

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Benedikt Pannen

**Pharmakologisch induzierte Präkonditionierung beim
Menschen: Klinisch experimentelle Untersuchung zur
myokardialen Präkonditionierung durch das volatile
Inhalationsanästhetikum Sevofluran bei Patienten mit
elektiver aorto-koronarer Bypass-Operation**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Manuel Hermes

2014

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

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Dekan

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Wolfgang Schlack

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Tienush Rassaf

**Für Melanie, Ben und Nica
und meine Eltern**

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Frässdorf J, Borowski A, Ebel D, Feindt P, Hermes M, Meemann T, Weber R, Müllenheim J, Weber NC, Preckel B, Schlack W. Impact of preconditioning protocol on anesthetic-induced cardioprotection in patients having coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*; 137(6): 1436-42, (2009)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungen und Tabellen	6
Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	11
1.1 Myokardischämie und Kardioprotektion	11
1.2 Signaltransduktion der Präkonditionierung	13
1.3 Anästhetika induzierte Präkonditionierung	14
1.4 Trigger der Präkonditionierung	16
1.5 Fragestellung	18
2. Material und Methoden	19
2.1 Durchführung der klinischen Studie	21
2.2 Biochemische Analysen	24
2.3 Western Blot Analysen	25
2.3.1 Reagenzien, Lösungen und Gele	25
2.3.2 Antikörper	27
2.3.3 Homogenisation und Fraktionierung	29
2.3.4 Proteinbestimmung nach Lowry	29
2.3.5 SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese	30
2.3.6 Transfer	30
2.3.7 Immunoblot	31
2.3.8 Detektion	31
2.3.9 Densitometrische Analyse	31
2.4 Statistische Auswertung	32
3. Ergebnisse	33
4. Diskussion	47
5. Methodenkritik	53
6. Literaturverzeichnis	55
Danksagung	65
Lebenslauf	66
Zusammenfassung	68
Eidesstattliche Versicherung	69

Abbildungen und Tabellen

Abbildung 1: Signaltransduktion der Präkonditionierung	17
Abbildung 2: Studienprotokoll	23
Abbildung 3: Plasmakonzentration CK	37
Abbildung 4: Plasmakonzentration CK-MB	38
Abbildung 5: Plasmakonzentration BNP	39
Abbildung 6: Plasmakonzentration Troponin I	40
Abbildung 7: Phosphorylierung der PKC $_{\epsilon}$	42
Abbildung 8: Translokation der PKC $_{\epsilon}$	43
Abbildung 9: Phosphorylierung der PKC $_{\alpha}$	44
Abbildung 10: Translokation der PKC $_{\alpha}$	45
Abbildung 11: Phosphorylierung der Tyrosinkinase src	46
Tabelle 1: Patientenparameter	20
Tabelle 2: Antikörperliste	28
Tabelle 3: Hämodynamische Variablen	34
Tabelle 4: Laborwerte	35

Abkürzungsverzeichnis

A. dest.	Aqua destillata - destilliertes Wasser
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACT	Activated clotting time - aktivierte Koagulationszeit
ACVB	Aorto-coronary venous bypass - Aorto-koronarer Venenbypass
APC	Anesthetic induced pharmacologic preconditioning - Anästhetika induzierte pharmakologische Präkonditionierung
APS	Ammoniumpersulfat
ASA	American Society of Anesthesiology status
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
AV	Atrioventrikulär
AVK	Arterielle Verschlusskrankheit
BIS	Bispektral Index
BMI	Body Mass Index
BNP	Brain Natriuretic Peptide
BSA	Bovine Serum Albumin - Rinderserum-Albumin
C	Celsius
CA	California - Kalifornien
CI	Cardiac Index - Herzindex
CK	Creatine kinase - Kreatinkinase
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease - Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CPB	Cardiopulmonary bypass - Kardiopulmonaler Bypass
DTT	Dithiothreitol
ECL	Enhanced chemiluminescence - verstärkte Chemilumineszenz
EGTA	Ethylene glycol tetraacetic acid - Ethylenglycoltetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm

EKZ	Extrakorporale Zirkulation
et al.	et alii - und andere
EuroSCORE	European System for Cardiac Operative Risk Evaluation
EZR	Extrazellularraum
Gi	Inhibierendes Guaninnucleotid-bindendes Protein
h	Hours - Stunden
HCL	Chlorwasserstoff - Salzsäure
HF	Herzfrequenz
HLP	Hyperlipoproteinämie
HSP	Heat shock protein - Hitzeschockprotein
IPC	Ischemic preconditioning - Ischämische Präkonditionierung
ITS	Intensivstation
IU	International Unit - Internationale Einheit
IZR	Intrazellularraum
K ⁺ _{ATP} -Kanal	Adenosintriphosphat-sensitiver Kaliumkanal
kDa	kilo-Dalton
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
Krhs.	Krankenhaus
m	männlich
MA	Massachusetts
MAC	Minimale alveoläre Konzentration
MAP	Mittlerer arterieller Druck
Min.	Minuten
mitoPTP	Mitochondrial permeability transition pore - mitochondriale Permeabilitätsübergangspore
n/a	Not available - nicht vorhanden
Na ₂ CO ₃	Natriumcarbonat
NaF	Natriumfluorid
NaOH	Natronlauge
Na ₃ VO ₄	Trinatriumtetraoxovanadat
NT-pro BNP	Aminoterminal pro Brain Natriuretic Peptide

OP	Operation
OPCAP	Off Pump Coronary Artery Bypass
p38MAPK	38 kilo-Dalton große mitogen-aktivierte Proteinkinase
PAA	Polyacrylamid
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PAOP	Pulmonary Artery Occlusion Pressure - Pulmonalarterieller Verschlussdruck
PBS	Phosphate buffered saline - phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PC	Preconditioning - Präkonditionierung
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
PLD	Phospholipase D
Postop.	Postoperativ
PTCA	Percutaneous transluminal coronary angioplasty - perkutane transluminale Koronarangioplastie
PVDF	Polyvinylidenfluorid
ROS	Reaktive oxygen species - Reaktive Sauerstoff- spezies
SD	Standard deviation - Standardabweichung
SDS	Sodiumdodecylsulfat – Natriumdodecylsulfat
SRC	Sarcoma
SvO ₂	Mixed venous oxygen saturation - gemischtvenöse Sauerstoffsättigung
SWOP	Second Window of Protection - zweites Fenster der Protektion
T	Tween® 20 - Polysorbat 20
TBS	Tris-buffered saline - Tris-gepufferte Salzlösung
TCI	Target controlled infusion
TEMED	N,N,N,N-Tetramethylethylendiamin
TIMI	Thrombolysis in Myocardial Infarction - Thrombolyse bei Herzinfarkt
TIVA	Total intravenöse Anästhesie

Tn I	Troponin I
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
Triton® X-100	Octylphenylpolyethylenglykolether
U	Unit - Einheit
Vol	Volumen
w	weiblich
ZVD	Zentraler Venendruck

1. Einleitung

1.1 Myokardischämie und Kardioprotektion

Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist die Manifestation der Artherosklerose an den Koronarien. Sie führt häufig zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im Myokard, welches sich klinisch in der Regel als Angina pectoris äußert. Eine KHK ist mit einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko verbunden. Die klinischen Manifestationen der KHK, wie Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt und Herzrhythmusstörungen, führen die Todesursachenstatistik in Deutschland an. Wesentliche Ziele der Behandlung der KHK sind eine Steigerung der Lebensqualität durch Reduzierung der Angina pectoris-Häufigkeit und der damit einhergehenden Beschwerden sowie eine Verbesserung der Belastungsfähigkeit. Weitere Ziele sind die Prävention der klinischen Manifestation der KHK, insbesondere des Myokardinfarktes und der Herzinsuffizienz, sowie die Reduktion der Sterblichkeit. Dabei kommt neben den interventionellen Maßnahmen (Revaskularisation) der medikamentösen Sekundärprophylaxe große Bedeutung zu.¹

Im Rahmen der Revaskularisation ist eine kurze Ischämie des Herzens unumgänglich. Daher kommt der Kenntnis um die Mechanismen der Myokardprotektion eine grundlegende Bedeutung zu.

1986 wurde von Murry et al. zum ersten Mal beschrieben, dass kurze nicht letale Ischämiephasen vor einer ansonsten letalen Folgeischämie eine Protektion des Myokards gegenüber Ischämie- und Reperfusionsschäden bewirken. Dieses Phänomen ist seitdem als ischämische Präkonditionierung („preconditioning“) bekannt.² Durch die Präkonditionierung verlängert sich die Zeitspanne, bevor ein irreversibler Zellschaden eintritt. Auf diese Weise erlangt man ein längeres Zeitintervall, indem zum Beispiel eine Thrombolysetherapie oder eine perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA) initiiert werden kann. Frühere Studien konnten zeigen, dass neben einer signifikanten Infarktgrößenreduktion² die ischämische Präkonditionierung auch eine Reduktion von Arrhythmien,³ eine verbesserte Erholung der kontraktilen Funktion^{4,5} sowie eine Reduktion von metabolischen Schäden² bewirkt.

Angina pectoris ist ein klinisches Korrelat der ischämischen Präkonditionierung.

Das Konzept der ischämischen Prækonditionierung beim Menschen wird durch folgende klinische Erkenntnisse unterstützt: das „warm-up“-Phänomen beschreibt, dass es einem Patienten möglich ist, eine initial wegen Angina pectoris abgebrochene Belastung nach einem belastungsfreien Intervall ohne Beschwerden erneut durchzuführen.⁶ Des Weiteren wurde gezeigt, dass bei mehrfach wiederholter Ballondilatation im Rahmen einer PTCA das Ausmaß der pektanginösen Beschwerdesymptomatik und der elektrokardiographisch aufzeigbaren Ischämieaktion während der zweiten und dritten Ballonangioplastie im Vergleich zur ersten signifikant vermindert ist.⁷ Patienten, die sich im Rahmen einer PTCA oder einer koronaren Bypassoperation einer geplanten Myokardischämie unterziehen mussten, sind bereits erfolgreich prækonditioniert worden. Dabei vermindern dem extrakorporalen kardiopulmonalen Bypass vorangehende kurze Ischämieperioden⁸ oder die vorangehende Gabe von Adenosin den myokardialen Schaden, der durch Aortenabklemmung induziert wird.^{9,10} Bereits 1995 konnte in der TIMI-4-Studie gezeigt werden, dass Patienten, die vor einem Myokardinfarkt ein Angina pectoris-Ereignis hatten, im Vergleich zu Patienten ohne Präinfarktangina eine verbesserte Prognose nach erfolgreicher Reperfusion aufwiesen. In dieser Studie wurde gezeigt, dass Patienten mit Präinfarktangina eine niedrigere Krankenhausletalität und eine geringere Inzidenz bezüglich schweren Herzversagens und kardiogenen Schocks aufwiesen. Des Weiteren wurde eine geringere Kreatinkinase (CK)-Ausschüttung im Plasma als Marker des myokardialen Schadens und weniger pathologische Q-Zacken im EKG beobachtet.¹¹ In einer Folgestudie (TIMI-9B) konnten Kloner et al. zeigen, dass Patienten im Verlauf von 30 Tagen weniger kardiale Ereignisse aufwiesen, wenn sie innerhalb von 24 Stunden vor einem Myokardinfarkt über mindestens eine Angina pectoris-Symptomatik berichteten. Angina pectoris > 24 Stunden vor einem Infarkt in der Anamnese reduzierte die kardiale Ereignisrate nicht. Diese Beobachtungen stimmen mit dem Konzept der ischämischen Prækonditionierung durch die Präinfarktangina überein.¹²

1.2 Signaltransduktion der Präkonditionierung

In den letzten Jahren ist die Signaltransduktionskette der ischämischen Präkonditionierung Gegenstand intensiver Forschungen gewesen. An der Signaltransduktion beteiligt sind unter anderem die Stimulation von Adenosin-, Bradykinin-, Opiat- oder Muskarinrezeptoren. Anschließend kommt es zu einer Aktivierung inhibierender Guaninnucleotid-bindenden (G_i)-Proteine, einer Öffnung von Adenosintri-phosphat (ATP)-abhängigen Kaliumkanälen, einer Freisetzung von Sauerstoffradikalen sowie eine Aktivierung der Proteinkinase C, der Tyrosinkinase, mitogen aktivierter Proteinkinase und Hitzeschockproteinen.¹³ In der Signaltransduktionskaskade vor allem weiter abwärts durchgeführte jüngere Untersuchungen gelangen zu der Annahme, dass möglicherweise die Hemmung der Porenöffnung des mitochondrialen Permeabilitätsüberganges (mitoPTP) einer der bedeutenden Schritte der Myokardprotektion, die durch die Präkonditionierung bedingt ist, darstellt.¹⁴ Selbst wenn das Öffnen der ATP-abhängigen Kaliumkanäle als Schlüsselpunkt der Signaltransduktion angesehen wird, mehren sich zunehmend die Anzeichen, dass dieser Schritt nur als einer unter vielen im Ablauf der Signaltransduktionskette zu zählen ist.

1.3 Anästhetika induzierte Präkonditionierung

Auch die kurzzeitige Gabe von volatilen Anästhetika vor einer längeren Ischämie, die so genannte „Anästhetika induzierte Präkonditionierung“ (APC), führt zu einer der ischämischen Präkonditionierung vergleichbaren Kardioprotektion. In tierexperimentellen Studien konnte für die volatilen Anästhetika Enfluran,¹⁵ Isofluran,¹⁶ Desfluran¹⁷ und Sevofluran¹⁸ gezeigt werden, dass sie eine APC induzieren können. Über die klinische Relevanz dieses Phänomens liegen bisher keine großen Studien vor. Es gibt aber einige Hinweise, dass dieses Phänomen auch beim Menschen induzierbar ist. Es konnte gezeigt werden, dass sich im Rahmen einer koronaren Bypassoperation durch eine fünfminütige Gabe eines Inhalationsanästhetikums (Isofluran) vor dem Herzstillstand der Zellschaden des Myokards reduzieren lässt.¹⁹ Das volatile Anästhetikum Sevofluran zeigt im Vergleich mit Enfluran eine erheblich schwächer ausgeprägte Reduktion der myokardialen Inotropie.²⁰ Ebenso ließ sich eine Aktivierung des sympatho-adrenergen Systems unter der Verwendung von Sevofluran im Gegensatz zu Desfluran und Isofluran²¹ nicht feststellen, so dass durch Sevofluran keine Tachykardien induziert werden.^{22,23} Verglichen mit Isofluran und Halothan konnte in einer tierexperimentellen Studie an Ferkeln sogar eine geringer ausgeprägte Reduktion des arteriellen Drucks und Herzindexes unter Sevofluran gezeigt werden.²⁴ Sevofluran eignet sich besonders gut für die Anästhesie herzkranker Patienten, da es sich um einen weniger potenten Dilatator der koronaren Widerstandsgefäße als bei Isofluran handelt²⁵ und es insbesondere keine Durchblutungsumverteilungen in den Koronarien induziert.²⁶ Zudem ist es wegen des niedrigen Blut-/Gas-Verteilungskoeffizienten gut steuerbar.^{27,28,29} De Hert und Mitarbeiter konnten bei Patienten, die sich einer aorto-koronaren Bypassoperation unterziehen mussten, zeigen, dass die Narkose mit Sevofluran im Vergleich zu einer intravenösen Narkose mit Propofol zu einer Verbesserung der myokardialen Funktion und zu einer Reduzierung des myokardialen Zellschaden führt.³⁰ Ob die beobachtete Myokardprotektion durch eine APC induziert wurde, lässt sich aus dieser Studie nicht beantworten, da die Narkose während der gesamten Operation mit Sevofluran aufrechterhalten wurde. In einer Folgestudie konnten de Hert et al. zeigen, dass Sevofluran gegenüber einer Propofol-Kontrollgruppe Tendenzen kardialer Protektion aufweist, wenn Sevofluran bis zum Beginn des kardiopulmonalem Bypasses beziehungsweise ab dem Zeitpunkt der gesetzten

