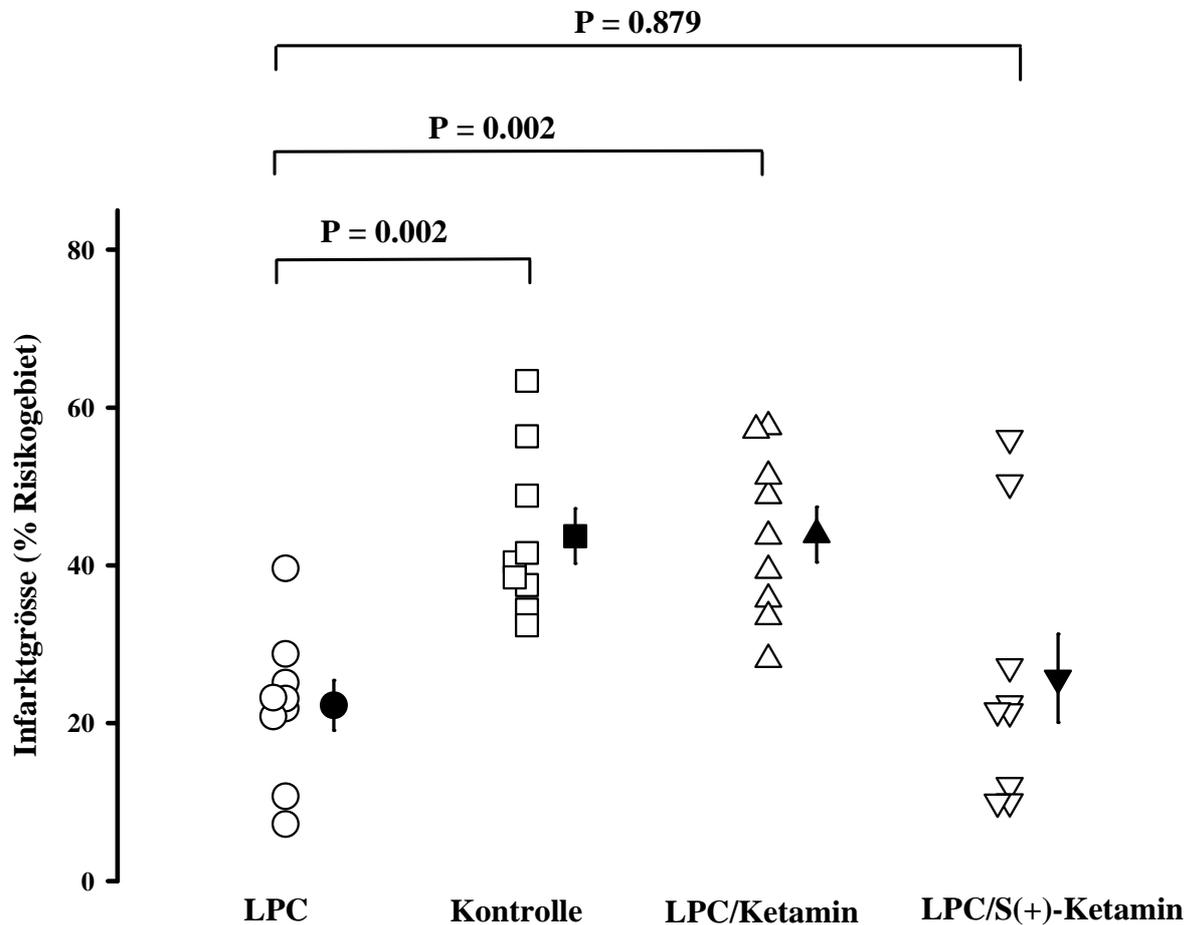
Die Vorbehandlung mit Ketamin blockierte diesen protektiven Effekt der LPC. Die Infarktgröße in der LPC/Ketamin-Gruppe betrug  $44 \pm 3\%$  ( $P=0.002$  vs. LPC).

Im Gegensatz dazu beeinflusste die Verabreichung von S(+)-Ketamin die Infarktgrößenreduktion durch LPC nicht: Die Infarktgrößen waren mit  $26 \pm 6\%$  des Risikogebietes in der LPC/Ketamin-Gruppe nicht signifikant gegenüber der LPC-Gruppe erhöht ( $P=0.88$  vs. LPC).

**Tabelle 2: Gewichte und Risikogebiet.** Angegeben sind die Mittelwerte (MW)  $\pm$  der Standardabweichung (SD),  $n=9$  in jeder Gruppe, LPC=Späte Preconditionierung, LV=linker Ventrikel;  $^\dagger P < 0.05$  vs. LPC Gruppe.

	Kontrolle		LPC		LPC/Ketamin		LPC/S(+)-Ketamin	
Körpergewicht (g)	2848	$\pm 42$	2905	$\pm 84$	2874	$\pm 45$	2847	$\pm 50$
LV-Gewicht (g)	0.73	$\pm 0.04$	0.71	$\pm 0.04$	0.70	$\pm 0.02$	0.81	$\pm 0.03$
Risikogebiet (g)	0.44	$\pm 0.07$	0.46	$\pm 0.06$	0.43	$\pm 0.06$	0.57	$\pm 0.08$
Risikogebiet/LV (%)	57	$\pm 7$	64	$\pm 6$	61	$\pm 7$	68	$\pm 8$
Infarktgröße (g)	0.18	$\pm 0.03$	0.10	$\pm 0.02$	0.19	$\pm 0.03$ $^\dagger$	0.13	$\pm 0.02$

**Abbildung 5: Infarktgrößen**



Die Abbildung zeigt die Infarktgrößen, angegeben in Prozent des Risikogebietes für die Gruppe der Späten Präkonditionierung (LPC), die Kontrollgruppe sowie für die LPC/Ketamin- und die LPC/S(+)-Ketamin-Gruppe. Die Anzahl der untersuchten Tiere betrug für jede Gruppe n=9. Die offen dargestellten Symbole entsprechen den einzelnen Messwerten, die ausgefüllten Symbole den Mittelwerten  $\pm$  Standardabweichung.

## 4. Diskussion

Das wesentliche Ergebnis unserer Studie ist, dass eine Einzeldosis racemischen Ketamins die kardioprotektive Wirkung von LPC in Kaninchenherzen in vivo blockiert, die Verabreichung von S(+)-Ketamin hingegen nicht. Es kann also davon ausgegangen werden, dass der Einfluss von Ketamin auf die LPC enantiomerspezifisch ist.

### 4.1 Methodenkritik

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

Da Kaninchenherzen nur eine sehr schwach ausgebildete Kollateraldurchblutung besitzen, war es nicht erforderlich, den Kollateralblutfluss im Ischämiegebiet zu bestimmen [67].

Neben dem arteriellen kollateralen Blutfluss besitzt das Kaninchenherz aber weitere Mechanismen der alternativen Sauerstoffversorgung. Hier sind in früheren Studien die Diffusion und der retrograde Blutfluss durch Thebesii-Venen genannt worden [68]. Das Ausbleiben der Infarzierung sehr kleiner Ischämiegebiete lässt sich hierdurch erklären. Bei sehr kleinen Ischämiegebieten sind die Diffusionsstrecken und die Strecken, die das Blut der Thebesii-Venen zurücklegen muss, sehr kurz und ermöglichen deshalb eine Sauerstoffversorgung des Myokards.

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

Die Körpertemperatur der Kaninchen wurde während des gesamten Versuches innerhalb des Perikards gemessen und bei  $38,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$  konstant gehalten. Dies war notwendig, da eine Temperaturabweichung von  $1^\circ\text{C}$  bereits zu einer Veränderung der Infarktgröße von ungefähr 10% führen kann [69].

Alle Tiere wurden mit  $\alpha$ -Chloralose anästhesiert. Diese Form der Anästhesie wird häufig in physiologischen und pharmakologischen Studien eingesetzt [70].

In vorausgegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass  $\alpha$ -Chloralose im Gegensatz zu allen bisher untersuchten volatilen Anästhetika (s. oben) keine antiischämischen Eigenschaften besitzt [71...73] und keine störenden Einflüsse auf die Signaltransduktionskette zu erwarten sind.

Um eine eventuelle Einflussnahme von Anästhetika, Sedativa, Analgetika oder chirurgischem Trauma auf die Signaltransduktionskette der LPC zu vermeiden, wurde die LPC in unserer Versuchsreihe durch eine fünfminütige Myokardischämie am wachen Versuchstier durchgeführt.

Baxter *et al.* konnten bereits nachweisen, dass für unsere Versuchsreihe eine Ischämie dieses Zeitrahmens ausreichend ist, eine späte Präkonditionierung hervorzurufen [74]. Nach einer Studie von Müllenheim *et al.* weist hierbei die einmalige Ischämie gegenüber der PC mit mehreren auf einander folgenden 5minütigen Ischämieepisodes keinen signifikanten Nachteil bzgl. der Infarktgrößenreduktion auf [75].

#### **4.1.1 Ketamin als Bestandteil der Narkose**

Ketamin ist ein Phencyklinderivat, das chemisch den Halluzinogenen nahe steht. Ketamin (Ketanest<sup>®</sup>) enthält als racemisches Gemisch die beiden Enantiomere S(+)-Ketamin und R(-)-Ketamin. Die Stereoisomere besitzen unterschiedliche Eigenschaften, aber eine ähnliche Kinetik. Das optische Isomer S(+)-Ketamin weist eine ungefähr dreimal stärkere analgetische und anästhetische Potenz sowie verkürzte Aufwachzeiten im Vergleich zum R(-)-Ketamin auf. Die halluzinogenen Eigenschaften sind auf das R(-)-Enantiomer zurückzuführen. Ketamin entfaltet seine Wirkung über die Interaktion mit zentralen und peripheren Rezeptoren des Nervensystems, wobei die Substanz keine absolute Selektivität für einen bestimmten Rezeptortyp aufweist.

In der Klinik findet Ketamin als intravenöses Anästhetikum Anwendung, kann aber auch i. m. appliziert werden. Zum Einsatz kommt es hauptsächlich zur Analgesie und Anästhesie in der Notfallmedizin sowie zur Einleitung und Durchführung einer Allgemeinanästhesie bei Schockpatienten.

Ketamin ruft eine dissoziative Anästhesie hervor; der Patient scheint von seiner Umgebung abgekoppelt zu sein, ohne dass ein normaler Schlafzustand eintritt. Dabei kommt es zu einer ausgeprägten Analgesie und Amnesie.

Unter der Annahme, dass der inhibitorische Effekt auf LPC durch Ketamin bzw. S(+)-Ketamin konzentrationsabhängig ist, wurden bei den Versuchstieren der verschiedenen Gruppen gleiche Plasmakonzentrationen des jeweiligen Medikamentes angestrebt.

Hierzu haben wir den Kaninchen zehn Minuten vor der 30-minütigen Koronarokklusion eine  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  Bolusinjektion i.v. verabreicht, was zu einem vergleichbaren Plasmaspiegel führt wie nach Gabe einer üblichen Dosis bei Patienten ( $2 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

Da die verschiedenen Isomere von Ketamin, wie oben beschrieben, jeweils unterschiedliche anästhetische Potenzen aufweisen, wurden somit keine äquianästhetischen Plasmaspiegel erreicht. Es ist möglich, dass der resultierende Unterschied in der Narkosetiefe das Ausmaß der myokardialen Ischämie beeinflusst hat.

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

Trotz des sympathomimetischen Effekts hat Ketamin auch eine direkte myokarddepressive Wirkung. *In vitro* Untersuchungen legen nahe, dass Ketamin dosisabhängig [76] eine direkte negativ inotrope und chronotrope Wirkung zeigt, die bei Überdosierung überwiegt und zu Blutdruckabfällen führt. Durch eine Verringerung der myokardialen Inotropie könnte es zu einer erhöhten Toleranz des Herzens gegen die Folgen einer Ischämie kommen.

Aufgrund der erhöhten Verfügbarkeit von Katecholaminen bewirkt S(+)-Ketamin eine geringere kardiodepressive Wirkung als das Razemat [77]. Auch diese Tatsache könnte sich auf die Infarktgrößen ausgewirkt haben:

Es ist bekannt, dass  $\alpha$ -Sympathomimetika über eine Erhöhung des Katecholaminspiegels im synaptischen Spalt IPC induzieren können. Vermittelt wird dieser Prozess aufgrund einer möglichen Verbindung zwischen adrenergen Rezeptoren und  $\text{K}^+$ -ATP-Kanälen [78]. Eher gegen diese Annahmen spricht

allerdings die gemessene Hämodynamik: Die Gabe von racemischen bzw. S(+)-Ketamin bewirkte zwar zunächst eine (gleichgroße) Abnahme von LVSD und HZV, beide Parameter erholen sich jedoch vor der 30minütigen Ischämie wieder auf Ausgangswerte. FDP und  $dP/dt_{max}$  als Hauptdeterminanten des myokardialen Sauerstoffbedarfs waren über die gesamte Ischämieperiode in allen Gruppen vergleichbar.

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

#### **4.1.2 Beeinflussung durch den Reperfusionsschaden**

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

Es ist bekannt, dass einige Anästhetika den Mechanismus des Reperfusionsschadens unmittelbar beeinflussen [79; 80]. Die direkte Wirkung von Ketamin auf den myokardialen Reperfusionsschaden wurde bislang nicht ausreichend untersucht.

Postischämische endotheliale Ablagerungen von Neutrophilen im Koronarsystem sind wesentlich an der Entstehung des Reperfusionsschadens beteiligt [81]. Szekely *et al.* berichten in ihrer Studie an isolierten Meerschweinchenherzen von einer von S(+)-Ketamin hervorgerufenen Abnahme postischämischer Ablagerungen Neutrophiler im Koronarsystem, während es durch R(-)-Ketamin zu einer Zunahme der Ablagerungen kommt [82]. Dies hat eine Zunahme des Reperfusionsschadens bei mit R(-)-Ketamin behandelten Tieren zur Folge. Die Verringerung des Reperfusionsschadens könnte somit bei dem mit S(+)-Ketamin behandelten Tieren zur Reduktion der Infarktgröße *in vivo* beigetragen haben.

### **4.1.3 Infarktgrößenbestimmung und Dauer der Reperfusion**

Die Bestimmung der Infarktgröße mittels der Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung ist eine anerkannte und zuverlässige Methode zur Anfärbung von Myokardinfarkten [83; 84].

In vitalem Myokard wird TTC zu einem roten Formazanfarbstoff reduziert. Hierbei reagiert TTC mit membranständigen Diaphorasen, die NADH und NADPH als Ko-Faktoren benötigen. Bei frischen Infarkten fehlen diese Ko-Faktoren, so dass die Reduzierung des TTC und somit die Bildung des roten Farbkomplexes verhindert wird. Bei älteren Infarkten spielt darüber hinaus das Fehlen der Diaphorasen und Dehydrogenasen eine wichtige Rolle bei dieser Färbetechnik.

Mit Beginn der Reperfusion werden die Ko-Faktoren aus nekrotischen Zellen ausgewaschen. Dadurch werden nur vitale Zellen, die noch intakte Zellmembranen besitzen, rot gefärbt. Ist die Reperusionszeit zu kurz, werden nicht alle Ko-Faktoren aus den nekrotischen Zellen ausgespült, so dass fälschlicherweise zu kleine Infarktgebiete bestimmt werden könnten.

## 4.2 Ergebnisinterpretation

Wie in der Einführung deutlich gemacht, gibt es eine ganze Reihe von Stimuli, die in allen bisher untersuchten Säugetierarten sowie nach neuesten Untersuchungen auch beim Menschen eine Kardioprotektion durch PC induzieren. In der aktuellen Untersuchung führte eine fünfminütige Koronarokklusion 24 Stunden vor der infarktinduzierenden Ischämie zu einer Abnahme der Infarktgröße von  $44\pm 3\%$  des Risikogebietes der Kontrollgruppe auf  $22\pm 3\%$ . Ganz ähnliche Werte erzielte unsere Arbeitsgruppe in einer vergleichbaren Studie durch EPC [65]. In der letztgenannten Studie vermochte die einmalige Gabe von Ketamin kurz vor der EPC, diesen protektiven Effekt aufzuheben. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zu den Infarktgrößen der Kontrollgruppe ohne EPC.

An diese Ergebnisse anknüpfend sollte in der vorliegenden Versuchsreihe nun die Wirkung von racemischen bzw. von S(+)-Ketamin auf die klinisch bedeutsamere LPC untersucht werden.

Obwohl der genaue Signaltransduktionsweg der LPC noch nicht vollständig geklärt ist, ist die NO-Hypothese von Bolli *et al.* [4] mittlerweile allgemein akzeptiert.

Abbildung 6 zeigt eine vereinfachte Darstellung der heute postulierten LPC-Transduktionskaskade.

Durch die kurze Ischämie bei der Präkonditionierung steigt die Bildung von NO und von Sauerstoffradikalen [4; 42; 85]. Diese dienen ebenso wie z. B. die endogene oder pharmakologische Aktivierung von Adenosinrezeptoren [9; 45; 46; 86] als "Trigger" des LPC. Sie aktivieren eine komplexe Signaltransduktionskaskade, innerhalb derer die Proteinkinase C (PKC) [87; 88], Tyrosinkinasen [89; 90] und möglicherweise MAP-Kinasen [91] aktiviert werden.

Diese Enzymaktivierung führt zu einer Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B, was zu einer erhöhten Transkription verschiedener kardioprotektiver Gene und einer vermehrten Synthese verschiedener kardioprotektiver Proteine führt [92]. Dazu gehören die induzierbare NO-Synthase (iNOS), die Cyclooxygenase 2 (COX-2) [93], die Aldosereduktase und die Superoxiddismutase (SOD) [94].

Der nächste entscheidende Schritt in der Signaltransduktionskaskade ist das Öffnen von mitochondrialen  $K^+_{ATP}$ -Kanälen [57; 95; 96]. Die genauen Mechanismen, wie die genannten Mediatoren zu einer Öffnung dieser Kanäle führen, sind noch nicht vollständig aufgeklärt. Besonders wichtig ist jedenfalls die vermehrte Bildung

von NO in der der LPC folgenden prolongierten Ischämiephase aufgrund der vermehrt vorliegenden iNOS [97].

Die Aktivierung dieser  $K^+_{ATP}$ -Kanäle führt über einen ebenfalls noch nicht genau bekannten Mechanismus zu der beobachteten Kardioprotektion [98; 113].

Eine einmalige Bolusinjektion von Ketamin reicht aus, die kardioprotektiven Effekte der LPC im Kaninchenherzen in vivo zu blockieren.

Es werden verschiedene mögliche Angriffspunkte für Ketamin in dieser Kaskade vermutet:

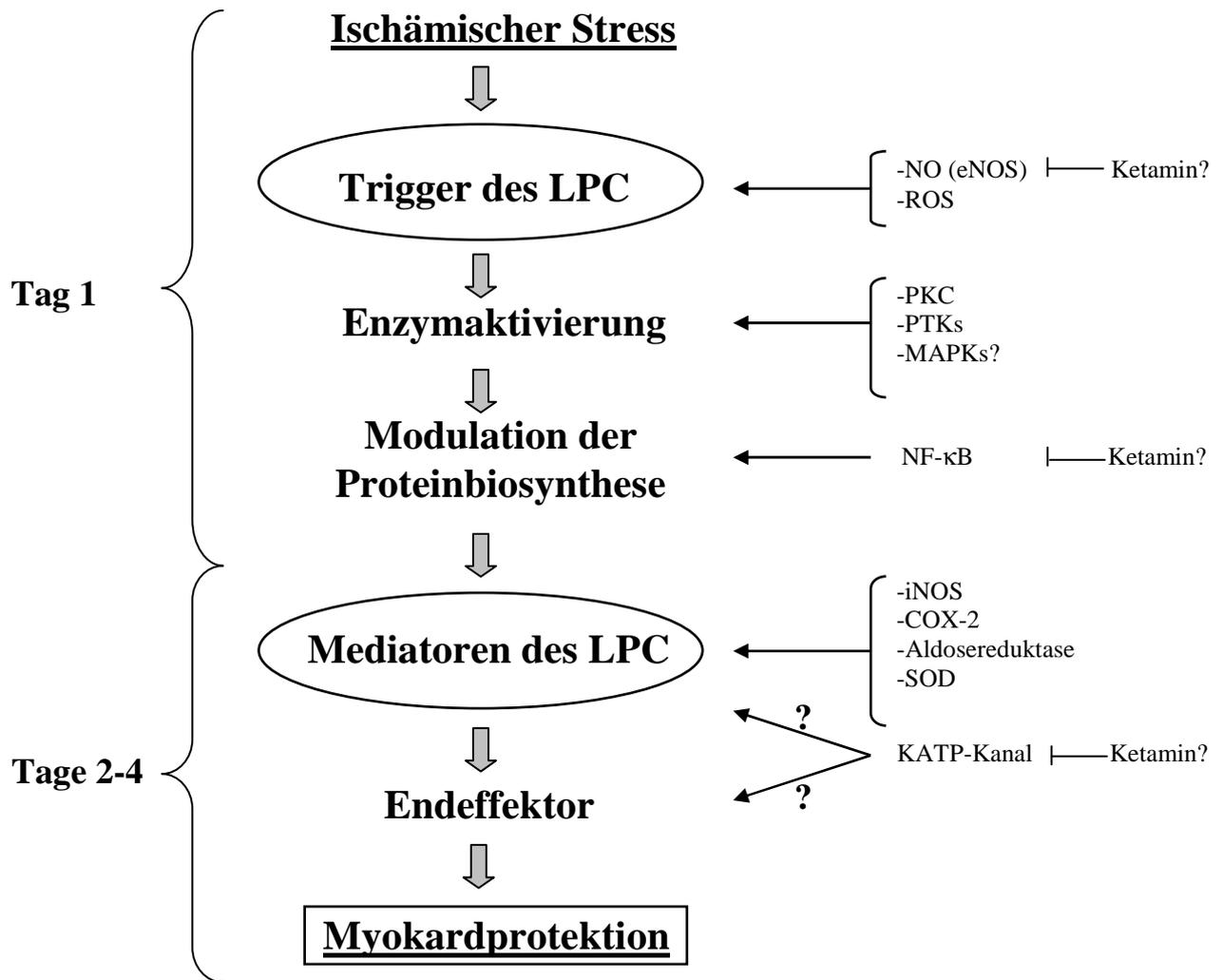
Zum einen wurde beschrieben, dass Ketamin die NO-Synthase in mit Lipopolysaccharid behandelten Alveolarmakrophagen hemmt [99] und ihre Aktivität in menschlichen Leukozyten herabsetzt [100]. Des Weiteren hemmt Ketamin die durch Endotoxine gesteigerte Bildung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B [101]. Außerdem konnte für Ketamin ein konzentrationsabhängig hemmender Effekt auf  $K^+_{ATP}$ -Kanäle in isolierten Herzmuskelzellen gezeigt werden [102].

Der von Müllenheim *et al.* hierbei für die EPC bereits nachgewiesene blockierende Effekt von Ketamin ist stereospezifisch. Die blockierende Wirkung wird durch das R(-)-Enantiomer verursacht [65].