Koronaranastomosen verabreicht wurde. Eine statistisch signifikante Reduktion des Zellschadens, durch erniedrigte Troponinwerte sowie ein erhöhtes Herzschlagvolumen bestimmt, trat jedoch nur bei kontinuierlicher Applikation des volatilen Anästhetikums auf.³¹ Riess und Kollegen konnten in einer tierexperimentellen Studie zeigen, dass die APC nicht nur von der verabreichten Sevoflurankonzentration, sondern auch von dem verwendeten Studienprotokoll abhängig ist. Auf Grund ihrer Untersuchungen schlussfolgerten sie, dass wiederholte Gaben des volatilen Anästhetikums in klinisch relevanten Konzentrationen von entscheidenderer Bedeutung sind, um die Präkonditionierungs-Signalkaskade auszulösen, als die Dauer der Sevofluranverabreichung.³²

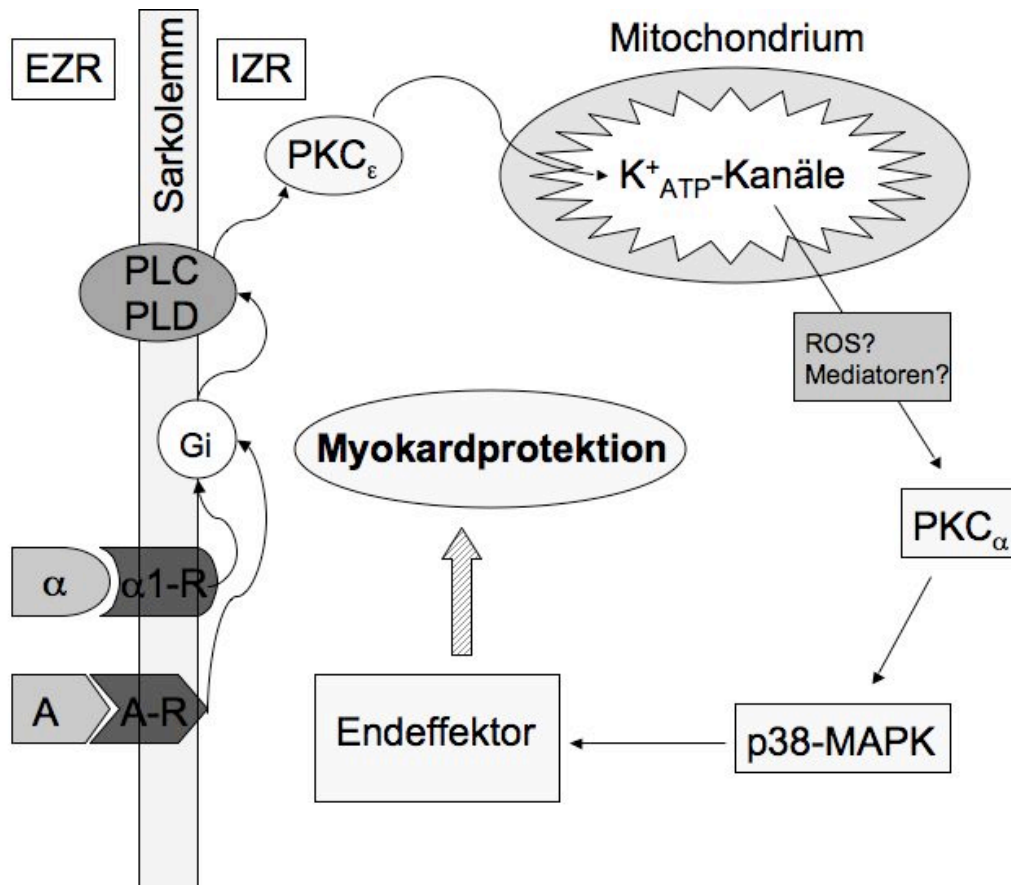
Es bestehen drei Zeitfenster, in denen eine Intervention zur Myokardprotektion stattfinden kann: vor der Ischämie (Präkonditionierung), während der Ischämie (antiischämisch) und nach der Ischämie zu Beginn der Reperfusion (Postkonditionierung).^{33,34}

Die Präkonditionierung unterscheidet sich in einer frühen Phase, die unmittelbar nach dem ischämischen Stimulus auftritt und das Myokard für circa 2-3 Stunden schützt, und einer späten Phase, die 12-24 Stunden nach dem Stimulus auftritt und 2-3 Tage andauert. Die späte Phase wird als „späte Präkonditionierung“ oder „Second Window of Protection“ (SWOP) bezeichnet.³⁵

Zhao und Kollegen beobachteten kardioprotektive Effekte in Bezug auf Infarktausdehnung und Dysfunktion, wenn nach einer längeren Myokardischämie die Reperfusion durch kurze Ischämiephasen unterbrochen wird. Dieses Prinzip wird Postkonditionierung genannt.³⁶

1.4 Trigger der Präkonditionierung

Der zelluläre Mechanismus der pharmakologischen Präkonditionierung durch volatile Anästhetika ist bislang unzureichend geklärt. Tierexperimentelle Studien und Untersuchungen am humanen Myokard zeigen, dass die Aktivierung von Adenosinrezeptoren,^{37,38} der Proteinkinase C,³⁹ von sarkolemmalen und/oder mitochondrialen ATP-sensitiven Kalium-Kanälen⁴⁰ und die Freisetzung von Sauerstoffradikalen¹⁶ beteiligt sind. Die Phosphorylierung der Proteinkinase C nimmt hierbei eine zentrale Stellung innerhalb der Signaltransduktion der Präkonditionierung ein.⁴¹ Julier et al. konnten zeigen, dass Sevofluran zu einer Translokation der Proteinkinase C aus dem Zytosol in die Membran im humanen Vorhofmyokard führt.⁴¹ Die folgende schematische Darstellung modifiziert nach Hassouna et al.⁴² zeigt den angenommenen Mechanismus der Signaltransduktion, der durch ischämische und/oder pharmakologische Stimuli zur Kardioprotektion des menschlichen Myokards führt. Durch Aktivierungen von Adenosin-Rezeptoren und Alpha1-Adrenozeptoren in der Myokardmembran werden im Verlauf durch die Proteinkinase C Isoform ϵ (PKC $_{\epsilon}$) ATP-sensitive Kaliumkanäle (K $^{+}_{ATP}$ -Kanäle) in den Mitochondrien geöffnet. Durch die Öffnung der mitochondrialen K $^{+}_{ATP}$ -Kanäle wird die Proteinkinase C Isoform α (PKC $_{\alpha}$) möglicherweise durch die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und anderer bisher unbekannter Mediatoren aktiviert. Die PKC $_{\alpha}$ transloziert in verschiedene Zellorganellen und aktiviert die 38 kilo-Dalton große mitogen-aktivierte Proteinkinasen (p38MAP-Kinasen), die wiederum direkt oder über Zwischenschritte einen oder mehrere Endeffektoren aktivieren, und letztlich zur Myokardprotektion führt.

Abbildung 1: Signaltransduktion der Präkonditionierung(modifiziert nach Hassouna et al.⁴²)

EZR: Extrazellulärraum; IZR: Intrazellulärraum; α : Alpha-Agonist; α 1-R: Alpha 1-Rezeptor; A: Adenosin; A-R: Adenosin-Rezeptor; G_i : hemmendes G-Protein; PLC: Phospholipase C; PLD: Phospholipase D; PKC_{ϵ} : phosphorylierte Proteinkinase C_{ϵ} ; PKC_{α} : Proteinkinase C_{α} ; K^+_{ATP} -Kanäle: ATP-sensitiven Kaliumkanäle; ROS: reaktive Sauerstoffspezies; MAPK: mitogen-aktivierte Proteinkinasen

1.5 Fragestellung

Sowohl die ischämische^{11,12} als auch die pharmakologisch induzierte Präkonditionierung¹⁹ sind im humanen Myokard nachweisbar. In mehreren Studien wurde aufgezeigt, dass bei Patienten die APC durch Sevofluran während einer ACVB-Operation auslösbar ist.^{31,41,43-45}

Ziel der hier vorliegenden Studie ist es, in einer klinisch experimentellen Untersuchung darzulegen, ob das Inhalationsanästhetikum Sevofluran im humanen Myokard eine pharmakologische Präkonditionierung in vivo induzieren kann, wenn es in einem definierten Zeitfenster vor einer Myokardischämie verabreicht wird. Dazu wurde gemäß des Studienprotokolls bei ACVB-Patienten der myokardiale Zellschaden mittels der Surrogat-Parameter Troponin I, CK, CK-MB und BNP^{46,47} und die Induzierung der Signaltransduktion der Präkonditionierung durch Phosphorylierung und Translokation der Proteinkinase C und Phosphorylierung der Tyrosinkinase nach der Sevofluran-Präkonditionierung untersucht.^{13,41,42,48,49}

2. Material und Methoden

Die vorliegende Studie wurde entsprechend den ethischen Grundsätzen der Deklaration von Helsinki sowie nach Prüfung und Zustimmung durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt (Studennummer des Ethikvotums vom 09.12.2002: 2052; Antragsteller Univ.-Prof. Dr. med. W. Schlack). Nach eingehender Aufklärung über die Studie, deren Verlauf und mögliche Risiken wurde von jedem Patienten eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt.

In die Untersuchung wurden 20 KHK-Patienten (18 Männer und 2 Frauen), die sich zu einer elektiven aorto-koronaren Bypass-Operation vorstellten, eingeschlossen. Ausschlusskriterien waren American Society of Anesthesiology status (ASA) IV oder V, Angina pectoris innerhalb der letzten 72 Stunden, Notfalleingriffe, akuter Myokardinfarkt, instabile Angina pectoris, Ejektionsfraktion $< 40\%$, dekompensierte Herzinsuffizienz, Rezidivoperationen nach früherer operativer Koronarrevaskularisation, gleichzeitige Indikation eines operativen Herzklappenersatzes oder einer Aortenchirurgie, präoperative Katecholamingaben, orale Antidiabetika- oder Theophyllintherapie, sowie Niereninsuffizienz (Kreatinin $> 1.5 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$), klinische relevante pulmonale Erkrankungen oder eine eingeschränkte Leberfunktion (Alanin-Aminotransferase oder Aspartat-Aminotransferase $> 150 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$). Die Einschätzung des kardialen Operationsrisikos erfolgte mit Hilfe des European System for Cardiac Operative Risk Evaluation (EuroSCORE)⁵⁰.

Die Patienten wurden vor Operationsbeginn durch Losverfahren mittels verschlossener Umschläge in die Kontrollgruppe (Kontrolle) oder in die Sevoflurangruppe (SEVO) randomisiert.

Tabelle 1: Patientenparameter

	Kontrollgruppe (n=10)	SEVO-Gruppe (n=10)
Patientendaten		
Geschlecht (m/w)	9/1	9/1
Alter (Jahre)	66±8	65±9
BMI (kg · m ⁻²)	30±4	26±4
EuroSCORE, Median (Bereich)	4 (3-8)	4 (0-7)
Medikation		
ACE-Hemmer	7	7
Bronchodilatoren	1	1
Ca ²⁺ -Antagonisten	1	1
Diuretika	4	3
Heparine	7	6
Insulin	0	0
Molsidomine	1	5
Nitrate	3	3
β-Blocker	8	8
Statine	6	6
Theophyllin	0	0
Vorerkrankungen		
Hypertonie	10	8
Hyperlipoproteinämie	9	8
Hauptstammstenosen	3	3
Herzinfarkt: < 3 Monate	0	2
Herzinfarkt: > 3 Monate	3	3
PTCA / Stent	1	5
Neurolog. Vorerkrankung	0	0
AVK	8	4
Diabetes mellitus	0	0
COPD	3	1
Nikotin	3	5
Intraoperative Daten		
Anzahl der Bypässe, Median (Bereich)	4 (2-4)	3 (2-4)
EKZ (Min.)	98 ± 29	95 ± 26
Aortenklemmzeit (Min.)	52 ± 18	52 ± 12
Reperfusionszeit (Min.)	39 ± 14	37 ± 13
Postoperative Daten		
Intubationslänge (Min.)	348 ± 191	306 ± 166
Intensivaufenthalt (h)	25 ± 8	22 ± 4
Klinikaufenthalt (Tage)	15 ± 5	13 ± 6

m: männlich; w: weiblich; BMI: Body mass Index; EuroSCORE: European System for Cardiac Operative Risk Evaluation; ACE-Inhibitor: Angiotensin Converting Emzyme Inhibitor; Ca²⁺-Antagonist: Calciumkanalantagonist; HLP: Hyperlipoproteinämie; PTCA: perkutane transluminale coronare Angioplastie; AVK: arterielle Verschlusskrankheit; COPD: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung

2.1 Durchführung der klinischen Studie

Eine Acetylsalicylsäure (ASS)-Medikation wurde eine Woche vor Operation abgesetzt. Alle anderen Medikamente wurden bis zum Morgen des Operationstages weitergegeben. Alle Patienten wurden nach einem standardisierten Verfahren prämediziert und anästhesiert. Die Patienten erhielten als Prämedikation am Vorabend der Operation sowie am Operationsmorgen 10 mg Diazepam per os. Das Monitoring der Patienten bestand aus einer 5-Kanal-Elektrokardiogramm (EKG)-Aufzeichnung mit ST-Segmentanalysen in den Ableitungen II nach Einthoven und V5 nach Wilson, der pulsoxymetrischen Überwachung, einer invasiv arteriellen Blutdruckmessung in der Arteria radialis, einer kontinuierlichen Messung des zentralvenösen Drucks (ZVD), einem Pulmonalarterienkatheter zur kontinuierlichen Messung des pulmonalarteriellen Druckes und des Herzzeitvolumens sowie der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung (CCO_{mb}, Edwards Lifescience, Irvine, CA), einer Kapnographie, rektaler Temperaturmessung und einem transurethralem Blasenkateter.

Nach Präoxygenierung wurde die Allgemeinanästhesie mit 20 µg Sufentanil und mit einer kontinuierlichen Infusion von Propofol (target-controlled infusion (TCI)) mit einem angestrebten Plasmaspiegel von 2.5 µg · ml⁻¹ eingeleitet. Die orotracheale Intubation wurde nach erfolgter Muskelrelaxierung mit Pancuronium (0.1 mg · kg⁻¹) durchgeführt. Die Aufrechterhaltung der Allgemeinanästhesie erfolgte durch kontinuierliche Infusion von Sufentanil (0.3 µg · kg⁻¹ · h⁻¹) und Propofol durch Verwendung einer TCI-Pumpe.

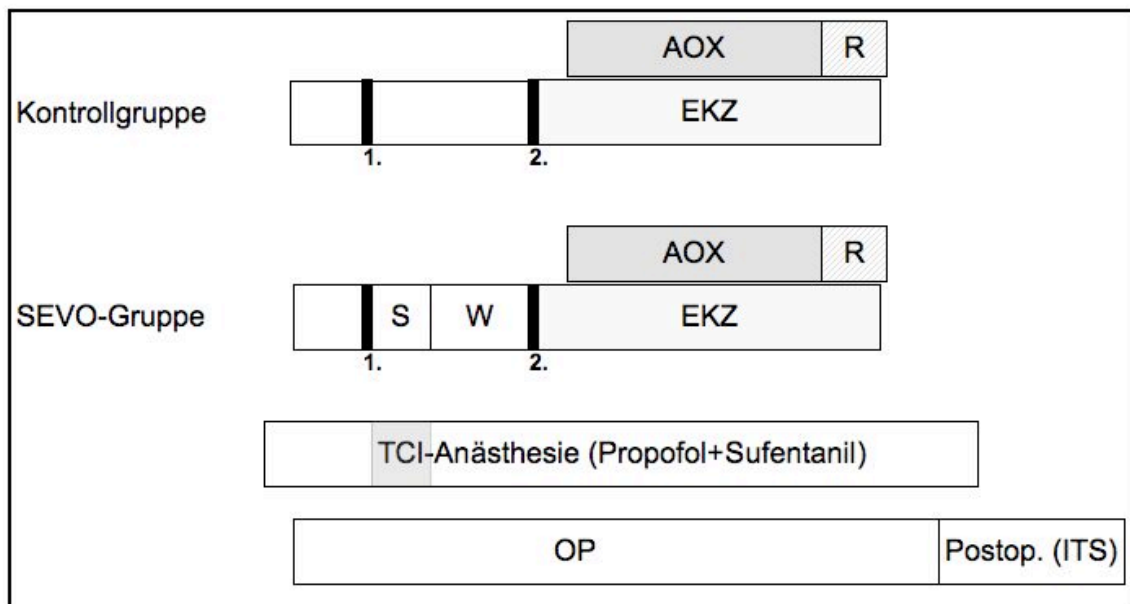
Die aorto-koronare Bypassoperation wurde nach standardisiertem Vorgehen des Universitätsklinikums Düsseldorf durch denselben Operateur nach kardioplegischem Herzstillstand durchgeführt, die Anästhesie erfolgte durch zwei in der Herz-Thoraxchirurgie erfahrene Anästhesisten. Die Studie wurde verblindet durchgeführt, das heißt, weder die Patienten noch der Operateur, die Kardiotechniker sowie die Ärzte und das Pflegepersonal auf der Intensivstation und den peripheren Stationen wussten, welcher Studiengruppe die Patienten angehörten.

Nach medianer Sternotomie wurde die linke Arteria thoracica interna freipräpariert. Vor der arteriellen und venösen Kanülierung für den kardiopulmonalen Bypass unter Einsatz der Herz-Lungenmaschine erfolgte eine systemische Heparinisierung (300 IU · kg⁻¹) des Blutes mit einer Ziel-ACT (activated clotting time) über 400 Sekunden.

Vor Installation des extrakorporalen Kreislaufes wurde eine Probe des Herzohrs des rechten Vorhofs bei jedem Patient entnommen und unmittelbar in -80°C flüssigem Stickstoff schockgefroren und aufbewahrt. Anschließend wurde den Patienten in der SEVO-Gruppe Sevofluran inhalativ in einer Konzentration entsprechend 1 MAC (minimale alveoläre Konzentration) für 5 Minuten zugeführt. Während der Sevofluran Applikation in der SEVO-Gruppe wurde die Gabe des intravenösen Anästhetikums pausiert, die Kontrollgruppe erhielt weiterhin Propofol. Mittels eines Frischgasflusses am Beatmungsgerät mit $12\text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ (FiO_2 0.7) wurde daraufhin das Sevofluran 10 Minuten ausgewaschen und im Anschluss die 2. Hälfte des Herzohres reseziert. Daraufhin wurde der kardiopulmonale Bypass begonnen und die Aorta abgeklemmt. Der Herzstillstand wurde unter einer moderat hypothermen (34°C) Kardioplegie nach Calafiore aufrechterhalten. Nach der operativen Überbrückung der Koronarstenosen durch die Bypässe wurden die Patienten wieder auf 36°C rektale Körpertemperatur erwärmt und vom kardiopulmonalen Bypass durch die Herz-Lungenmaschine entwöhnt. Das für die extrakorporale Zirkulation gegebene Heparin wurde mit Protamin (1.5 mg pro 100 IU Heparin) antagonisiert. Mittels eines temporären, extrakorporalen AV-Herzschrütmachers wurde das Herz mit einer Frequenz von $90 \cdot \text{min}^{-1}$ stimuliert. Gemäß des Studienprotokolls wurde bei einem mittleren arteriellen Druck $< 70\text{ mmHg}$ Noradrenalin über eine Perfusorspritzenpumpe gegeben. Dobutamin wurde gegeben, um den Cardiac Index (CI) über $2.5\text{ l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ zu halten.

Nach der Operation wurden die Patienten intubiert und beatmet auf die Intensivstation (ITS) zur weiteren postoperativen Therapie verlegt und nach erfolgreicher Weaningphase in der Regel bereits am operativen Tag extubiert.

Abbildung 2: Studienprotokoll



S = 5 Min. 1 MAC Sevofluran

AOX = Aortenkliepphase

■ = TIVA-Stopp

W = 10 Min. Auswaschphase

R = Reperusionsphase

█ = Entnahme der Herzohrenhälfte

EKZ = Extrakorporale Zirkulation

2.2 Biochemische Analysen

Blutentnahmen erfolgten vor der Operation (Ausgangswert) und 10 Minuten nach kardiopulmonalem Bypassabgang sowie 4, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach extrakorporaler Zirkulation. Es wurden die Plasmakonzentrationen des Troponin I, der Kreatinkinase und seiner myokardspezifischen Isoform CK-MB sowie des brain natriuretic peptide (BNP) als Marker für kardialen Zellschaden und Dysfunktion bestimmt. Die Blutproben wurden zentrifugiert und das Plasma anschließend bis zur Bestimmung bei -80 °C aufbewahrt. Troponin I (Microparticle Enzyme Immunoassay, Abbott, Wiesbaden, Germany), CK und CK-MB Analysen wurden im hauseigenem Labor des Universitätsklinikums Düsseldorf durchgeführt. Die Bestimmung der BNP-Werte erfolgte durch Siemens Medical Solutions Diagnostics (Fernwald, Germany).

2.3 Western Blot Analysen

2.3.1 Reagenzien, Lösungen und Gele

Lowry-Lösung:

20 ml Reagenz A [10 g Natriumcarbonat ad 500 ml 0.1 mol NaOH], 200 µl Reagenz B [2 g Kalium-Natrium-Tartrat ad 100 ml Aqua dest.], 200 µl Reagenz C [1 g Kupfersulfat ad 100 ml Aqua dest.]

STAMM-Lösung:

60.57 mg Sigma 7-9, 210 mg NaF, 36.78 mg Na₃VO₄, 76.08 mg EGTA, 100 ml Aqua dest.

Inasen-Inhibitor-Mix:

1 mg Aprotinin, 1 mg Leupeptin, 1 mg Pepsatin 10 ml Tris-HCl Lösung (pH 7.4)

Lysepuffer :

10 ml STAMM-Lösung, 200 µl Inasen-Inhibitoren-Mix, 7.7 mg DTT, 100 µl Okadaic-Acid

Triton-Puffer:

8 ml Lysepuffer, 80 µl Triton® X-100 (1 %)

Gele (7.5 %) der SDS-PAGE:

Trenngel:

5 ml PAA (Biorad Lösung, 30 %), 5 ml 1.5 mol Sigma 7-9 (Tris BASE, pH 8.8), 200 µl SDS (10 %), 9.8 ml Aqua dest., 20 µl TEMED, 100 µl APS (10 %)

Sammelgel:

2.55 ml PAA (Biorad Lösung, 30 %), 1.5 ml 1.25 mol Sigma 7-9 (pH 6.8), 150 µl SDS (10 %), 10.5 ml Aqua dest., 30 µl TEMED, 150 µl APS (10 %)

Loading Buffer:

7 ml Aqua dest., 1 ml 500 mM Tris-HCl (pH 6.8), 2 ml Glycerol, 1 g SDS, 30 mg Bromphenolblau

Running Buffer:

30 g Sigma 7-9, 144 g Glycin, 10 g SDS, ad 1 l Aqua dest.

Transfer Buffer:

3 g Sigma 7-9, 14.4 g Glycin, 200 ml Methanol, ad 800 ml Aqua dest.

Coomassie-Staining:

750 mg Coomassie Blue, 25 ml Eisessig, 112.5 ml Ethanol, 112.5 ml Aqua dest.

Coomassie-Destaining:

100 ml Eisessig, 333.3 ml Ethanol ad 1 l Aqua dest.

Blotto 5 % (Blocklösung):

200 ml Aqua dest., 1 Tablette PBS, 10 g getrocknete Magermilch (dried skimmed milk)

Blotto 1 % (Blocklösung):

Blotto 5 % 1:5 mit Aqua dest. verdünnt

TBS-T (T-PBS-Waschpuffer):

400 ml Aqua dest., 2 Tabletten PBS, 1 ml Tween® 20

2.3.2 Antikörper

Für die Detektion der phosphorylierten und Gesamt-PKC Isoformen (PKC α und PKC ϵ) und der phosphorylierten Tyrosinkinase (Src 416) wurden die entsprechenden ersten Antikörper verwendet. Nach standardisiertem Protokoll wurde ein α -tubulin-Antikörper für die Bestimmungen der Gesamt-PKC α und -PKC ϵ und ein Actin-Antikörper für die Blots der Tyrosinkinasen benutzt. Die Antikörper wurden je nach Angaben des Herstellers entweder in Blotto 1 % oder BSA gelöst.

Tabelle 2: Antikörperliste

Antikörper	Verdünnung	Hersteller
anti-PKC ϵ	1:10.000	Upstate, Lake Placid, New York, USA
anti-phospho-PKC ϵ (ser 729)	1:10.000	Upstate, Lake Placid, New York, USA
anti-PKC α	1:10.000	Upstate, Lake Placid, New York, USA
anti-phospho PKC α	1:10.000	Upstate, Lake Placid, New York, USA
anti-phospho-Src,	1:10.000	Cell Signalling, Danvers, Massachusetts, USA
anti- α -tubulin	1:50.000	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
anti-actin	1:10.000	Sigma, Taufkirchen, Deutschland

2.3.3 Homogenisation und Fraktionierung

Die gefrorenen Gewebeproben der Herzohren wurden in zwei Hälften geteilt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Anschließend wurden die Herzohrhälften in einem Metall-Potter (Dick, Deizisau) pulverisiert, in ein Falcon mit 1.25 ml Lysepuffer überführt und in einem Eisbad bei 4 °C gelagert. Nach erfolgter Homogenisation (Homogenisator, IKA, Staufen) wurden die Gemische bei 1000 g, 4 °C, 10 Minuten zentrifugiert und daraufhin die Überstände erneut bei 16000 g, 4 °C, 15 Minuten zentrifugiert. Diese Überstände enthielten die Cytosolfraktion. Die Pellets der ersten Zentrifugation wurden nach Zusetzen von 1 % Tritonpuffer und einstündiger Inkubation auf Eis sowie erneuter Zentrifugation bei 16000 g, 4 °C, 15 Min. in die Membran- und Kernfraktionen aufgetrennt. Die Überstände enthielten die Membranfraktionen. Die Pellets mit Triton-Puffer resuspendiert enthielten die Kernfraktion. Die gewonnenen Fraktionen wurden aliquotiert und bei -80 °C aufbewahrt.

2.3.4 Proteinbestimmung nach Lowry

Die Proteinmengen in den einzelnen Fraktionen wurden nach der Methode nach Lowry bestimmt.⁵¹ Die Proben wurden im Verhältnis 1:100 (5 µl Probe und 495 µl Aqua dest.) verdünnt. 100 µl der verdünnten Proben wurden mit 500 µl Lowry-Lösung bei Raumtemperatur 10 Minuten inkubiert. Daraufhin wurden die Proben mit 50 µl Folin-Chiocalteus-Phenolreagenz (Sigma, Taufkirchen) versetzt und nach gutem Mischen 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Durch eine Reaktion der Proteine mit der alkalischen Kupferlösung und die sich anschließende Reduktion des Folin-Chiocalteus-Phenolreagenz entsteht ein Farbkomplex proportional zur vorhandenen Proteinmenge. Die Extinktion bei 740 nm wurde mit einem Plate Reader (µQuant, BioTek Instruments, Winooski, Vermont, USA) gemessen. Nach Berechnung der Konzentrationen mit der KC4 Software in Bezug auf eine Standardreihe (0-100 µg · ml⁻¹ BSA) wurden die Proben mit Lysepuffer auf eine einheitliche Proteinkonzentration angeglichen.

2.3.5 SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese

Für die gelelektrophoretische Auftrennung der Proteine (Molekulargewicht 10-100 kDa) im diskontinuierlichem Tris-HCL/Tris-Glycin Puffersystem wurden 7.5 %ige Sammel- und Trenngele nach der modifizierten Laemmli-Methode⁵² verwendet.

Das anionische SDS überdeckt die Eigenladung der Proteine, so dass Produkte negativer Ladung pro Masseneinheit entstehen. Durch Erhitzen der Proteinproben mit einem SDS-Überschuss auf 95 °C werden durch Aufspalten der Wasserstoffbrücken und Streckung der Moleküle die Sekundär- und Tertiärstrukturen aufgelöst. Hinzugabe der reduzierenden Thiolverbindung Mercaptoethanol bewirkt das Auflösen der Quartärstruktur (Disulfidbrücken). Im weitporigen Sammelgel erfolgt auf Grund des pH-Werts eine Aufkonzentrierung der Proteinklassen entsprechend ihrer Größe, wodurch eine Zunahme der Bandenschärfe erzielt wird. Im Trenngel wirkt auf alle Proteine die gleiche Feldstärke. Daraus resultiert, dass ausschließlich die molare Masse des Proteins als Trennkriterium wirkt. Der SDS-Proteinkomplex wandert im elektrischen Feld zur Anode, die Laufgeschwindigkeit ist reziprok zur molaren Masse des Proteins.^{53,54,55}

2.3.6 Transfer

Die aufgetrennten Proteine wurden nach erfolgter Elektrophorese auf eine PVDF-Membran (Immobilon-P Transfer Membran, Milipore, Billerica, USA) übertragen. Dazu wurden die zuvor in Methanol eingelegte Membran und das SDS-Trenngel zwischen zwei in Transferpuffer getränkte Fiberpads und Filterpapiere gelegt. Die Transferkassette wurde luftblasenfrei zusammengesetzt und in die Transferkammer eingesetzt. Der Transfer erfolgte in einem mit kaltem Transferpuffer gefüllten Tank bei 100 V und 280 mA für 60 Minuten.

Anschließend wurde die Membran 2 Stunden bei Raumtemperatur in Blocklösung (Blotto 5 %) auf einem Schüttler inkubiert. Das Milchprotein der Blocklösung bindet sich an die Membran. Auf diese Weise werden unspezifische Bindungen des Antikörpers verhindert. Um den stattgefundenen Transfer zu kontrollieren, wurde das SDS-Gel mit Coomassie Staining-Lösung gefärbt und darauf mittels Coomassie Destaining-Lösung entfärbt, um unspezifische Anfärbungen zu

eliminieren.