Unsere Ergebnisse zeigen nun, dass die Verabreichung von S(+)-Ketamin vor der 30-minütigen Ischämie die kardioprotektive Wirkung der LPC in vivo nicht beeinflusst.

Da die Versuchsreihe keine signifikanten Differenzen bezüglich Körperkerntemperatur, hämodynamischen Parametern oder Größe des Risikogebietes aufweist, können die Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich der Infarktgröße nicht von genannten Parametern herrühren.

**Abbildung 6:** Signaltransduktionsweg der LPC



- |                          |                                  |
|--------------------------|----------------------------------|
| NO:                      | Stickstoffmonoxyd                |
| ROS:                     | Reaktive Sauerstoffspezies       |
| PKC:                     | Protein Kinase C                 |
| PTKs:                    | Tyrosinkinase                    |
| MAPKs:                   | Mitogen-aktivierte Proteinkinase |
| NF-κB:                   | Transkriptionsfaktor             |
| COX 2:                   | Cyclooxygenase-2                 |
| SOD:                     | Superoxiddismutase               |
| K <sub>ATP</sub> -Kanal: | ATP-sensitiver Kaliumkanal       |

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

Trotz dieser Erkenntnisse ist es nicht möglich, den genauen Mechanismus der blockierenden Wirkung von Ketamin auf LPC zu beschreiben.

Es scheint jedenfalls unwahrscheinlich, dass der inhibitorische Effekt von Ketamin auf die NO-Synthase und auf die NF- $\kappa$ B Aktivität zu der Blockierung der LPC führt, weil die genannten Proteine 24 Stunden nach der präkonditionierenden Ischämie, also zur Zeit der Ketamingabe, bereits gebildet worden sind [103].

Ketamin greift also höchstwahrscheinlich in spätere Schritte der Signaltransduktionskette ein. In der Einführung wurde bereits die Bedeutung ATP-sensitiver Kaliumkanäle in der gemeinsamen Endstrecke der verschiedenen PC-Formen angesprochen. Die  $K^+$ <sub>ATP</sub>-Kanäle kommen im Herzen sowohl in sarkolemmalen als auch in mitochondrialen Membranen vor und bestehen aus zwei Hauptkomponenten [104]. Die eine Komponente ist eine einwärtsgerichtete Kaliumkanaleinheit, von denen jeweils vier eine Kanalpore bilden. Die zweite Komponente wird durch Sulfonylharnstoffrezeptoren gebildet. Müllenheim *et al.* und Bernado *et al.* haben die entscheidende Bedeutung der Öffnung von mitochondrialen und/oder sarkolemmalen  $K^+$ <sub>ATP</sub>-Kanälen bei der Vermittlung der LPC induzierten Kardioprotektion gezeigt [96; 105].

In isolierten Zellen konnte eine Blockierung sarkolemmaler  $K^+$ <sub>ATP</sub>-Kanäle durch Zugabe von Ketamin direkt nachgewiesen werden [106]. Die Beteiligung der  $K^+$ <sub>ATP</sub>-Kanäle an der Wirkung von Ketamin auf die LPC ist also sehr wahrscheinlich. Die Stereoselektivität dieser Wirkung lässt einen rezeptorvermittelten Mechanismus vermuten. In einer weiteren Studie fanden Inagaki *et al.* heraus, dass das Öffnen von sarkolemmalen und/oder mitochondrialen Kanälen durch Liganden an den Sulfonylharnstoffrezeptoren der Kaliumkanäle selbige blockieren können [107]. Hier scheinen vor allem die mitochondrialen  $K^+$ <sub>ATP</sub>-Kanäle von Bedeutung zu sein. Garlid *et al.* konnten mit dem Kaliumkanalöffner Diazoxide eine der PC ähnliche Myokardprotektion nachweisen, wobei sich zeigte, dass Diazoxide etwa 1.000 mal sensitiver mitochondriale als sarkolemmale  $K^+$ <sub>ATP</sub>-Kanäle öffnet [108].

Der Sulfonylharnstoffrezeptor kann als bisher einziger bekannter Rezeptor mit blockierender Wirkung auf  $K^+$ <sub>ATP</sub>-Kanäle somit als möglicher Überträger der R(-)-Ketamin vermittelten Effekte angenommen werden.

Diese Annahme deckt sich auch mit einer anderen Studie unserer Arbeitsgruppe, in der die Blockierung des kardioprotektiven Effekts der EPC durch Ketamin in isolierten Rattenherzen untersucht wurde [64]. EPC führte in dieser

Studie zu einer verbesserten Erholung der Herzfunktion und zu einer reduzierten CK-Freisetzung gegenüber der Kontrollgruppe ohne EPC. Durch die Verabreichung von Ketamin in klinisch relevanter Dosis wurden diese Effekte wieder aufgehoben. Hier erfolgte die Blockade ebenfalls nur bei Verabreichung des R(-)-, nicht aber durch das S(+)-Ketamin-Enantiomer.

Die Ergebnisse bzgl. der stereoselektiven Wirkung des Ketamins auf EPC konnten wir auch für Kaninchenherzen *in vivo* bestätigen [65]. Eine durch fünfminütige Okklusion einer Koronararterie hervorgerufene EPC eine Viertelstunde vor der 30-minütigen Ischämie wurde durch Ketamin enantiomerspezifisch geblockt.

Die vorliegende Studie weitet die gefundenen Ergebnisse auf die Effekte von Ketamin auf die klinisch bedeutsamere LPC aus.

Hierbei wurden nur die Auswirkungen auf die Infarktgrößen und die Hämodynamik bei vorausgegangener Präkonditionierung untersucht, nicht aber evtl. Auswirkungen von Ketamin auf die Infarktgröße alleine, das heißt ohne vorausgegangene LPC. Wir können jedoch ausschließen, dass Ketamin die Kardioprotektion einfach nur durch einen proischämischen Effekt aufhebt, da bereits gezeigt wurde, dass eine Applikation von  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  Ketamin vor einer Ischämie ohne Präkonditionierung keinen Einfluss auf die resultierenden Infarktgrößen hat [65].

Trotz der signifikanten Reduktion der Infarktgröße durch die LPC konnten wir keine positiven Auswirkungen auf die Erholung der myokardialen Funktion zeigen. So beobachteten wir in der zweistündigen Reperfusionphase keinen protektiven Effekt durch LPC gegenüber myokardialem Stunning wie sie von Bolli *et al.* nach LPC beschrieben wurde [109]. Im Unterschied zu unserer Studie setzten Bolli *et al.* die Herzen allerdings keiner längeren infarktinduzierenden Ischämie aus, sondern erzielten die Dysfunktion durch mehrfache fünfminütige Koronarokklusion und anschließender vierminütiger Reperfusion an drei aufeinanderfolgenden Tagen.

Wir gehen davon aus, dass sich die Auswirkungen der durch LPC verringerten Infarktgröße auf die Erholung der myokardialen Funktion erst zu einem späteren Zeitpunkt manifestieren und somit außerhalb unseres Untersuchungsfensters liegen.

Diese Annahme stützt sich auf die Ergebnisse einer Studie von Cohen *et al.* [110]. Diese präkonditionierten die Kaninchen ihrer Versuchsreihe durch eine fünfminütige Ischämie gefolgt von einer infarktauslösenden 30-minütigen Koronarokklusion. Die Tiere wurden drei Tage lang nachbeobachtet, in denen regelmäßig der Verlauf der Wandverdickungsfraction als zuverlässiges Maß der

kontraktilen Funktion mittels Ultraschall-Dopplerkristallen gemessen und registriert wurde. Cohen *et al.* stellten fest, dass eine bessere funktionelle Erholung des Myokards entsprechend der Infarktgrößenreduktion durch LPC erst ein bis drei Tage später in Erscheinung tritt.