2.3.7 Immunoblot

Ein antigenspezifischer Antikörper wurde nach Angaben des Herstellers in Blocklösung (Blotto 1 %) verdünnt. Die Membran wurde mit dieser Antikörperlösung gleichmäßig bedeckt und über Nacht im Kühlschrank auf einem Schüttler inkubiert. Dabei bindet der spezifische Antikörper an Antigene der aufgetrennten Proteine. Nach erfolgter Inkubation wurde die Membran 3 mal 10 Minuten mit TBS-T gewaschen, um nicht gebundene Antikörper zu entfernen.

Um die Proteinbanden zu detektieren, wurde die Membran mit einem zweiten gegen den ersten Antikörper gerichteten Antikörper inkubiert, der mittels Chemilumineszenz visualisiert werden konnte. Nach der Einwirkzeit wurde die Membran wiederum 3 mal 10 Minuten mit TBS-T gewaschen. Die verwendeten Antikörper sind aufgelistet in 2.3.2 Antikörper (Tabelle 2).

2.3.8 Detektion

Zur Visualisierung der Bindungen zwischen dem ersten und zweiten Antikörper diente das ECL-Reagenz (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA). Dieses besteht aus einer Luminollösung und einem stabilisierenden Peroxidpuffer. Nach Vorbereitung der Membran wurden die Banden durch die Chemilumineszenz sichtbar gemacht und durch Belichten eines Röntgenfilms (Kodak X-Omat, Deutschland) in einer Filmkassette fixiert.

2.3.9 Densitometrische Analyse

Mit der Kodak Image Station (Eastman Kodak Company, Rochester, New York, USA) wurden die Western Blots quantifiziert und ausgewertet. Hierfür wurden die Ergebnisse als Quotient aus der mittleren Lichtintensität der Banden der phosphorylierten Form der PKC und der Gesamtmenge der PKC beziehungsweise des Actins als Standard ausgedrückt. Aus den Einzelwerten einer Gruppe wurde der Mittelwert errechnet und dieser in Bezug auf die Kontrollgruppe angegeben, welche gleich 100 % gesetzt wurde.

2.4 Statistische Auswertung

Die Datenspeicherung sowie die Erstellung der Diagramme und Tabellen erfolgten mit Hilfe der Programme Microsoft Excel 2002 und Microsoft Word 2002. Der Fokus der Studie lag auf der Reduktion des myokardialen Zellschadens ausgedrückt durch erniedrigte Troponin I-Werte (Standardabweichung des Mittelwerts Troponin I Plasmaspiegel $4.5 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Vor Studienbeginn wurde eine Power-Analyse durchgeführt, um die notwendige Gruppengröße zu berechnen (GraphPad StatMate, San Diego, CA). Diese Berechnung ergab eine notwendige Gruppengröße von 10 Patienten pro Gruppe, um einen Unterschied der Troponin I-Reduktion von 40 % mit einer Power von 95 % nachweisen zu können. Die statistische Analyse der Daten erfolgte durch die Verwendung von GraphPad Prism 4 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Dichotome Variablen wurden mittels des Exakten Tests nach Fischer ausgewertet. Alle Daten wurden unter Verwendung parametrischer Tests verglichen. Es wurde eine Zwei-Wege-Varianzanalyse entlang der Zeit und zwischen den Gruppen, gefolgt von Dunnetts Post-hoc-Test, durchgeführt, wobei die Kontrollgruppe und die Ausgangswerte als Referenzen dienten. Alle Daten sind, sofern nicht gesondert angegeben, als Mittelwert \pm SD (Standardabweichung) angegeben. Unterschiede der Daten von $p < 0.05$ wurden als signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

Die Patienten dieser klinischen Studie wurden im Zeitraum von Juli 2003 bis April 2004 rekrutiert und in der Klinik für Thorax- und kardiovaskuläre Chirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf behandelt. 20 Patienten mit koronarer Herzerkrankung mit der Indikation zur elektiven aorto-koronaren Bypassoperation (n=20; 2 Frauen und 18 Männer) konnten in die Studie eingeschlossen werden. Es kamen keine Studienabbrüche vor. Unter den beiden Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede in Hinblick auf die präoperativ erhobenen Daten (Geschlecht, Alter, BMI, präoperative Medikation) und bezüglich des perioperativen kardialen Risikoprofils, welches durch den EuroSCORE bestimmt wurde und in beiden Gruppen ein mittleres Risiko zeigte. Intraoperativ zeigten sich keine signifikanten Unterschiede sowohl in der Anzahl der gelegten Bypässe als auch in der Dauer der Aortenklammzeit und der extrakorporalen Zirkulation. Die postoperative Beatmungszeit, der Aufenthalt auf der Intensivstation sowie der Gesamtkrankenhausaufenthalt unterschieden sich ebenfalls nicht in den beiden Vergleichsgruppen. Darüber hinaus zeigte sich bezüglich des hämodynamischen Status kein Unterschied zwischen der Ausgangswerten oder den Messwerten am Ende der Datenerfassung 24 Stunden nach kardiopulmonalem Bypass. Postoperativ war der Herzindex in der Sevo-Gruppe im Vergleich zum Ausgangswert signifikant angestiegen. Aufgrund des externen Herzschrittmachers war in beiden Gruppen die Herzfrequenz nach kardiopulmonalem Bypassabgang im Vergleich zum Ausgangswert signifikant erhöht. Hinsichtlich der Troponin I-, der CK-, CK-MB- und der BNP-Plasmakonzentrationen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen werden.

Tabelle 3: Hämodynamische Variablen

	Ausgangswert	SEVO-Gabe	Prä-EKZ	Post-EKZ	OP-Ende	4 h post EKZ	8 h post EKZ	12 h post EKZ	24 h post EKZ
HF [$l \cdot min^{-1}$] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	69±17 66±11	79±16	76±20 75±9	97±10† 97±11†	95±10† 93±8†	96±11† 98±13†	92±9† 99±18†	93±8† 99±15†	89±7† 94±12†
MAP [mmHg] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	91±18 95±17	69±14†	74±20 85±11	75±16 75±14†	85±12 82±14	84±9 86±16	80±13 90±9	79±5 77±12	89±13 84±11
PAOP [mmHg] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	9±5 9±4	7±4	5±3 7±4	8±6 7±3	8±3 9±4	14±4 13±4	15±4 13±2	13±4 13±2	13±2 12±2
CI [$l \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	2.4±0.4 2.2±0.6	2.7±0.7	2.6±1.1 2.7±0.8	2.8±1.1 3.0±1.1	2.7±0.6 3.0±0.9	2.7±0.4 3.3±0.6	2.8±0.5 3.4±0.8†	2.9±0.6 3.3±1.0†	3.3±0.5 3.4±0.9†
SvO₂ [%] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	78±5 83±3	81±6	74±9 80±9	64±18 75±4	70±9 75±5	71±9 72±8	70±11 70±8	69±8 71±8	68±11 65±11

* P < 0.05 vs. Kontrollgruppe

† P < 0.05 vs. Ausgangswert

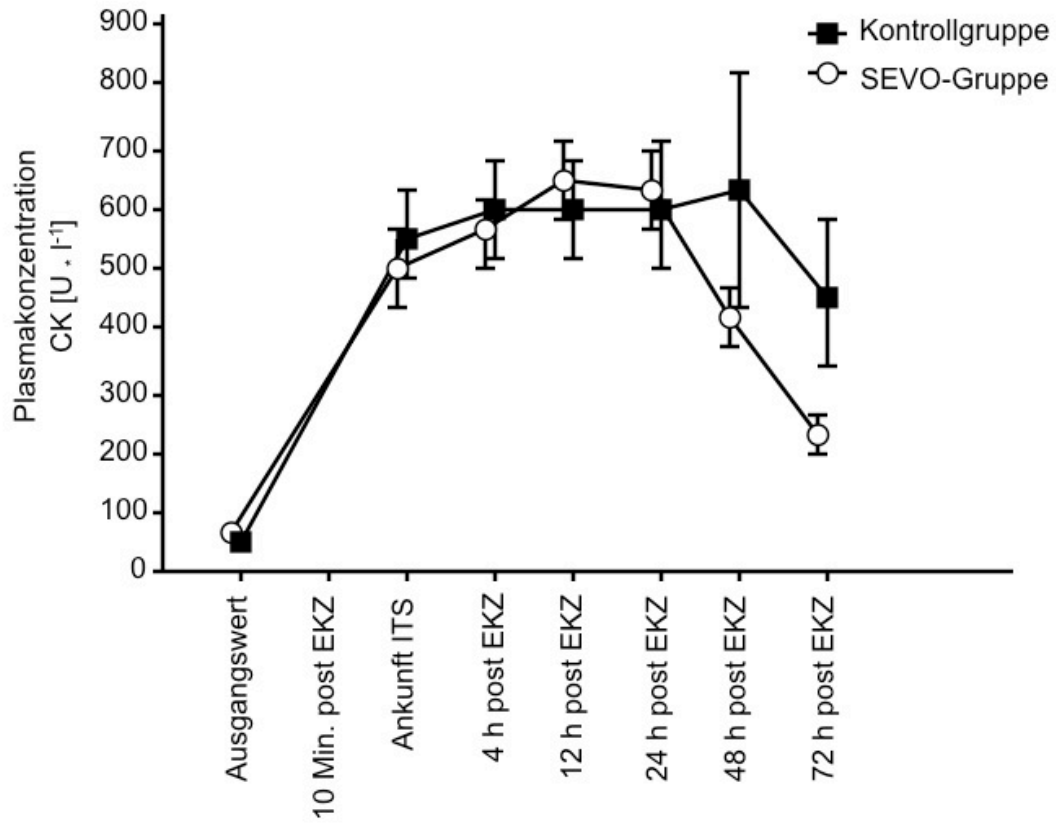
Tabelle 4: Laborwerte

	Ausgangswert	10 Min. post EKZ	Ankunft ITS	4 h post EKZ	12 h post EKZ	24 h post EKZ	48 h post EKZ	72 h post EKZ
CK [$\mu\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	57±25 63±29	n/a n/a	576±252 503±208	605±244 569±186	595±241 644±225	598±328 631±206	629±572 406±172	456±373 233±108
CK-MB [$\mu\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	10.8±2.3 8.2±8.2	n/a n/a	38.1±19.1 38.6±12.8	26.8±11.1 27.5±10.5	21.6±8.1 23.7±8.4	15.7±12.9 21.8±10.3	14.3±13.8 12.2±8.5	10.8±9.0 6.6±3.5
BNP [pg · ml ⁻¹] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	17.2±9.9 14.3±10.4	32.6±14.5 33.6±27.8	38.8±14.1 35.5±22.4	52.6±25.4 45.7±31.9	90.0±34.4 72.0±51.8	141.3±60.1† 158.5±77.6†	133.1±71.2† 153.2±70.0†	146.1±104.0† 149.9±80.8†
Tn I [ng · ml ⁻¹] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	0 0	7.4±4.1† 7.4±5.1†	10.9±5.7† 11.2±5.8†	13.8±8.2† 13.9±8.1†	12.2±3.7† 12.2±4.9†	10.3±3.9† 9.6±2.7†	6.7±3.1† 6.4±2.9†	4.0±2.2 3.8±1.6
GOT [$\mu\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	31±13 28±10	n/a n/a	60±24† 50±13†	63±21† 53±13†	60±22† 55±15†	53±18 54±17†	39±12 44±18	32±8 34±6

	Ausgangswert								
GPT [U · l ⁻¹] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	45±30 38±15	n/a n/a	50±27 38±9	49±24 40±11	62±38 43±12	45±20 40±11	37±15 35±8	33±11 36±12	
LDH [U · l ⁻¹] Kontrollgruppe SEVO-Gruppe	188±64 179±62	n/a n/a	334±173† 307±73†	372±118† 315±80†	372±80† 312±96†	280±104 283±70†	227±74 256±67	203±66 224±41	

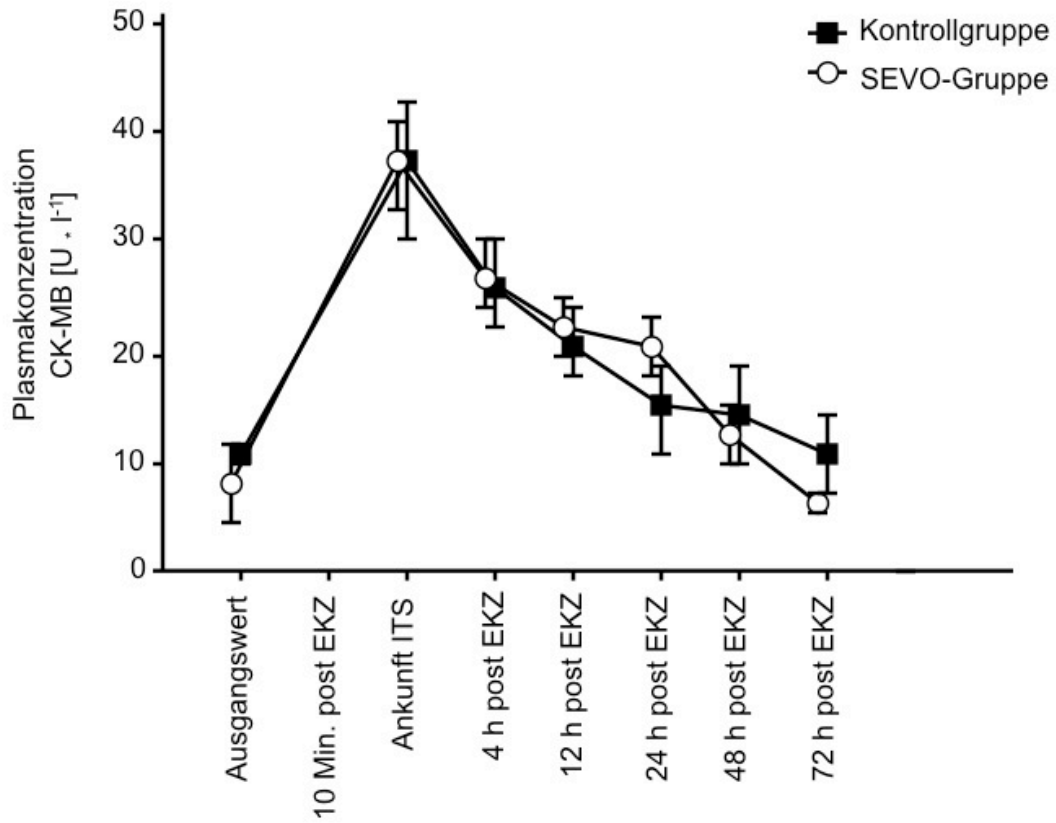
* P < 0.05 vs. Kontrollgruppe

† P < 0.05 vs. Ausgangswert

Abbildung 3: Plasmakonzentration CK

* P < 0.05 vs. Kontrollgruppe

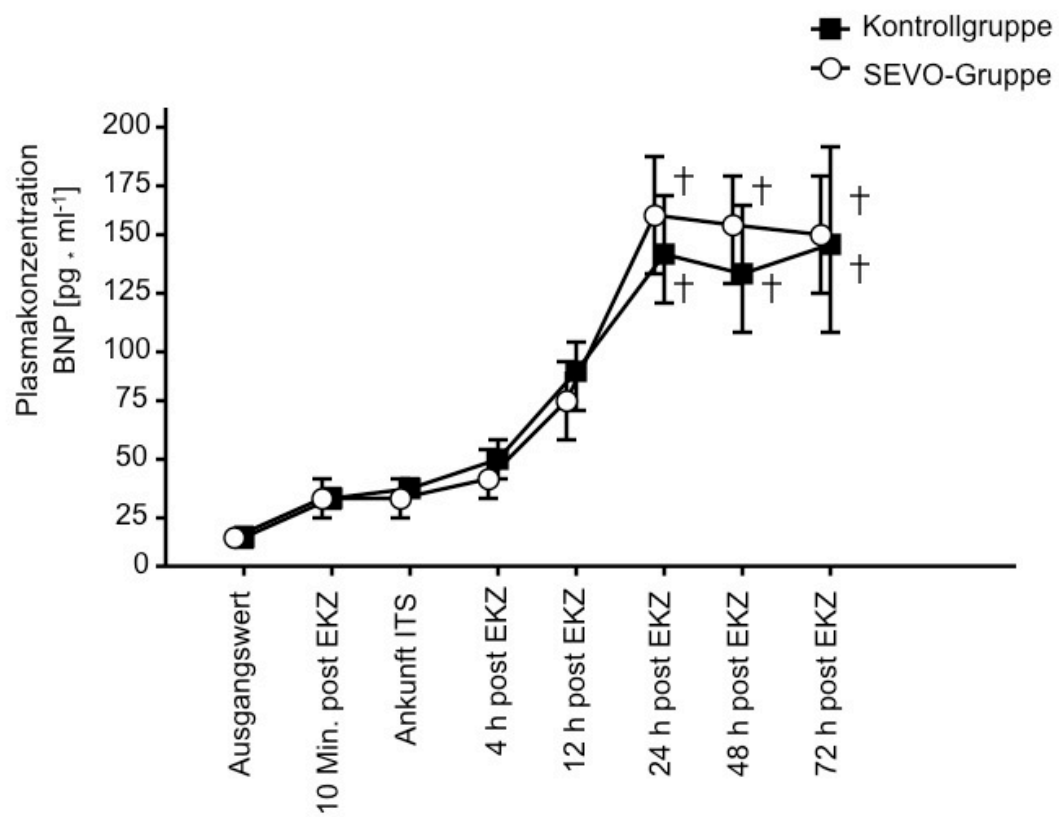
† P < 0.05 vs. Ausgangswert

Abbildung 4: Plasmakonzentration CK-MB

* $P < 0.05$ vs. Kontrollgruppe

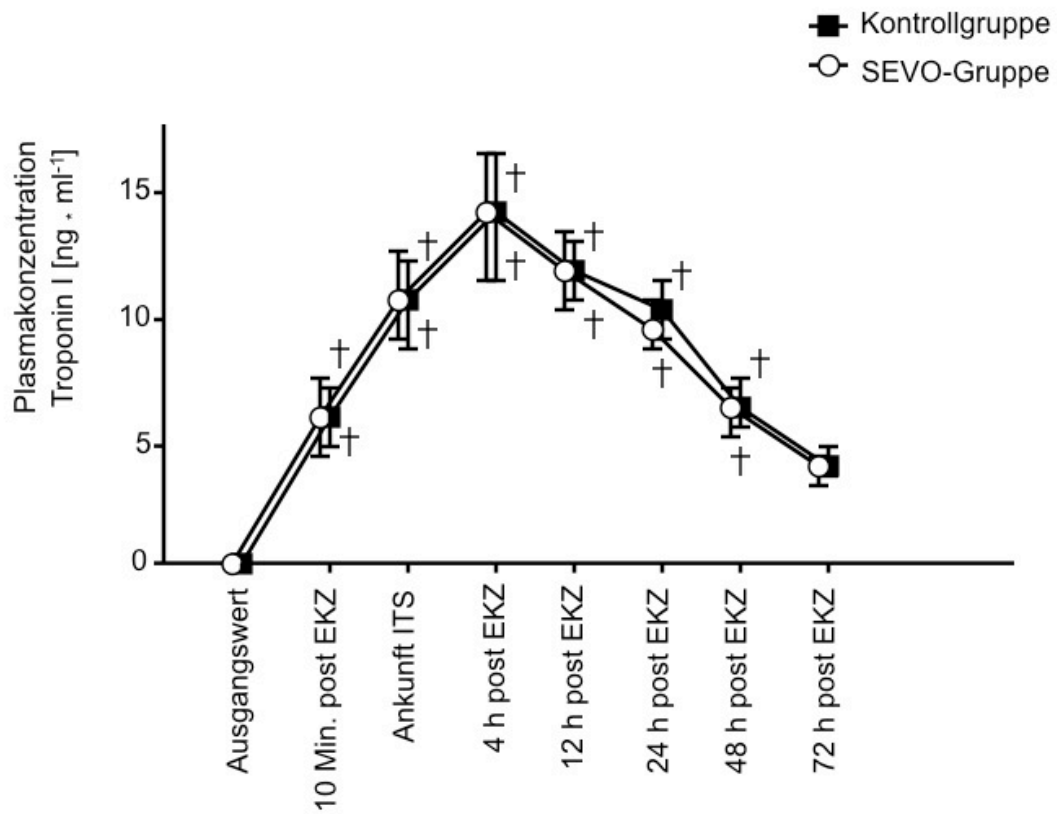
† $P < 0.05$ vs. Ausgangswert

Abbildung 5: Plasmakonzentration BNP



* P < 0.05 vs. Kontrollgruppe

† P < 0.05 vs. Ausgangswert

Abbildung 6: Plasmakonzentration Troponin I

* P < 0.05 vs. Kontrollgruppe

† P < 0.05 vs. Ausgangswert

Molekularbiologisch konnte nach der anästhetikainduzierten Präkonditionierung (APC) weder eine Zunahme der Phosphorylierung der PKC ϵ (Quotient phosphorylierte Form der PKC ϵ /Gesamtmenge der PKC ϵ : Kontrollgruppe, vor APC 0.34 ± 0.1 , nach APC 0.34 ± 0.14 ; SEVO-Gruppe, vor APC 0.33 ± 0.1 , nach APC 0.34 ± 0.1) noch eine Translokation der PKC ϵ (Quotient Gesamtmenge der PKC ϵ vor und nach APC: Kontrollgruppe, P1 1.1 ± 0.4 ; P2 1.0 ± 0.3 ; P3 1.1 ± 0.3 ; SEVO-Gruppe, P1 1.1 ± 0.3 ; P2 1.2 ± 0.4 ; P3 1.6 ± 0.7) gezeigt werden. In Bezug auf die PKC α konnte weder eine Zunahme der Phosphorylierung nach APC (Quotient phosphorylierte Form der PKC α / Gesamtmenge der PKC α : Kontrollgruppe, vor APC 0.6 ± 0.14 , nach APC 0.64 ± 0.15 ; SEVO-Gruppe, vor APC 0.59 ± 0.1 , nach APC 0.59 ± 0.12) noch eine Translokation der PKC α (Quotient Gesamtmenge der PKC α vor und nach APC: Kontrollgruppe, P1 1.0 ± 0.2 ; P2 0.96 ± 0.1 ; P3 0.94 ± 0.2 ; SEVO-Gruppe, P1 0.98 ± 0.1 ; P2 0.98 ± 0.2 ; P3 0.91 ± 0.3) nachgewiesen werden. Einen Anstieg der Phosphorylierung der Tyrosinkinase src durch die APC konnte nicht dargestellt werden (Quotient der phosphorylierten Form der Tyrosinkinase src vor der APC und nach der APC: Kontrollgruppe, 0.95 ± 0.3 ; SEVO-Gruppe, 0.91 ± 0.2).

Abbildung 7: Phosphorylierung der PKC_ε

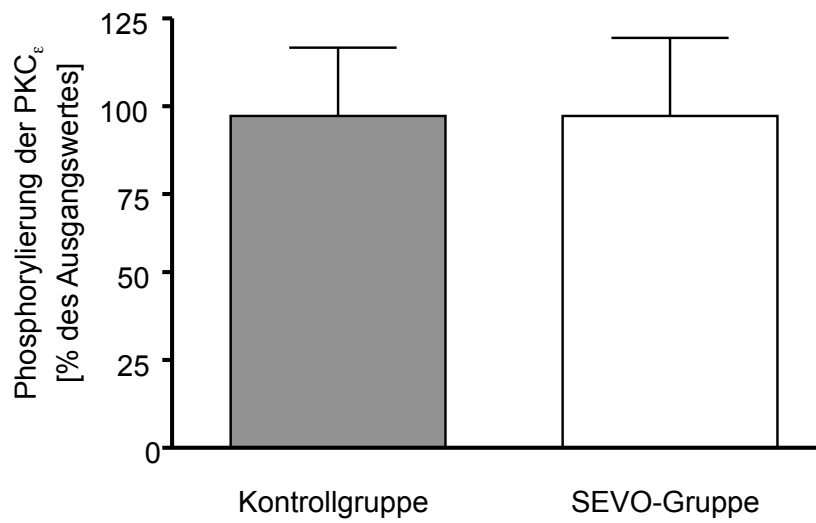
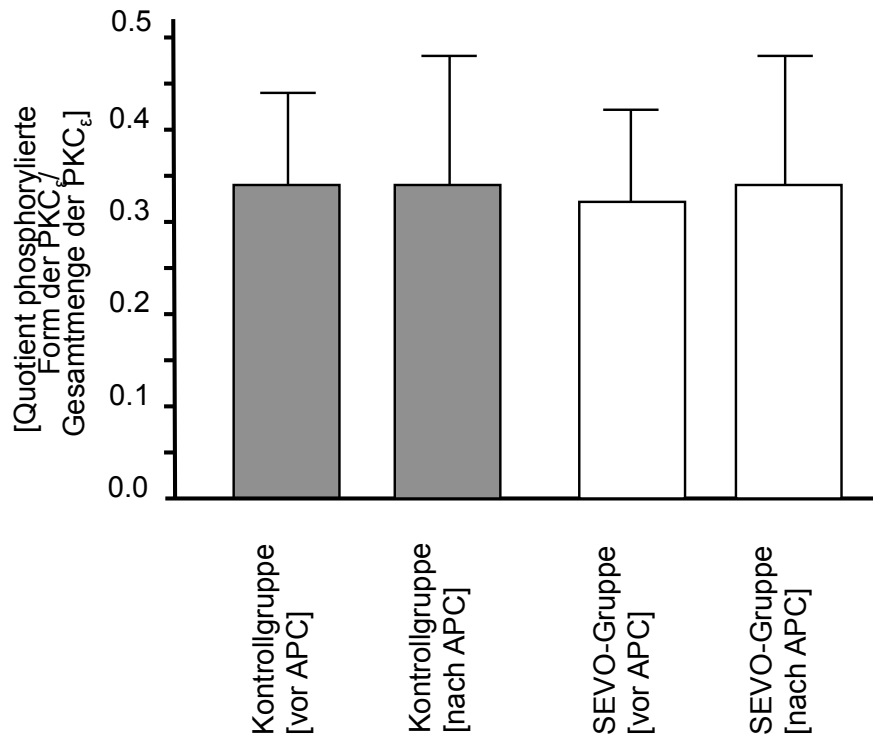