Dies beruhe darauf, dass sich das Myokard nach der Ischämie im Stadium der reversiblen kontraktilen Dysfunktion (Stunning) befand. Erst nach etwa 24 Stunden bildete sich das Stunning zurück und es konnten Unterschiede hinsichtlich der Funktionserholung registriert werden. Sie führten die verbesserte Funktionserholung auf die durch LPC verkleinerten Infarktgebiete zurück. Cohen *et al.* machten keine Angaben zur globalen Herzfunktion wie Ventrikeldruck oder  $dp/dt_{max}$ .

In der hier vorliegenden Studie konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich dieser Parameter beobachtet werden. Grund hierfür dürfte wie gesagt das mit nur zwei Stunden Reperfusionzeit in unserer Studie zu kleine Untersuchungsfenster für den Nachweis unterschiedlicher myokardialer Funktionserholungen sein.

Nach wie vor beruhen die bisherigen Kenntnisse über die genauen Reaktionswege der LPC auf Laborversuchen und die hundertprozentige Übertragbarkeit auf den Menschen wird man auch in naher Zukunft kaum führen können. Dennoch konnten in den letzten Jahren zahlreiche *in vitro*- sowie klinische Studien belegen, dass auch das menschliche Myokard vor einer prolongierten Ischämie von einer ischämischen und/oder pharmakologischen PC profitiert. Neben den oben aufgeführten neueren Studien konnten Kloner *et al.* schon 1995 bei Myokardinfarktpatienten mit Präinfarktangina und ausreichend früher Reperfusion ein signifikant höheres HZV nach dem Infarkt nachweisen [111].

Unter diesen Gesichtspunkten ist es von großer praktischer Bedeutung, bei entsprechend prädisponierten Patienten jene Medikamente zu vermeiden, die dieser endogenen Kardioprotektion entgegenwirken und nach Möglichkeit solche zu bevorzugen, die die Kardioprotektion vielleicht sogar induzieren und verstärken. Dies trifft insbesondere für die perioperative Zeit zu, in der die Patienten besonders anfällig für myokardiale Ischämie und Infarzierung sind.

Die negativen hämodynamischen Auswirkungen und Auswirkungen auf die Infarktgröße durch Blockade der  $K^+_{ATP}$ -Kanäle haben zu der Annahme geführt, dass  $K^+_{ATP}$ -Agonisten vielleicht zu einer verbesserten Kardioprotektion in der Herz-/Gefäß- und Neurochirurgie führen könnten. Für einige Inhalationsanästhetika sowie für

Opioide liegen ja bereits eindrucksvolle Ergebnisse bzgl. der Kardioprotektion vor, die es in der Zukunft durch weitere klinische Studien zu untermauern gilt.

Ziel muss es sein, auch weitere Pharmaka oder auch Stoffwechselprozesse, die PC unterstützen bzw. blockieren zum Gegenstand zukünftiger Untersuchungen zu machen, um diesen starken endogenen Protektionmechanismus zur Einschränkung des myokardialen Zelltodes verstärkt auszunutzen.

Eine aktuelle Studie unserer Arbeitsgruppe konnte bspw. zeigen, dass auch akute und chronische Hyperglykämien in den Transduktionsweg der LPC eingreifen. Ebel *et al.* wiesen hierbei für beide Hyperglykämieformen eine Aufhebung des kardioprotektiven Effektes durch LPC nach [112]. Hier liegt also ein weiterer Ansatzpunkt für weiterführende klinische Studien.

## 5. Literaturverzeichnis:

1. Strasser R, Vogt A, Schaper W: Myokardprotektion durch Präkonditionierung. Experimentelle und klinische Bedeutung. Zeitschrift für Kardiologie 1996; 85: 79-89
2. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986; 74: 1124-36
3. Marber MS, Latchmann DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. Circulation 1993; 88: 1264-1272
4. Bolli R, Dawn B, Tang XL, et al.: The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. Bas Res Cardiol. 1998; 93: 325-38
5. Liu Y, Downey JM: Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. Am J Physiol. 1992; 263: H1107-H1112
6. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AW, Olsson RA, Downey JM: Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A<sub>1</sub> adenosine receptors in rabbit heart. Circulation 1991; 84: 350-356
7. Vahlhaus C, Schulz R, Post H, Onallah R, Heusch G: No prevention of ischemic preconditioning by protein kinase C inhibitor staurosporine in swine. Circ Res. 1996; 79: 407-414
8. 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 1994; 89: 1237-46
9. Takano H, Bolli R, Tang X-L, Yang Z, Black R, Auchampach J: Activation of A<sub>1</sub> or A<sub>3</sub> receptors produces delayed protection against infarction in conscious rabbits by a mechanism involving K<sub>ATP</sub>-channels. Circulation 1999; 100: I-56
10. Bernado NL, Okubo S, Maaieh MM, Wood MA, Kukreja RC: Delayed preconditioning with adenosine is mediated by opening of ATP sensitive K<sup>+</sup>-channels in rabbit heart. Am J Physiology 1999; 277: H125-H135
11. Baxter GF, Yellon DM: ATP sensitive K<sup>+</sup>-channels mediate the delayed cardioprotection of adenosine A<sub>1</sub>-receptor activation. J Moll Cell Cardiol. 1999; 31: 981-989

12. Tsuchida A, Liu A, Liu GS, Cohen MV, Downey JM: Alpha-1-adrenergic agonists precondition rabbit myocardium independent of adenosine by direct activation of protein kinase C. *Circulation Research* 1994; 75: 576-85
13. Yao Z, Gross GJ: Acetylcholine mimics ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in dogs. *Am J Physiol.* 1993; 264: H2221-H2225
14. Schultz JJ, Hsu AK, Gross GJ: Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. *Circulation Research* 1996; 78: 1100-1104
15. Hartmann JC, Wall TM, Hulliger TG, Shebuski RJ: Reduction of myocardial infarct size in rabbits by ramiprilat: Reversal by the bradykinin antagonist HOE 140. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1993; 21: 996-1003
16. Yamashita N, Hoshida S, Taniguchi N, Kuzuya T, Hori M: Whole-body hyperthermia provides biphasic cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in the rat. *Circulation* 1998; 98: 1414-1421
17. Joyeux-Faure M, Arnaud C, Godin-Ribuot D, Ribuot C: Heat stress preconditioning and delayed myocardial protection-what is new? *Cardiovasc Res.* 2003; 60: 469-477
18. McClanahan TB, Nao BS, Wolke LJ, Martin BJ, Metz TE, Gallagher KP: Brief renal occlusion and reperfusion reduces myocardial infarct size in rabbits. *FASEB* 1993; 7: A118
19. Gho BC, Schoemaker RG, van den Doel MA, Duncker DJ, Verdouw PD: Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation* 1996; 94: 2193-2200
20. Müllenheim J, Schlack W, Fräßdorf J, Heinen A, Preckel B, Thämer V: Additive protective effects of late and early preconditioning are mediated by the opening of  $K_{ATP}$ -channels in vivo. *Pflugers Arch.* 2001; 442: 178-187
21. Müllenheim J, Ebel D, Bauer M, Otto F, Heinen A, Fräßdorf J, Preckel B, Schlack W: Sevoflurane confers additional cardioprotection after ischemic late preconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 2003; 99: 624-631
22. Arstall MA, Zhao YZ, Hornberger L, et al.: Human ventricular myocytes in vitro exhibit both early and delayed preconditioning responses to simulated ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 1019-25