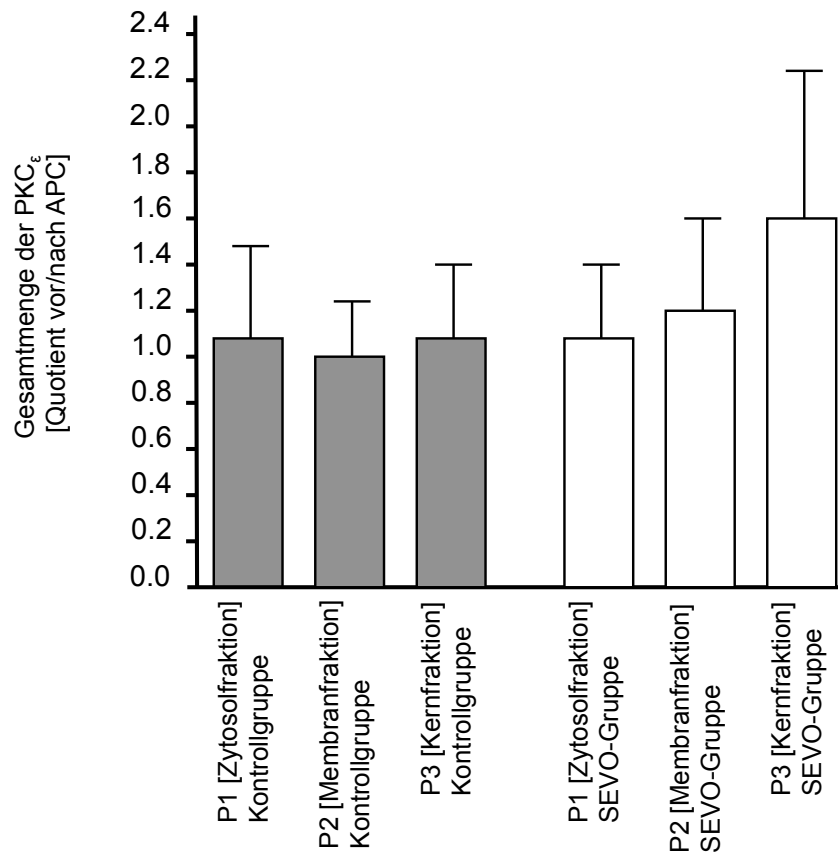
Abbildung 8: Translokation der PKC ϵ 

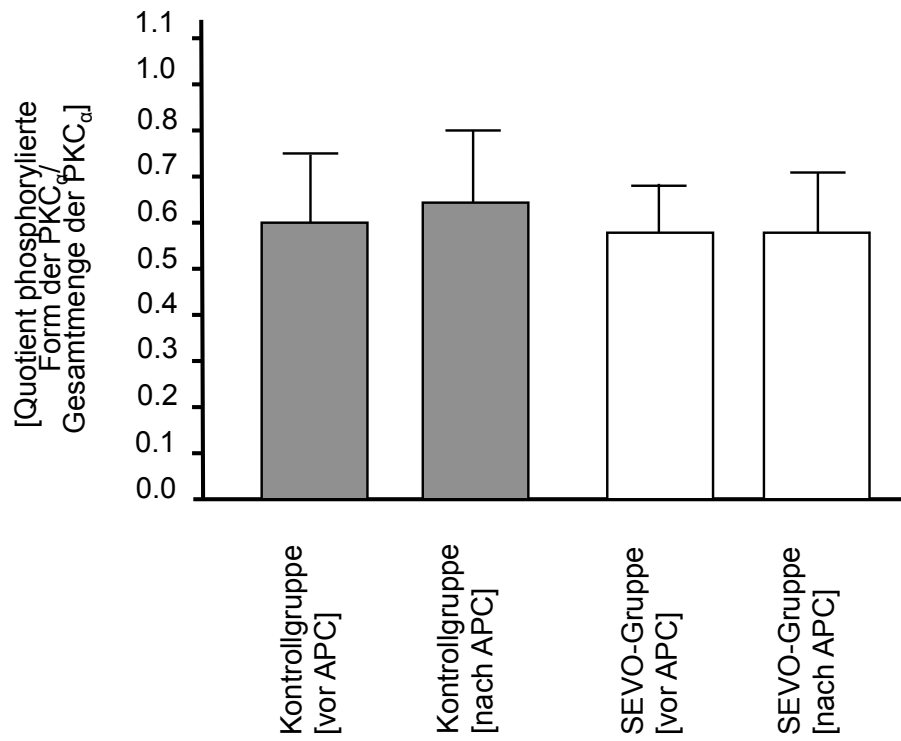
Abbildung 9: Phosphorylierung der PKC α 

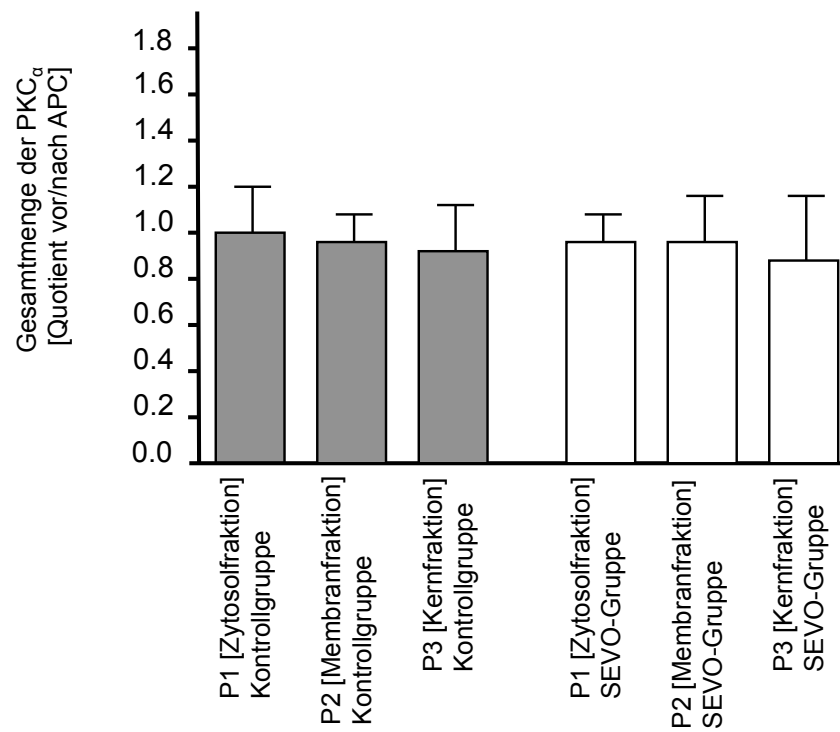
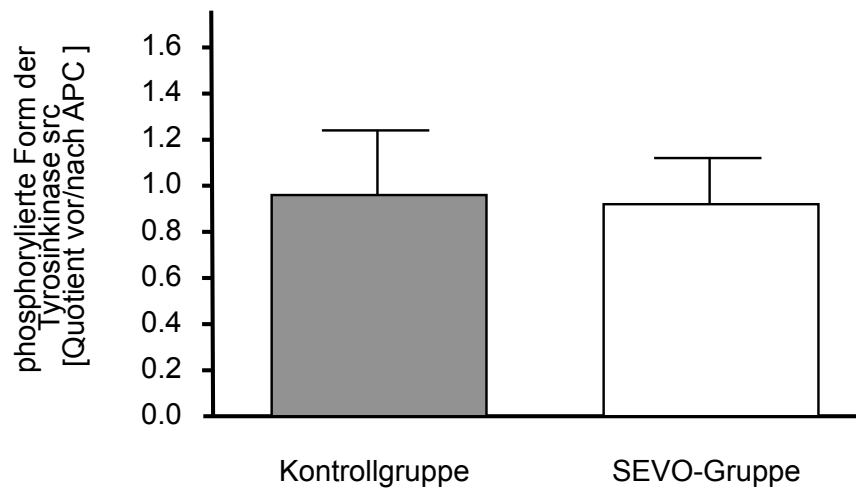
Abbildung 10: Translokation der PKC α 

Abbildung 11: Phosphorylierung der Tyrosinkinase src

4. Diskussion

Als wesentliches Ergebnis konnte diese Untersuchung zeigen, dass bei den von uns untersuchten Markern eine 5-minütige Sevofluranapplikation (1 MAC) 10 Minuten vor einer myokardialen Ischämie keine Präkonditionierung am humanen Myokard während einer ACVB-Operation auslöst. Diese Ergebnisse beziehen sich sowohl auf den Zellschaden als auch auf zellulärer Ebene.

In vorangegangenen tierexperimentellen Studien konnten sowohl *in vitro* als auch *in vivo* die protektiven Eigenschaften am Herzen durch volatile Anästhetika gezeigt werden.⁵⁶ Dabei wurde das Myokard gegen Infarkt und postischämische Dysfunktion sowie Reperfusionsschäden geschützt.^{48,57,58} In der hier vorliegenden Studie konnten wir nicht nachweisen, dass sich durch eine fünfminütige Gabe von 1 MAC Sevofluran vor der extrakorporalen Zirkulation beim Menschen eine anästhetikainduzierte Präkonditionierung auslösen lässt.

Verschiedene Studien wurden bereits mit dem Ziel durchgeführt, Myokardprotektion durch anästhetikainduzierte Präkonditionierung unter klinischen Bedingungen in der aorto-koronaren Bypasschirurgie nachzuweisen. So konnten Belhomme et al. zwar einen protektiven Effekt durch anästhetikainduzierte Präkonditionierung mittels Isoflurane am Myokard elektiver ACVB-Patienten demonstrieren, jedoch konnte er eine PKC-Aktivierung lediglich indirekt über die Bestimmung des Surrogatparameters ekto-5'-Nukleotidase, einem Marker der PKC-Aktivität, im rechten Vorhofgewebe zeigen. Außerdem konnte die Arbeitsgruppe durch Bestimmung der Zellschadenmarker CK-MB und Troponin I keine statistisch signifikante Infarktgrößenreduzierung abbilden.¹⁹ Julier et al. untersuchten die pharmakologische Präkonditionierung durch 2 MAC Sevofluran-Gabe während der ersten 10 Minuten der EKZ. Sie konnten in ihrer Studie lediglich einen kardioprotektiven Effekt in Bezug auf PKC und BNP zeigen. Unterschiede zwischen der Behandlungs- und Kontrollgruppe in Bezug auf ST-Streckenveränderungen, Arrhythmien, CK-MB- und Troponin-Anstieg ließen sich nicht aufzeigen.⁴¹ Die Arbeitsgruppe um De Hert gelangte in ihrer Studie nur zu statistisch signifikanten Ergebnissen kardioprotektiver Effekte, wenn das volatile Anästhetikum Sevofluran den Patienten während der gesamten ACVB-Operation durchgängig verabreicht wurde.³¹

In den Untersuchungen zur Kardioprotektion durch volatile Anästhetika in der aorto-koronaren Bypasschirurgie wurde in den letzten Jahren ein Hauptaugenmerk auf den Anstieg der Herzenzyme und die Myokardfunktion gesetzt.^{41,59-61} Auch wenn in unterschiedlichen Studien positive Effekte oder auch statistisch nicht signifikante Tendenzen der volatilen Anästhetika in Bezug auf Myokardprotektion gezeigt werden konnten, ließ die Aktivierungskaskade der anästhetikainduzierten Präkonditionierung dennoch weiterhin Fragen offen. Die klinischen Studienergebnisse stehen teilweise im Gegensatz zu den tierexperimentellen Untersuchungen. Dies liegt vielleicht im unterschiedlichen Studiendesign der klinischen Untersuchungen begründet. Definitionsgemäß folgt bei der Präkonditionierung auf einen kurzen ischämischen oder pharmakologischen Stimulus eine kurze Reperusionsphase oder Auswaschphase des pharmakologischen Stimulus.² Um die Kriterien der Präkonditionierung zu erfüllen, darf deswegen das volatile Anästhetikum nicht während der anhaltenden Myokardischämie verabreicht werden. Bisher gibt es nur einige wenige Studien, die diese Kriterien erfüllen. Die Arbeitsgruppe um Tomai veröffentlichte eine Arbeit, in der sie ein Protokoll mit einer 15-minütigen Isofluran-Gabe gefolgt von einer 10-minütigen Auswaschphase verwendete. In dieser Studie konnten sie keinen Unterschied zwischen der Kontroll- und Behandlungsgruppe (je 20 Patienten pro Gruppe) bezüglich Myokardfunktion und Anstieg kardialer Enzyme aufzeigen.⁶² In einer zweiten Studie wurden von der Arbeitsgruppe bei diabetischen Patienten ähnliche Ergebnisse beobachtet.⁶³ Piriou und Kollegen untersuchten in einer randomisierten Studie 72 Patienten. Die APC wurde mit Sevofluran (15 Minuten 1 MAC) und einer sich anschließenden Auswaschphase (15 Minuten) vor dem kardiopulmonalem Bypass und der Myokardischämie induziert.⁴⁴ In der Behandlungsgruppe wurde keine Troponin-Reduktion im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet. Ebenfalls zeigte sich kein Unterschied in der Aktivierung der PKC, der Tyrosinkinase oder der MAP-Kinase p38. Jedoch beobachteten sie in der APC-Gruppe bei einigen Patienten eine Tendenz zu einem verringerten Herzzeitvolumen ohne klinische Relevanz, da sich kein Unterschied bezüglich der Katecholamintherapie ergab. Die Arbeitsgruppe um de Hert untersuchte, ob der Zeitpunkt der Sevoflurangabe ausschlaggebend für die durch Sevofluran induzierte Kardioprotektion ist.³¹ Nach der Sternotomie wurden den Patienten Sevofluran bis zum Beginn des kardiopulmonalem Bypasses je nach klinischen Erfordernissen und der Hämodynamik des Patienten in Dosierungen zwischen 0.5 und 2.0 Vol%

verabreicht (Präkonditionierungsgruppe). Einer weiteren Gruppe wurde das volatile Anästhetikum von Anfang der Reperfusionphase bis zum Ende der Operation zugeführt (Postkonditionierungsgruppe). In einer dritten Behandlungsgruppe wurde die balancierte Allgemeinanästhesie während der gesamten Operation mit Sevofluran aufrechterhalten. Die Patienten in der Kontrollgruppe erhielten eine Propofol basierte Anästhesie. Sowohl in der Präkonditionierungsgruppe als auch in der Postkonditionierungsgruppe beobachteten die Autoren tendenziell niedrigere Troponin I-Plasmaspiegel nach der ACVB-Operation. Eine signifikante Reduktion des Troponins als Marker für den myokardialen Zellschaden konnte jedoch nur in der vollständig mit Sevofluran geführten Allgemeinanästhesie nachgewiesen werden. In anderen klinischen Studien erfolgte entweder keine Auswaschphase oder das volatile Anästhetikum wurde sowohl vor als auch nach der extrakorporalen Zirkulation beziehungsweise während der gesamten Allgemeinanästhesie zugeführt. Demzufolge könnten in diesen Studien kardioprotektive Effekte aufgetreten sein, die nicht durch die Präkonditionierung sondern zum Beispiel während der Ischämie oder der Reperfusion hervorgerufen wurden (Postkonditionierung). Julier et al. applizierten hohe Dosen Sevofluran (4 Vol%) in der Phase der extrakorporalen Zirkulation ohne anschließende Auswaschung.⁴¹ In ihren Ergebnissen zeigten sich keine unterschiedlichen Troponin I-Anstiege. Sie verzeichneten aber nach der Sevofluranvorbehandlung eine Reduktion des NT-proBNPs, einem Marker der myokardialen Dysfunktion. Außerdem konnten sie eine Translokation der PKC δ ins Sarkolemm sowie der PKC ϵ in die Mitochondrien, Glanzstreifen und Zellkerne im rechten Vorhofgewebe zeigen. Um einen ausreichenden Perfusionsdruck zu gewährleisten, mussten während der hohen Sevoflurankonzentration Phenylephrine verabreicht werden. Das Sympathomimetikum Phenylephrin sowie der kardiopulmonale Bypass können ebenfalls einen Präkonditionierungseffekt auslösen,⁶⁴ wodurch die protektiven Effekte der Sevofluranapplikation vermutlich verstärkt oder verdeckt wurden.

In experimentellen Studien wurde immer wieder die Aktivierung der PKC als zentralen Schritt der Signaltransduktionskette der APC dargestellt.³⁹ Auf molekularbiologischer Ebene konnte in der vorliegenden Studie, weder durch eine Zunahme der Phosphorylierung der PKC ϵ noch durch eine Translokation der PKC ϵ , eine anästhetikainduzierte Präkonditionierung gezeigt werden. Es kam zu keiner statistisch signifikanten Translokation der PKC vom Zytosol zu den Zellkernen als

Kennzeichen der PKC-Aktivierung.^{65,66}

Im Gegensatz zu der vorliegenden Studie benutzten Julier et al. den Proteaseinhibitor Aprotinin bei ihren Patienten,⁴¹ welcher in tierexperimentellen Studien eine durch Sevofluran induzierte Präkonditionierung verhinderte. Dies mag in vorangegangenen klinischen Studien den kardioprotektiven Effekt der volatilen Anästhetika beeinflusst haben.^{31,41} Abgesehen vom Aprotinin, welches als bekannter Blocker der Signaltransduktionskette der Präkonditionierung in dieser Studie nicht verwendet wurde, wirken auf die Patienten eine Vielzahl unterschiedlicher Faktoren, die teilweise in tierexperimentellen Studien die Präkonditionierung blockieren. Diesbezüglich sind zum Beispiel erhöhte Blutglucosespiegel,⁶⁷ die Einnahme oraler Antidiabetika⁶⁸ oder β -Rezeptorenblocker⁶⁹ zu nennen. Andere perioperative Faktoren, die möglicherweise den Ischämie- und Reperfusionsschaden beeinflussen, waren annähernd gleich in allen Patientengruppen. So wurden alle Patienten erfolgreich revaskularisiert, es wurde eine kardioplegische Lösung entsprechend der Technik nach Calafiore gegeben, um das Herz im kardioplegischen Arrest zu halten. Alle Operationen wurden durch denselben Operateur durchgeführt und während des kardiopulmonalen Bypasses war keine zwischenzeitliche Reperfusion notwendig. Die unterschiedlichen Phasen der Anästhesie während des Zyklus der Präkonditionierung könnten eventuell zu einem besseren Verhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf führen. Deswegen wurde in der Kontrollgruppe für den entsprechenden Zeitraum der Präkonditionierung (Sevo-Gruppe) die TCI-gesteuerte Propofolzufuhr pausiert und bei allen Patienten dieselbe Anästhesietiefe aufrechterhalten, welche mittels BIS-Monitoring überwacht wurde (Kontrollgruppe: 32 ± 7 ; Sevo-Gruppe: 31 ± 8). Um das zusätzliche individuelle Patientenrisiko abzuschätzen, wurde für jeden Patienten der EuroSCORE berechnet. In beiden Gruppen zeigte sich eine gleiche Verteilung des EuroSCOREs. Offensichtlich bestanden keine Unterschiede der perioperativen Faktoren, so dass gemessene Unterschiede zu der Kontrollgruppe höchstwahrscheinlich auf die Verabreichung des Sevoflurans zurückzuführen wären.

Es wurden keine Plasma- oder Myokardspiegel des Sevoflurans sondern wie in klinischer Routine üblich die endexpiratorische Sevoflurankonzentration gemessen. Durch einen hohen Frischgasfluss ($12 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$) während der Präkonditionierungsphase wurde sichergestellt, dass das volatile Anästhetikum sehr schnell ein- und ausgewaschen werden konnte. Auf diese Weise konnte

gewährleistet werden, dass 5 Minuten nach Applikation die bei allen Patienten endexpiratorisch gemessene Sevoflurankonzentration im Atemgas 0 Vol% betrug. Wissenschaftlich ist belegt, dass der größtmögliche einheitliche kardioprotektive Effekt erzielt werden kann, wenn das volatile Anästhetikum während des gesamten operativen Eingriffs appliziert wird.³¹ In vorherigen klinischen Studien wurden die pharmakologischen Substanzen, die eine Präkonditionierung induzieren sollten, zu unterschiedlichen Zeitpunkten beziehungsweise Zeitspannen verabreicht, so dass sich wahrscheinlich verschiedene kardioprotektive Effekte wie Prä- und Postkonditionierung additiv ausgewirkt haben. Randomisierte, klinische Multicenterstudien konnten zeigen, dass die kardioprotektiven Effekte durch Desfluran induziert bei einer ACVB-Operation mit kardiopulmonalem Bypass genauso ausgeprägt sind wie bei Patienten, die sich einer Bypassoperation am schlagendem Herzen ohne Herz-Lungen-Maschine (OPCAB-Eingriff) unterzogen.^{59,60} Im Gegensatz dazu konnte eine klinische Studie mit 18 Patienten mit vergleichbaren BIS-Werten keine positiven Effekte der Sevoflurananästhesie gegenüber der Propofolanästhesie aufführen.⁷⁰ Die Arbeitsgruppe um de Hert zeigte in unterschiedlichen Untersuchungen bessere kardioprotektive Eigenschaften der inhalativen Anästhetika als die intravenösen Anästhetika bei Patienten während der ACVB-Operation.^{31,71} Eine kontinuierliche Sevofluran-Gabe während des gesamten operativen Geschehens führte später zu kürzen Verweilzeiten auf der Intensivstation sowie kürzeren Krankenhausaufenthalten. Aktuelle Metaanalysen zeigen, dass die neueren volatilen Anästhetika Sevofluran und Desfluran den postoperativen Troponin I-Anstieg reduzieren und daraus eine geringere Morbidität und Mortalität resultiert.^{43,45}

Die vorliegende Studie konnte erstmals zeigen, dass 1 MAC Sevofluran für 5 Minuten vor dem kardiopulmonalen Bypass appliziert und nach einer 10-minütigen Auswaschphase beim Menschen keine myokardiale Präkonditionierung induziert. Molekularbiologisch konnte eine anästhetikainduzierte Präkonditionierung weder durch eine Zunahme der Phosphorylierung der PKC α und der PKC ϵ noch eine Translokation der PKC α und der PKC ϵ gezeigt werden. Einen Anstieg der Phosphorylierung der Tyrosinkinase src durch die APC konnte ebenfalls nicht dargestellt werden. Hinsichtlich der Troponin I-, der CK-, CK-MB- und der BNP-Plasmakonzentrationen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen werden. Wesentliches Ergebnis dieser Studie ist, dass

kardioprotektive Effekte am menschlichen Myokard ausgedrückt durch Reduktion des Zellschadens und durch Aktivierung der PKC auf zellulärer Ebene mittels dieses Studienprotokolls nicht ausgelöst werden konnten.

5. Methodenkritik

Aus der experimentellen Datenlage ist bekannt, dass mehrere Präkonditionierungsstimuli verglichen mit einem einzelnen Stimulus ausgeprägtere kardioprotektive Effekte hervorrufen.⁷² In der hier durchgeführten Studie wurde nur ein APC-Stimulus gesetzt. Auch wenn gezeigt werden konnte, dass ein einzelner Zyklus der Sevoflurangabe keine kardioprotektiven Effekte am Myokard beim Menschen auslöst, ist zu untersuchen, ob vom Präkonditionierungsprotokoll abhängig zwei oder mehrere APC-Stimuli oder eine zeitlich verlängerte Applikation (z.B. 10 Minuten anstatt 5 Minuten wie in dieser Studie) beim Menschen eine APC induzieren. Verschiedene Studien anderer Arbeitsgruppen konnten mit höheren volatilen Anästhetikakonzentrationen oder längeren Applikationen keine deutlicheren kardioprotektiven Effekte aufzeigen.^{31,41}

In der vorliegenden Studie wurde das Troponin I als Biomarker für die myokardiale Schädigung bestimmt. Es besitzt eine hohe myokardiale Gewebespezifität und eine hohe Sensitivität, da es gerade geringe Mengen an Myokardnekrosen und irreversiblen Zellschäden widerspiegeln kann.^{46,73} Fellahi et al. konnten zeigen, dass Troponin I Aussagen über das kurz- und langfristige Outcome bei ACVB-Patienten treffen kann.⁴⁷ Allerdings war unsere Studie nicht angelegt, um das kurz- und langfristige Outcome der Patienten nach der ACVB-Operation zu erfassen, so dass keine Schlüsse bezüglich des Outcomes der Patienten nach myokardialer Präkonditionierung zugelassen sind. Im Gegensatz zu einer früheren Studie von Julier und Kollegen konnten wir keine signifikanten Unterschiede der BNP-Werte im Blutplasma zwischen den beiden Gruppen feststellen.⁴¹ Diese Diskrepanz mag wie zuvor bereits besprochen in den unterschiedlichen Methoden der beiden Studien begründet liegen.

Die meisten tierexperimentellen Studien zur ischämischen oder pharmakologischen Präkonditionierung benutzten junge gesunde Tiere. Die Untersuchungen der Arbeitsgruppe Pantos zeigten, dass Präkonditionierung zwar bei Myokardhypertrophie nicht aber beim Herzversagen ausgelöst werden konnte.⁷⁴ Im älteren Herz tritt Präkonditionierung ebenfalls nicht auf,⁷⁵ jedoch konnte Abete zeigen, dass sie sich durch Training und Ernährungsumstellung auch wieder im älteren Herz induzieren lässt.⁷⁶ Insofern ist zu diskutieren, ob das höhere Alter der Studienpatienten (Kontrolle: 66±8 Jahre; SEVO: 65±9 Jahre) einen

Präkonditionierungseffekt verhindert oder abgeschwächt haben könnte.

Die meisten Patienten dieser Studie nahmen perioperativ einen β -Rezeptorenblocker ein. Der Durchschnittswert des Blutzuckers stieg während des kardiopulmonalem Bypasses auf $145 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ an. Diese Faktoren zum Beispiel könnten eine vollständige oder teilweise Blockade des Mechanismus der Präkonditionierung bewirkt haben und erklären, weswegen sich weder eine Zunahme der Phosphorylierung der PKC und der Tyrosinkinase src noch eine Translokation der PKC zeigen ließ.⁶⁷⁻⁶⁹ Es stellt sich die Frage, ob durch Veränderungen des Protokolls, indem beispielsweise die Sevofluranzyklen variiert werden, ein stärkerer Stimulus erzielt werden kann, der wiederum eine Organprotektion induzieren kann.

Die experimentelle Datenlage zur ischämischen Präkonditionierung zeigte, dass im Gegensatz zu einem einzelnen ischämischen Stimulus mehrere ischämische Stimuli einen größeren protektiven Effekt bewirken. Ebenso gelangten Riess et al. für die APC durch Sevofluran zu diesen Ergebnissen,³² so dass vermutet werden kann, dass die einmalige Gabe Sevofluran gefolgt von der Auswaschphase einen zu schwachen Stimulus darstellt, um die Signaltransduktionskette der APC zu aktivieren.

6. Literaturverzeichnis

1. Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), and Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). Nationale VersorgungsLeitlinie, Chronische KHK, Langfassung Version 1.13 2006. Available from: <http://www.khk.-versorgungsleitlinien.de>; DOI: 10.6101/AZQ/000041.
2. Murry,C.E., Jennings,R.B., & Reimer,K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74, 1124-1136 (1986).
3. Shiki,K. & Hearse,D.J. Preconditioning of ischemic myocardium: reperfusion-induced arrhythmias. *Am. J. Physiol* 253, H1470-H1476 (1987).
4. Molojavyi,A., Preckel,B., Comfere,T., Mullenheim,J., Thamer,V., & Schlack,W. Effects of ketamine and its isomers on ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *Anesthesiology* 94, 623-629 (2001).
5. Schulz,R., Post,H., Sakka,S., Wallbridge,D.R., & Heusch,G. Intraischemic preconditioning. Increased tolerance to sustained low-flow ischemia by a brief episode of no-flow ischemia without intermittent reperfusion. *Circ. Res.* 76, 942-950 (1995).
6. 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.* 21, 1597-1604 (1993).
7. Deutsch,E., Berger,M., Kussmaul,W.G., Hirshfeld,J.W., Jr., Herrmann,H.C., & Laskey,W.K. Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation* 82, 2044-2051 (1990).
8. Yellon,D.M., Alkhulaifi,A.M., & Pugsley,W.B. Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 342, 276-277 (1993).

9. Mentzer,R.M., Jr., Birjiniuk,V., Khuri,S., Lowe,J.E., Rahko,P.S., Weisel,R.D., Wellons,H.A., Barker,M.L., & Lasley,R.D. Adenosine myocardial protection: preliminary results of a phase II clinical trial. *Ann. Surg.* 229, 643-649 (1999).
10. Mentzer,R.M., Jr., Rahko,P.S., Molina-Viamonte,V., Canver,C.C., Chopra,P.S., Love,R.B., Cook,T.D., Hegge,J.O., & Lasley,R.D. Safety, tolerance, and efficacy of adenosine as an additive to blood cardioplegia in humans during coronary artery bypass surgery. *Am. J. Cardiol.* 79, 38-43 (1997).
11. 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., & . Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. A clinical correlate to preconditioning? *Circulation* 91, 37-45 (1995).
12. Kloner,R.A., Shook,T., Antman,E.M., Cannon,C.P., Przyklenk,K., Yoo,K., McCabe,C.H., & Braunwald,E. Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome: an ancillary study in TIMI-9B. *Circulation* 97, 1042-1045 (1998).
13. Cohen,M.V., Baines,C.P., & Downey,J.M. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor to KATP channel. *Annu. Rev. Physiol* 62, 79-109 (2000).
14. Hausenloy,D.J., Maddock,H.L., Baxter,G.F., & Yellon,D.M. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning? *Cardiovasc. Res.* 55, 534-543 (2002).
15. Cope,D.K., Impastato,W.K., Cohen,M.V., & Downey,J.M. Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 86, 699-709 (1997).
16. Mullenheim,J., Ebel,D., Frassdorf,J., Preckel,B., Thamer,V., & Schlack,W. Isoflurane preconditions myocardium against infarction via release of free radicals. *Anesthesiology* 96, 934-940 (2002).
17. Toller,W.G., Gross,E.R., Kersten,J.R., Pagel,P.S., Gross,G.J., & Wartier,D.C. Sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate- dependent

- potassium channels: mechanism of desflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 92, 1731-1739 (2000).
18. Novalija,E., Fujita,S., Kampine,J.P., & Stowe,D.F. Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology* 91, 701-712 (1999).
 19. Belhomme,D., Peynet,J., Louzy,M., Launay,J.M., Kitakaze,M., & Menasche,P. Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 100, II340-II344 (1999).
 20. Kikura,M. & Ikeda,K. Comparison of effects of sevoflurane/nitrous oxide and enflurane/nitrous oxide on myocardial contractility in humans. Load-independent and noninvasive assessment with transesophageal echocardiography. *Anesthesiology* 79, 235-243 (1993).
 21. Ebert,T.J. & Muzi,M. Sympathetic hyperactivity during desflurane anesthesia in healthy volunteers. A comparison with isoflurane. *Anesthesiology* 79, 444-453 (1993).
 22. Ebert,T.J., Muzi,M., & Lopatka,CW. Effects of Sevoflurane on Hemodynamics and Sympathetic Neural Activity in Humans: A Comparison to Isoflurane. *Anesthesiology* 81, A134 (1994).
 23. Bennett,S.R. & Griffin,S.C. Sevoflurane versus isoflurane in patients undergoing valvular cardiac surgery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 15, 175-178 (2001).
 24. Lerman,J., Oyston,J.P., Gallagher,T.M., Miyasaka,K., Volgyesi,G.A., & Burrows,F.A. The minimum alveolar concentration (MAC) and hemodynamic effects of halothane, isoflurane, and sevoflurane in newborn swine. *Anesthesiology* 73, 717-721 (1990).
 25. Conzen,P.F., Vollmar,B., Habazettl,H., Frink,E.J., Peter,K., & Messmer,K. Systemic and regional hemodynamics of isoflurane and sevoflurane in rats. *Anesth. Analg.* 74, 79-88 (1992).

26. Kersten,J.R., Brayer,A.P., Pagel,P.S., Tessmer,J.P., & Wartier,D.C. Perfusion of ischemic myocardium during anesthesia with sevoflurane. *Anesthesiology* 81, 995-1004 (1994).
27. Strum,D.P. & Eger,E.I. Partition coefficients for sevoflurane in human blood, saline, and olive oil. *Anesth. Analg.* 66, 654-656 (1987).
28. Yasuda,N., Lockhart,S.H., Eger,E.I., Weiskopf,R.B., Liu,J., Laster,M., Taheri,S., & Peterson,N.A. Comparison of kinetics of sevoflurane and isoflurane in humans. *Anesth. Analg.* 72, 316-324 (1991).
29. Yasuda,N., Targ,A.G., & Eger,E.I. Solubility of I-653, sevoflurane, isoflurane, and halothane in human tissues. *Anesth. Analg.* 69, 370-373 (1989).
30. De Hert,S.G., Van der Linden,P.J., ten Broecke,P.W., Vermeylen,K.T., Rodrigus,I.E., & Stockman,B.A. Effects of desflurane and sevoflurane on length-dependent regulation of myocardial function in coronary surgery patients. *Anesthesiology* 95, 357-363 (2001).
31. De Hert,S.G., Van der Linden,P.J., Cromheecke,S., Meeus,R., Nelis,A., Van,R., V, ten Broecke,P.W., De Blier,I.G., Stockman,B.A., & Rodrigus,I.E. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing coronary surgery with cardiopulmonary bypass are related to the modalities of its administration. *Anesthesiology* 101, 299-310 (2004).
32. Riess,M.L., Kevin,L.G., Camara,A.K., Heisner,J.S., & Stowe,D.F. Dual exposure to sevoflurane improves anesthetic preconditioning in intact hearts. *Anesthesiology* 100, 569-574 (2004).
33. Hausenloy,D.J. Cardioprotection techniques: preconditioning, postconditioning and remote conditioning (basic science). *Curr. Pharm. Des* (2012).
34. Ghosh,S. & Galinanes,M. Protection of the human heart with ischemic preconditioning during cardiac surgery: role of cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 126, 133-142 (2003).