23. Carr CS, Hill RJ, Masamune H, Kennedy SP, Knight DR, Tracey WR, Yellon DM: Evidence for a role for both A<sub>1</sub> and A<sub>3</sub>-receptors in protection of isolated human atrial muscle against stimulated ischemia. *Cardiovasc Res.* 1997; 36: 52-59
24. Speechly-Dick ME, Grover GJ, Yellon DM: Does ischemic preconditioning in human involve protein kinase C and the ATP dependent K<sup>+</sup>-channel? Studies of contractile function after stimulated ischemia in an atrial in vitro model. *Circ Res.* 1995; 77: 1030-1035
25. Cleveland JC, Meldrum DR, Cain BS, Banerjee A, Harken AH: Oral sulfonylurea hypoglycemic agents prevent ischemic preconditioning in human myocardium. Two paradoxes revisited. *Circulation* 1997; 96: 29-32
26. Morris SD, Yellon DM: Angiotensin-converting-enzyme inhibitors potentiate preconditioning through bradykinin B<sub>2</sub> receptor activation in human heart. *J Am Coll Cardiol.* 1997; 29: 1599-1606
27. Kloner RA, Shook T, Antman EM, Cannon CP, Przyklenk K, Yoo K, McCabe CH, Braunwald E, TIMI-9B investigators: Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome. *Circulation* 1998; 97: 1042-5
28. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, Burstein S, Gibson M, Poole WK, Cannon CP, McCabe CH, Braunwald E, TIMI 4 Investigators: Previous angina alters in hospital outcome in TIMI 4. *Circulation* 1995; 91: 37-47
29. Okazaki Y, Kodama K, Sato H, Kitakaze M, Hirayama A, Mishima M, Hori M, Inoue M: Attenuation of increased regional myocardial oxygen consumption during exercise as a major cause of warm-up phenomenon. *J Am Coll Cardiol.* 1993, 21: 1597-1604
30. Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld J, Herrmann HC, Laskey WK: Adaption to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation* 1990; 82: 2044-2051
31. Leeser MA, Stoddard MF, Manchikalapudi S, Bolli R: Bradykinin induced preconditioning in patients undergoing coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol.* 1999; 34: 639-650
32. Leeser MA, Stoddard MF, Ahmed M et al.: Preconditioning of human myocardium with adenosine during angioplasty. *Circulation* 1997; 95: 2500-2507

33. Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, Downey JM: Volatile anesthetics protects the ischemic rabbit heart myocardium from infarction. *Anesthesiology* 1997; 86: 699-709
34. Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of  $K_{ATP}$ -channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology* 1997; 87: 361-370
35. Toller WG, Kersten JR, Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC: Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases time threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Anesthesiology* 1999; 91: 1437-1446
36. Novalija E, Fujita S, Kampine JP, Stowe DF: Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology* 1999; 91: 701-712
37. Toler WG, Gross ER, Kersten JR, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate-dependent potassium channels – Mechanism of desflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 2000; 92:1731-1739
38. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasché P: Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999; 100: 340-344
39. Tomai F, Crea F, Gaspardone A et al.: Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamide, a selective ATP-sensitive  $K^+$ -channel blocker. *Circulation* 1994; 90: 700-705
40. Tomai F, Danesi A, Ghini AS, Gaspardone A, Ruggeri G et al.: Blockade of ATP-sensitive  $K^+$ -channels prevents the warm-up phenomenon. *Eur Heart J* 1997; 18: 674
41. Tomai F, Crea F, Gaspardone A et al.: Effects of naloxone on myocardial ischemic preconditioning in humans. *J Am Coll Cardiol.* 1999; 33: 1863-1869
42. Bolli R: The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase: an overview. *Basis Res Cardiol.* 1996; 91: 57-63
43. Cohen MV, Yang XM, Downey JM: Conscious rabbits become tolerant to multiple episodes of ischemic preconditioning. *Circ Res.* 1994; 74: 998-1004

44. Tsuchida A, Thompson R, Olsson RA, Downey JM. The anti-infarct effect of an adenosine A<sub>1</sub>-selective agonist is diminished after prolonged infusion as is the cardioprotective effect of ischemic preconditioning in rabbit heart. *J Moll Cell Cardiol.* 1994; 26: 303-311
45. Baxter GF, Yellon DM: Time course of delayed myocardial protection after transient adenosine A<sub>1</sub>-receptor activation in the rabbit. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1997; 29: 631-638
46. Dana A, Baxter GF, Walker JM, Yellon DM: Prolonging the delayed phase of myocardial protection: repetitive adenosine A<sub>1</sub>-receptor activation maintains rabbit myocardium in an preconditioned state. *J Am Coll Cardiol.* 1998; 31: 1142-1149
47. Yao ZH, Tong J, Tan XH, Li CQ, Sha ZH, Kim WC, Vanden Hoek TL, Becker LB, Head CA, Schumacker PT: Role of reactive oxygen species in acetylcholine-induced preconditioning in cardiomyocytes. *Am J Physiol.* 1999; 277: H2505-H2509
48. McPherson BC, Yao ZH: Morphine mimics preconditioning via free radical signals and mitochondrial K<sup>+</sup><sub>ATP</sub> -channels in myocytes. *Circulation* 2001; 103: 290-295
49. Yang XM, Sato H, Downey JM, Cohen MV: Protection of ischemic preconditioning is dependent upon a critical timing sequence of protein kinase C activation. *J Moll Cell Cardiol.* 1997; 29: 915-920
50. Gopalakrishna R, Anderson WB: Ca<sup>2+</sup>- and phospholipid-independent activation of protein kinase C by selective oxydative modification of the regulatory domain. *Proc Nat Acad Sci USA* 1989; 86: 6758-6762
51. Baines CP, Wang L, Cohen MV, Downey JM: Protein tyrosine kinase is downstream of protein kinase C for ischemic preconditioning's anti-infarct effect in the rabbit heart. *J Moll Cell Cardiol.* 1998; 30: 383-392
52. Freyer RM, Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ: Pretreatment with tyrosine kinase inhibitors partially attenuates ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol.* 1998; 275: H2009-H2015
53. Weinbrenner C, Liu GS, Cohen MV, Downey JM: Phosphorylation of tyrosine 182 of p38 mitogen-activated protein kinase correlates with the protection of preconditioning in the rabbit heart. *J Moll Cell Cardiol.* 1997; 29: 2383-2391

54. Downey JM, Cohen MV: Do(?) mitochondrial K<sub>ATP</sub> channels serve as triggers rather than end-effectors of ischemic preconditioning's protection. *Basic Res Cardiol.* 2000; 95: 272-274
55. Hattori R, Otani H, Uchiyama T, Imamura H, Cui J, Maulik N, Cordis GA, Zhu L, Das DK: Src tyrosine kinase is the trigger but not the mediator of ischemic preconditioning. *Am J Physiol.* 2001; 281: H1066-H1074
56. Maulik N, Yoshida T, Zu YL, Sato M, Banarjee A, Das DK: Ischemic preconditioning triggers tyrosine kinase signaling: a potential role for MAPKAP kinase 2. *Am J Physiol.* 1998; 275: H1857-H1864
57. Müllenheim J, Schlack W, Fräßdorf J, Heinen A, Thämer V: Additive protective effects of late and early ischaemic preconditioning are mediated by opening of K<sub>ATP</sub> -channels in vivo. *Eur J Physiol.* 2001; 442: 178-187 siehe 20 !
58. Hoag JB, Quian YZ, Nayeem MA, D'Angelo M, Kukreja RC: ATP-sensitive potassium channel mediates delayed ischemic protection by heat stress in rabbit heart. *Am J Physiol.* 1997; 273: H2458-H2464
59. Pell TJ, Baxter GF, Yellon DM, Drew GM: Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosin receptors and ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol.* 1998; 275: H1542-H1547
60. Kohro S, Hogan QH, Nakae Y, Yamakage M, Bosnjak ZJ: Anesthetic effects on mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup>-channel. *Anesthesiology* 2001; 95: 1435-1440
61. Kozlowski RZ, Ashford MLJ: Barbiturates inhibit ATP-K<sup>+</sup>-channels and voltage activated currents in CRI-G1 insulin secreting cells. *Br J Pharmacol.* 1991; 103: 2021-2029
62. Zaugg M, Luchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC: Differential effects of anesthetics on mitochondrial K<sub>ATP</sub>-channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002; 97: 15-23
63. Ko SH, Lee SK, Han YJ, Choe H, Kwak YG, Chae SW, Cho KP, Song HS: Blockade of myocardial ATP-sensitive potassium channels by ketamine. *Anesthesiology* 1997; 87: 68-74
64. Molojavyi A, Preckel B, Comfère T, et al. Effects of ketamine and its isomers on ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *Anesthesiology* 2001; 94: 623-629