35. Marber,M.S., Latchman,D.S., Walker,J.M., & Yellon,D.M. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 88, 1264-1272 (1993).
36. Zhao,Z.Q., Corvera,J.S., Halkos,M.E., Kerendi,F., Wang,N.P., Guyton,R.A., & Vinten-Johansen,J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol* 285, H579-H588 (2003).
37. Ismaeil,M.S., Tkachenko,I., Gamperl,A.K., Hickey,R.F., & Cason,B.A. Mechanisms of isoflurane-induced myocardial preconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 90, 812-821 (1999).
38. Roscoe,A.K., Christensen,J.D., & Lynch,C., III Isoflurane, but not halothane, induces protection of human myocardium via adenosine A1 receptors and adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology* 92, 1692-1701 (2000).
39. Zaugg,M., Lucchinetti,E., Spahn,D.R., Pasch,T., & Schaub,M.C. Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K(ATP) channels via multiple signaling pathways. *Anesthesiology* 97, 4-14 (2002).
40. Kohro,S., Hogan,Q.H., Nakae,Y., Yamakage,M., & Bosnjak,Z.J. Anesthetic effects on mitochondrial ATP-sensitive K channel. *Anesthesiology* 95, 1435-340 (2001).
41. Julier,K., da Silva,R., Garcia,C., Bestmann,L., Frascarolo,P., Zollinger,A., Chassot,P.G., Schmid,E.R., Turina,M.I., von Segesser,L.K., Pasch,T., Spahn,D.R., & Zaugg,M. Preconditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, placebo-controlled, multicenter study. *Anesthesiology* 98, 1315-1327 (2003).
42. Hassouna,A., Matata,B.M., & Galinanes,M. PKC-epsilon is upstream and PKC-alpha is downstream of mitoKATP channels in the signal transduction

- pathway of ischemic preconditioning of human myocardium. *Am. J. Physiol Cell Physiol* 287, C1418-C1425 (2004).
43. Symons, J.A. & Myles, P.S. Myocardial protection with volatile anaesthetic agents during coronary artery bypass surgery: a meta-analysis. *Br. J. Anaesth.* 97, 127-136 (2006).
 44. Piriou, V., Mantz, J., Goldfarb, G., Kitakaze, M., Chiari, P., Paquin, S., Cornu, C., Lecharny, J.B., Aussage, P., Vicaut, E., Pons, A., & Lehot, J.J. Sevoflurane preconditioning at 1 MAC only provides limited protection in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a randomized bi-centre trial. *Br. J. Anaesth.* 99, 624-631 (2007).
 45. Landoni, G., Biondi-Zoccai, G.G., Zangrillo, A., Bignami, E., D'Avolio, S., Marchetti, C., Calabro, M.G., Fochi, O., Guarracino, F., Tritapepe, L., De Hert, S., & Torri, G. Desflurane and sevoflurane in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 21, 502-511 (2007).
 46. Selvanayagam, J.B., Pigott, D., Balacumaraswami, L., Petersen, S.E., Neubauer, S., & Taggart, D.P. Relationship of irreversible myocardial injury to troponin I and creatine kinase-MB elevation after coronary artery bypass surgery: insights from cardiovascular magnetic resonance imaging. *J. Am. Coll. Cardiol.* 45, 629-631 (2005).
 47. Fellahi, J.L., Gue, X., Richomme, X., Monier, E., Guillou, L., & Riou, B. Short- and long-term prognostic value of postoperative cardiac troponin I concentration in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 99, 270-274 (2003).
 48. Weber, N.C., Toma, O., Wolter, J.I., Wirthle, N.M., Schlack, W., & Preckel, B. Mechanisms of xenon- and isoflurane-induced preconditioning - a potential link to the cytoskeleton via the MAPKAPK-2/HSP27 pathway. *Br. J. Pharmacol.* 146, 445-455 (2005).
 49. Baines, C.P., Cohen, M.V., & Downey, J.M. Signal transduction in ischemic preconditioning: the role of kinases and mitochondrial K(ATP) channels. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 10, 741-754 (1999).

50. Michel,P., Roques,F., & Nashef,S.A. Logistic or additive EuroSCORE for high-risk patients? *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 23, 684-687 (2003).
51. Lowry,O.H., ROSEBROUGH,N.J., FARR,A.L., & RANDALL,R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275 (1951).
52. Cleveland,D.W., Fischer,S.G., Kirschner,M.W., & Laemmli,U.K. Peptide mapping by limited proteolysis in sodium dodecyl sulfate and analysis by gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 252, 1102-1106 (1977).
53. Laemmli,U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685 (1970).
54. Manning,M. & Colon,W. Structural basis of protein kinetic stability: resistance to sodium dodecyl sulfate suggests a central role for rigidity and a bias toward beta-sheet structure. *Biochemistry* 43, 11248-11254 (2004).
55. Schagger,H. & von Jagow,G. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal. Biochem.* 166, 368-379 (1987).
56. Schlack,W., Preckel,B., Barthel,H., Obal,D., & Thamer,V. Halothane reduces reperfusion injury after regional ischaemia in the rabbit heart in vivo. *Br. J. Anaesth.* 79, 88-96 (1997).
57. Weber,N.C., Toma,O., Wolter,J.I., Obal,D., Mullenheim,J., Preckel,B., & Schlack,W. The noble gas xenon induces pharmacological preconditioning in the rat heart in vivo via induction of PKC-epsilon and p38 MAPK. *Br. J. Pharmacol.* 144, 123-132 (2005).
58. Mullenheim,J., Ebel,D., Bauer,M., Otto,F., Heinen,A., Frassdorf,J., Preckel,B., & Schlack,W. Sevoflurane confers additional cardioprotection after ischemic late preconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 99, 624-631 (2003).
59. Guarracino,F., Landoni,G., Tritapepe,L., Pompei,F., Leoni,A., Aletti,G., Scandroglio,A.M., Maselli,D., De Luca,M., Marchetti,C., Crescenzi,G., & Zangrillo,A. Myocardial damage prevented by volatile anesthetics: a

- multicenter randomized controlled study. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 20, 477-483 (2006).
60. Tritapepe,L., Landoni,G., Guarracino,F., Pompei,F., Crivellari,M., Maselli,D., De Luca,M., Fochi,O., D'Avolio,S., Bignami,E., Calabro,M.G., & Zangrillo,A. Cardiac protection by volatile anaesthetics: a multicentre randomized controlled study in patients undergoing coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Eur. J. Anaesthesiol.* 24, 323-331 (2007).
61. Pouzet,B., Lecharyn,J.B., Dehoux,M., Paquin,S., Kitakaze,M., Mantz,J., & Menasche,P. Is there a place for preconditioning during cardiac operations in humans? *Ann. Thorac. Surg.* 73, 843-848 (2002).
62. Tomai,F., De Paulis,R., Penta,d.P., Colagrande,L., Caprara,E., Polisca,P., De Matteis,G., Ghini,A.S., Forlani,S., Colella,D., & Chiariello,L. Beneficial impact of isoflurane during coronary bypass surgery on troponin I release. *G. Ital. Cardiol.* 29, 1007-1014 (1999).
63. Forlani,S., Tomai,F., De Paulis,R., Turani,F., Colella,D.F., Nardi,P., De Notaris,S., Moscarelli,M., Magliano,G., Crea,F., & Chiariello,L. Preoperative shift from glibenclamide to insulin is cardioprotective in diabetic patients undergoing coronary artery bypass surgery. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* 45, 117-122 (2004).
64. Tejero-Taldo,M.I., Gursoy,E., Zhao,T.C., & Kukreja,R.C. Alpha-adrenergic receptor stimulation produces late preconditioning through inducible nitric oxide synthase in mouse heart. *J. Mol. Cell Cardiol.* 34, 185-195 (2002).
65. Wang,Y. & Ashraf,M. Role of protein kinase C in mitochondrial KATP channel-mediated protection against Ca²⁺ overload injury in rat myocardium. *Circ. Res.* 84, 1156-1165 (1999).
66. Wang,Y., Hirai,K., & Ashraf,M. Activation of mitochondrial ATP-sensitive K(+) channel for cardiac protection against ischemic injury is dependent on protein kinase C activity. *Circ. Res.* 85, 731-741 (1999).

67. Kehl,F., Krolikowski,J.G., Mraovic,B., Pagel,P.S., Wartier,D.C., & Kersten,J.R. Hyperglycemia prevents isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction. *Anesthesiology* 96, 183-188 (2002).
68. Kersten,J.R., Lowe,D., Hettrick,D.A., Pagel,P.S., Gross,G.J., & Wartier,D.C. Glyburide, a KATP channel antagonist, attenuates the cardioprotective effects of isoflurane in stunned myocardium. *Anesth. Analg.* 83, 27-33 (1996).
69. Lange,M., Smul,T.M., Blomeyer,C.A., Redel,A., Klotz,K.N., Roewer,N., & Kehl,F. Role of the beta1-adrenergic pathway in anesthetic and ischemic preconditioning against myocardial infarction in the rabbit heart in vivo. *Anesthesiology* 105, 503-510 (2006).
70. Law-Koune,J.D., Raynaud,C., Liu,N., Dubois,C., Romano,M., & Fischler,M. Sevoflurane-remifentanil versus propofol-remifentanil anesthesia at a similar bispectral level for off-pump coronary artery surgery: no evidence of reduced myocardial ischemia. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 20, 484-492 (2006).
71. De Hert,S.G., Cromheecke,S., ten Broecke,P.W., Mertens,E., De Blier,I.G., Stockman,B.A., Rodrigus,I.E., & Van der Linden,P.J. Effects of propofol, desflurane, and sevoflurane on recovery of myocardial function after coronary surgery in elderly high-risk patients. *Anesthesiology* 99, 314-323 (2003).
72. Fryer,R.M., Schultz,J.E., Hsu,A.K., & Gross,G.J. Importance of PKC and tyrosine kinase in single or multiple cycles of preconditioning in rat hearts. *Am. J. Physiol* 276, H1229-H1235 (1999).
73. Alpert,J.S., Thygesen,K., Antman,E., & Bassand,J.P. Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 36, 959-969 (2000).
74. Pantos,C., Mourouzis,I., & Cokkinos,D.V. Protection of the abnormal heart. *Heart Fail. Rev.* 12, 319-330 (2007).
75. Abete,P., Ferrara,N., Cioppa,A., Ferrara,P., Bianco,S., Calabrese,C., Cacciatore,F., Longobardi,G., & Rengo,F. Preconditioning does not prevent

postischemic dysfunction in aging heart. *J. Am. Coll. Cardiol.* 27, 1777-1786 (1996).

76. Abete,P., Testa,G., Galizia,G., Mazzella,F., Della,M.D., de Santis,D., Calabrese,C., Cacciatore,F., Gargiulo,G., Ferrara,N., Rengo,G., Sica,V., Napoli,C., & Rengo,F. Tandem action of exercise training and food restriction completely preserves ischemic preconditioning in the aging heart. *Exp. Gerontol.* 40, 43-50 (2005).

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Wolfgang Schlack und Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Benedikt Preckel sowie Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Jost Müllenheim für die freundliche Überlassung des Themas und für die hervorragende Betreuung und kritische Begleitung während der Durchführung der Studie.

Besonders danke ich Herrn Dr. Dr. med. Jan Fräßdorf für seine ununterbrochene Bereitschaft zur Unterstützung bei der Durchführung der Experimente und der Erstellung der Dissertation sowie Frau Dr. rer. nat. Nina Weber und Frau Dr. med. Jessica Wolter für das Anleiten des Western Blot-Verfahrens und die Betreuung in den Laboren der experimentellen Anästhesiologie.

Mein Dank gilt auch Thomas Meemann und René Weber stellvertretend für alle Mitdoktoranden für die exzellente Zusammenarbeit in der Klinik und im Labor.

Ebenso danke ich allen, die mir außerhalb der Klinik bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite gestanden und mir dieses ermöglicht haben, insbesondere meiner Frau Melanie.

Lebenslauf

Persönliche

Angaben

Name: Manuel Hermes
 Geburtsdatum: 10. Januar 1979
 Geburtsort: Wuppertal
 Familienstand: verheiratet, 2 Kinder
 Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulische

Ausbildung

1985-1989 katholische Grundschule Berge
 1989-1998 Gymnasium Leoninum Handrup
 1998 Allgemeine Hochschulreife

Zivildienst

1998-1999 DRK-Rettungsdienst und Krankentransport im Landkreis
 Osnabrück: Ausbildung zum Rettungssanitäter

Universitäre

Ausbildung

1999-2000 Studium der Humanmedizin, Martin-Luther-Universität
 Halle-Wittenberg
 2000-2006 Studium der Humanmedizin, Heinrich-Heine-Universität
 Düsseldorf
 2001 Ärztliche Vorprüfung
 2002 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 2005 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 2005-2006 Praktisches Jahr mit Wahlfach Anästhesiologie
 2006 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 2006 Approbation als Arzt

Promotion

seit 2003 Arbeitsgruppe von Herrn Univ.-Prof. Dr. med. W. Schlack

Berufliche**Aktivitäten**

seit 2006 Assistenzarzt an der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin,
Schmerztherapie und Notfallmedizin, Klinikum Duisburg

2008 Fachkunde Arzt in Rettungsdienst

seit 2008 Teilnahme am Notarztdienst der Berufsfeuerwehr Duisburg

seit 2009 Notarzt und Veranstaltungsarzt für das Deutsche Rote Kreuz
Düsseldorf

2011 Facharzt Anästhesiologie

2013 Zusatzbezeichnung Notfallmedizin

Ratingen, den 24. Januar 2014



Zusammenfassung

(Vorgelegt von: Manuel Hermes)

Pharmakologisch induzierte Präkonditionierung beim Menschen: Klinisch experimentelle Untersuchung zur myokardialen Präkonditionierung durch das volatile Inhalationsanästhetikum Sevofluran bei Patienten mit elektiver aortokoronarer Bypass-Operation

Einleitung: Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass Sevofluran eine pharmakologische Präkonditionierung (PC) induziert. Die Phosphorylierung der PKC, insbesondere der Isoformen α und ϵ , und der Tyrosinkinase src zählen zu den bedeutenden Schritten in der Signalkaskade der PC. Es wurde untersucht, ob Sevofluran zur Präkonditionierung im humanen Myokard führt und es gegen Infarkt und postischämische Dysfunktion sowie Reperfusionsschäden schützt?

Material und Methoden: Genehmigt durch die zuständige Ethikkommission und nach schriftlicher Einwilligung wurden 20 Patienten in die Studie einbezogen. Die Patienten wurden in eine Kontroll- und Behandlungsgruppe (SEVO) randomisiert zugeteilt. Anästhesieaufrechterhaltung erfolgte durch eine TIVA mit Propofol und Sufentanil. Die SEVO-Gruppe erhielt 10 Minuten vor dem kardiopulmonalem Bypass eine 5 minütige Sevofluran-Gabe (1 MAC) mit anschließender Auswaschphase. Mittels Western Blot-Verfahrens wurde die Phosphorylierung sowie die Translokation der PKC und der Tyrosinkinase in vor und nach der SEVO-Gabe entnommenen Proben des rechten Vorhofs quantifiziert. Nach densitometrischer Analyse wurden die Ergebnisse als Quotient aus der mittleren Lichtintensität der Banden erfasst.

Ergebnisse: Molekularbiologisch konnte eine anästhetikainduzierte PC weder durch eine Zunahme der Phosphorylierung noch eine Translokation gezeigt werden. Hinsichtlich der Troponin I-, der CK-, CKMB- und der BNP-Plasmakonzentrationen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen werden.

Interpretation: 1 MAC Sevofluran, für 5 Minuten vor dem kardiopulmonalen Bypass appliziert, induziert beim Menschen keine myokardiale Präkonditionierung.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

24.01.2014, Manuel Hermes

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Manuel Hermes', with a stylized flourish at the end.