65. Müllenheim J, Fräßdorf J, Preckel B, et al.: Ketamine, but not S(+)-ketamine blocks ischemic preconditioning in rabbit hearts in vivo. *Anesthesiology* 2001; 94:630-636
66. Sakai T, Hill GE, Kudoh A et al.: NF $\kappa$ B is a possible mechanism for proinflammatory cytokines release in trauma patients. *Anesthesiology* 1999; 3A: A226
67. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM: Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Circulation Research* 1987; 21: 737-746
68. Ytrehus K, Liu Y, Tsuchida A, Miura T, Liu GS, Yang XM, Herbert D, Cohen MV, Downey JM: Rat and rabbit heart infarction: effects of anesthesia, perfusate, risk zone and method of infarct sizing. *Am J Physiology* 1994;267: H2383-2390
69. Chien GL, Wolff RA, Davis RF, van WD: "Normothermic range" temperature affects myocardial infarct size. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1014-17
70. Harvey RC, Walker MJ: Species considerations for anesthesia in research animals. In: Short CE (ed): *Principles and Practice of Veterinary Anesthesia*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1987, pp 380-92
71. Rath DP, Little CM, Zhang H, Jiang Z, Abduljalil AM, Zhu H, Tong X, Brown C, Hamlin RL, Robitaille PM: Sodium pentobarbital versus alpha-chloralose anesthesia. Experimental production of substantially different slopes in the transmural CP/ATP ratios within the left ventricle of the canine myocardium. *Circulation* 1995; 91: 471-75
72. Bardaji A, Cica J, Worner F, Schoenenberger A: Effects of anesthesia on acute ischemic arrhythmias and epicardial electrograms in the pig heart in situ. *Circul Res* 1990; 24: 227-31
73. Chakrabarty S, Thomas P, Sheridan DJ: Arrhythmias, haemodynamic changes and extent of myocardial damage during coronary ligation in rabbits anesthetized with halothane, alpha-chloralose or pentobarbitone. *Int J Cardiol* 1991; 31: 9-14
74. Baxter GF, Goma FM, Yellon DM: Characterisation of the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: timecourse and dose-dependency studies in rabbit myocardium. *Bas Res Cardiol* 1997;92:159-67

75. Müllenheim J, Ebel D, Schlack W, Thämer V: Repeated cycles of ischemia are not more effective in producing late preconditioning than one 5-min cycle. *European J of Physiology* 2002; 443: 296 (abstract)
76. Fischer K: Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Narkotika auf das Herz. *Anaesthesiologie und Wiederbelebung* 1973; 69: 11-21
77. Kunst G, Martin E, Graf BN, Hagl S, Vahl CF: Actions of ketamine and its isomers on contractility and calcium transients in human myocardium. *Anesthesiology* 1999; 90: 1363-1371
78. Bankwala Z, Hale SL, Kloner RA: Alpha-adrenoceptor stimulation with exogenous norepinephrine or release of endogenous catecholamines mimics PC. *Circulation* 1994; 90: 1023-1028
79. Schlack W, Hollmann M, Stunneck J, Thämer V: Effect of halothane on myocardial reoxygenation injury in the isolated rat heart. *Br J of Anaest* 1996; 76: 860-867
80. Schlack W, Preckel B, Barthel H, Obal D, Thämer V: Halothane reduces reperfusion injury after regional ischemia in the rabbit heart in vivo. *Br J of Anaest* 1997; 79: 88-96
81. Jennigs RB, Yellon DM: Reperfusion injury. The pathophysiology of reperfusion and reperfusion injury. Raven press. Ltd. New York 1992; pp 1-11
82. Szekely A, Heindl B, Zahler S, Conzen PF, Becker BF: S(+)-Ketamin, but not R(-)-Ketamin, reduces postischemic adherence of neutrophils in the coronary system of isolated guinea pig hearts, *Anaest Analg* 1999; 88: 1017-1024
83. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Land U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Corday E, Ganz W: Early phase acute myocardial infarct size quantification: Validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J* 1981; 101: 593-600
84. Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ: Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am J Pathol* 1985; 121: 522-30
85. Bolli R: The late phase of preconditioning. *Circulation Res.*; 87: 972-983
86. Baxter GF, Marber MS, Patel VC, Yellon DM: Adenosine receptor involvement in a delayed phase of myocardial protection 24 hours after ischemic preconditioning. *Circulation* 1994; 90: 2993-3000

87. Baxter GF, Goma FM, Yellon DM: Involvement of protein kinase C in the delayed cytoprotection following sublethal ischemia in rabbit myocardium. *Br J Pharmacol.* 1995; 115: 222-224
88. Ping P, Zhang J, Qiu Y, Tang X-L, Manchikalapudi S, Cao X, Bolli R: Ischemic preconditioning induces selective translocation of protein kinase C isoforms  $\epsilon$  and  $\eta$  in the heart of conscious rabbits without subcellular redistribution of total protein kinase C activity. *Circ Res.* 1997; 81: 404-414
89. Imagawa J, Baxter GF, Yellon DM: Genistein, a tyrosine kinase inhibitor, blocks the "second window of protection" 48 hours after ischemic preconditioning in the rabbit: *J Moll Cell Cardiol.* 1997; 28: 1885-1893
90. Ping P, Zhang J, Zheng Y-T, Li RC, Dawn B, Tang X-L, Takano H, Balafanova Z, Bolli R: Demonstration of selective, PKC-dependent activation of Src and Lck tyrosine kinases during ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Circ Res.* 1999; 85: 542-550
91. Ping P, Murphy E: Role of p38 mitogen-activated protein kinases in preconditioning: a detrimental factor or a protective kinase? *Circ Res.* 2000; 86: 921-922
92. Xuan YT, Tang X-L, Banerjee S, Takano H, Li RCX, Han H, Qiu Y, Li JJ, Bolli R: Nuclear factor  $\kappa$ B plays an essential role in the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Circ Res.* 1999; 84: 1095-1109
93. Shinmura K, Tang X-L, Wang Y, Xuan Y-T, Liu S-Q, Takano H, Bhatnagar A, Bolli R: Cyclooxygenase-2 mediates the cardioeffective effects of the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Proc Natl Acad. Sci U S A.* 2000; 97: 10197-10202
94. Shinmura K, Liu S-Q, Tang X-L, Kodani E, Xuan Y-T, Bhatnagar A, Bolli R: Aldose reductase is an obligatory mediator of the late phase of ischemic preconditioning. *Circulation* 2000; 102(suppl II): II-120. Abstract
95. Bernado NL, D'Angelo M, Okubo S, Joy A, Kukreja RC: Delayed ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart. *A J Physiol.* 1999; 276: H1323-H1330
96. Müllenheim J, Schlack W, Fräßdorf J, et al. Late preconditioning is mediated by opening of  $K_{ATP}$ -channels in rabbit hearts. *Eur J Anaesth* 2000;19:A166;
97. Sasaki N, Sato T, Ohler A, et al. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation* 2000;101:439-45

98. Bernardo NL, D'Angelo M, Okubo S, et al. Delayed ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart. *Am J Physiol* 1999;276:H1323-30
99. Li CY, Chou TC, Wong CS, et al. Ketamine inhibits nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated rat alveolar macrophages. *Can J Anaesth* 1997;44:989-95
100. Galley HF, Nelson LR, Webster NR. Anaesthetic agents decrease the activity of nitric oxide synthase from human polymorphonuclear leucocytes. *Br J Anaesth* 1995;75:326-329
101. Sakai T, Hill GE, Kudoh A, et al. NF-kB activation is a possible mechanism for proinflammatory cytokines release in trauma patients. *Anesthesiology* 1999;3A:A226
102. Ko SH, Lee SK, Han YJ, et al. Blockade of myocardial ATP-sensitive potassium channels by ketamine. *Anesthesiology* 1997;87:68-74
103. Jones WK, Flaherty MP, Tang XL, et al. Ischemic preconditioning increases iNOS transcript levels in conscious rabbits via a nitric oxide-dependent mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1469-81
104. Grover GJ, Garlid KD: ATP-sensitive potassium channels: A review of their cardioprotective pharmacology. *J Moll Cell Cardiol.* 2000; 32: 677-695
105. Bernardo NL, D'Angelo M, Okubo S, et al. Delayed ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart. *Am J Physiol* 1999;276:H1323-30
106. Ko SH, Lee SK, Han YJ, et al. Blockade of myocardial ATP-sensitive potassium channels by ketamine. *Anesthesiology* 1997;87:68-74
107. Inagaki N, Gono T, Clement JP, et al. A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. *Neuron* 1996;16:1011-7
108. Garlid KD, Paucek P, Yarow-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB, D'Alonzo AJ, Lodge NJ, Smith MA, Grover GJ: Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. Possible mechanism of Cardioprotection. *Circ Res.* 1997; 81: 1072-1082
109. Bolli R, Bhatti ZA, Tang XL, et al. Evidence that late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is triggered by the generation of nitric oxide. *Circ Res* 1997;81:42-52

110. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. Smaller infarct after preconditioning does not predict extent of early functional improvement of reperfused heart. *Am J Physiol* 1999;277:H1754-61
111. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, et al. Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. *Circulation* 1995;91:37-47
112. 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 hyperglycaemia and diabetes mellitus with and without short-term insulin treatment on myocardial ischemia preconditioning in the rabbit heart in vivo. *Pflugers Arch.* 2003; 446: 175-182
113. Oldenburg O, Cohen MV, Yellon DM, Downey JM: Mitochondrial  $K_{ATP}$  channels: role in cardioprotection. *Cardiovasc Research* 2002; 55: 429-437

## 6. Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Schlack für die Überlassung des Themas sowie die freundliche und kompetente Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit. Ein besonderer Dank gilt Univ.-Prof. Dr. med. Volker Thämer, in dessen Labor die Arbeit durchgeführt wurde und der ebenfalls als ständiger Ansprechpartner hilfreich zur Seite stand. Letzteres gilt natürlich auch für Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Jost Müllenheim, der geduldig die nötige konstruktive Kritik übte und zu jeder Zeit für mich erreichbar war.

Dank gebührt auch den mitwirkenden Freunden und Kommilitonen/-innen aus unserer Arbeitsgruppe, insbesondere Dr. med. Thomas Wietschorke sowie meiner Freundin Christiane Cornely für letzte formale wie auch inhaltliche Korrekturen.

Das abschließende Dankeschön geht an meine Familie, die mich über das ganze Studium und die Promotion hinweg nicht nur finanziell suffizient unterstützt und gefördert hat.

## 7. Lebenslauf

**Name:** Ralf Rulands  
**Anschrift:** Dunantstr. 39  
41468 Neuss

**Geburtsdatum:** 23.04.1976  
**Geburtsort:** Neuss  
**Nationalität:** deutsch  
**Familienstand:** ledig  
**Konfession:** römisch-katholisch

**Schullaufbahn:**  
08/1982 – 07/1986 Görres-Grundschule, Neuss  
09/1986 – 06/1995 Quirinus-Gymnasium, Neuss  
06/1995 Allgemeine Hochschulreife

**Zivildienst:** 04.09.95 - 30.09.96 Zivildienst im Zentral-OP des  
Lukaskrankenhauses in Neuss

**Studium:**  
04/1997-11/2003 an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
03/1999 Physikum  
03/2000 1. Staatsexamen  
08/2002 2. Staatsexamen  
11/2003 3. Staatsexamen  
10/2003-02/2003 Chirurgie im Addington Hospital, Durban  
02/2003-05/2003 Radiologie im Bethesda Krankenhaus, Duisburg  
05/2003-09/2003 Innere Medizin im Bethesda Krankenhaus, Duisburg

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

**Berufliche Aktivitäten:**  
03/2004 – 04/2005 Arzt im Praktikum/Assistenzarzt in der Neurologischen  
Klinik des Johanna-Etienne-Krankenhaus, Neuss  
seit 04/2005 Assistenzarzt in der Radiologie des Helios Klinikums  
Wuppertal/ Barmen

**Sonstige Aktivitäten:**  
seit 04/2000 Trainer der Sonographie-Intensiv-Workshops für ÄiP  
und Ärzte i. R. des Medizindidaktischen Projektes

Neuss, den 07. Juni 2005

Ralf Rulands

## 8. Zusammenfassung

Für die frühe ischämische Präkonditionierung konnte bereits eine Aufhebung der protektiven Effekte mittels Blockade von  $K^+$ <sub>ATP</sub>-Kanälen durch die Gabe razemischen Ketamins gezeigt werden.

Wir untersuchten nun die Wirkung von razemischem und von S(+)-Ketamin auf die späte ischämische Präkonditionierung (late preconditioning/LPC) in Kaninchenherzen *in vivo*. Hierzu wurde 36 Kaninchen in einer ersten OP ein Koronarokkluder implantiert. Die Kaninchen wurden vier verschiedenen Gruppen (je n=9) zugeteilt. Sieben bis 10 Tage später wurde am wachen Tier durch eine fünfminütige Koronarokklusion eine späte Präkonditionierung induziert. Nach 24 Stunden wurden die Kaninchen dann einer 30-minütigen Koronarokklusion mit anschließender zweistündiger Reperfusion unterzogen.

Während der infarktinduzierenden Ischämie wurden der linksventrikuläre systolische Druck (LVSD, Katheterspitzenmanometer) und das Herzzeitvolumen (CO, Ultraschallflussmesskopf) bestimmt. Anschließend wurde die Infarktgröße durch Triphenyltetrazoliumfärbung ermittelt. Kaninchen der Kontrollgruppe wurden nicht präkonditioniert. Um den Effekt von razemischem bzw. S(+)-Ketamin auf die Kardioprotektion durch LPC zu untersuchen, wurde je nach Versuchsgruppe eine der Substanzen in einer Dosis von 10 mg kg<sup>-1</sup> zehn Minuten vor der halbstündigen Ischämie verabreicht.

Die hämodynamischen Variablen im Versuchsverlauf unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen [Ausgangswerte: LVSD 94±3 mmHg (MW±SD), CO 243±9 ml/min; nach 25 min Koronarokklusion: LVSD 93±4% der Ausgangswerte, CO 84±4%; nach 2 h Reperfusion: LVSD 85±4%, CO: 83±4%]. Späte Präkonditionierung reduzierte die Infarktgröße von 44±3% des Risikogebietes in der Kontrollgruppe auf 22±3% (P=0.002). Die Verabreichung razemischen Ketamins hob diesen kardioprotektiven Effekt der späten Präkonditionierung auf (44±4%, P=0.002 vs LPC). S(+)-Ketamin hingegen beeinflusste den protektiven Effekt der LPC nicht (26±6%, P=0.88 vs LPC).

Fazit: Die durch späte ischämische Präkonditionierung hervorgerufene Kardioprotektion wird durch razemisches Ketamin, nicht aber durch S(+)-Ketamin aufgehoben. Damit kann davon ausgegangen werden, dass der Einfluss von Ketamin auf die späte ischämische Präkonditionierung enantiomerspezifisch ist und somit der Gebrauch von S(+)-Ketamin bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung gegenüber razemischem Ketamin möglicherweise vorzuziehen ist.