

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

Einfluss unterschiedlicher Anästhesieverfahren auf den Effekt
ischämischer Fernpräkonditionierung in der Ratte *in vivo*

Dissertation

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

vorgelegt von
Sebastian Bunte

2018

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

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Priv.-Doz. Dr. Dr. med. Ragnar Huhn-Wientgen

Zweitgutachter: Priv.-Doz. Dr. med. Hug Aubin

Für meine Familie

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Behmenburg F, van Caster P, Bunte S, Brandenburger T, Heinen A, Hollmann MW, Huhn R, (2018), Impact of Anesthetic Regimen on Remote Ischemic Preconditioning in the Rat Heart In Vivo. *Anesth Analg* 126: 1377-1380

Einfluss unterschiedlicher Anästhesieverfahren auf den Effekt ischämischer Fernpräkonditionierung in der Ratte *in vivo*

- Studie an Rattenherzen *in vivo*-

Doktorand: Sebastian Bunte

Zusammenfassung

Ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC) führt in tierexperimentellen Studien zu einer deutlichen Reduktion des myokardialen Ischämie-/und Reperfusionsschadens. Trotzdem konnten aktuelle klinische Studien keine Effekte von RIPC im Patienten nachweisen. Gegenstand aktueller Forschung ist die Frage, ob diese Divergenz möglicherweise aufgrund einer Störung der protektiven Signalwege durch das verwendete Anästhetikum zustande kommt. Hier steht in aktuellen Arbeiten vor allem das intravenöse Narkotikum Propofol in der Diskussion einen eventuellen negativen Einfluss zu haben. Vor diesem Hintergrund war es das übergeordnete Ziel dieser Arbeit zu untersuchen, ob die Wahl des verwendeten Anästhetikums einen Einfluss auf die Ergebnisse von RIPC hat.

Die Versuche wurden in einem *in vivo* Modell an insgesamt 36 jungen (2-3 Monate), männlichen Wistar Ratten durchgeführt. Nach Narkoseeinleitung per intraperitonealer Einmalinjektion von 80mg/kg Pentobarbital wurden die Tiere intubiert, mechanisch beatmet und für eine zentrale Medikamentengabe (V. jugularis int.), sowie kontinuierliche, invasive Blutdruckmessung (A. carotis com.) instrumentiert. Die Induktion der Ischämie wurde nach Minithorakotomie über Ligatur eines Hauptastes der linken Koronararterie realisiert. Die Ischämiezeit betrug 25 min, gefolgt von 120 min Reperfusion der Areale. Untersucht wurden drei unterschiedliche Anästhesieverfahren, sodass insgesamt sechs Gruppen randomisiert wurden. Angewendet wurde entweder eine Mononarkose mit Pentobarbital (Pento) in einer Dosierung von 40mg/kg/h, eine balancierte Anästhesie mit Sevofluran (1 MAC) und Remifentanyl (0,5µg/kg/h) (Sevo), oder eine Kombinationsanästhesie mit Propofol (12mg/kg/h) und Remifentanyl (0,5µg/kg/h) (Pro). Tiere in den jeweiligen Kontrollgruppen (Con) erhielten abgesehen von der entsprechenden Narkoseform und der Ischämie/Reperfusion keine weitere Behandlung. Tiere in den RIPC-Gruppen (-RIPC) erhielten vor der 25-minütigen Ischämie vier Zyklen fünfminütiger beidseitiger Hinterlaufischämie und Reperfusion. Im Anschluss wurden die Herzen entnommen und die Infarktgröße nach Färbung mit Triphenyltetrazoliumchlorid in Prozent des Risikogebietes angegeben. Die Ergebnisse sind angegeben in Mittelwerte±Standardabweichung. Die nötige Fallzahl wurde so berechnet, dass eine Effektgröße von 25% mit einem α -Fehler von 0,05 nachgewiesen werden könnte. Die statistische Auswertung erfolgte per Varianzanalyse und Tukey post hoc Test. Ergebnisse wurden als signifikant angesehen, wenn $p < 0,05$ war.

Im Ergebnis konnte durch RIPC unter Pentobarbitalnarkose eine signifikante Infarktgrößenreduktion erzielt werden (Pento-RIPC: $30 \pm 9\%$ vs. Pento-Con: $65 \pm 6\%$; $P < 0,05$). Unter der Kombination aus Sevofluran und Remifentanyl kam es ebenfalls zu einer deutlichen Kardioprotektion, wenn RIPC induziert wurde (Sevo-RIPC: $31 \pm 6\%$ vs. Sevo-Con: $61 \pm 8\%$). Unter der Verwendung von Propofol und Remifentanyl konnte keinerlei Infarktgrößenreduktion durch RIPC erreicht werden (Prop-RIPC: $59 \pm 6\%$ n.s. vs. Prop-Con: $59 \pm 8\%$). Die alleinige Anwendung der Anästhetika ohne RIPC führte zu keiner Beeinflussung der Infarktgrößen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Verwendung der klinisch etablierten Anästhesieform aus Propofol und Remifentanyl eine Hemmung RIPC-induzierter Kardioprotektion bei Ratten hervorruft. Die ebenfalls klinisch verwendete balancierte Anästhesie mit Sevofluran und Remifentanyl hat keinen negativen Einfluss auf die Kardioprotektion nach RIPC in der Ratte. Die vorliegenden Daten unterstützen damit die Hypothese, dass Propofol zu der fehlenden Wirksamkeit von RIPC in klinischen Studien beitragen könnte.

Einfluss unterschiedlicher Anästhesieverfahren auf den Effekt ischämischer Fernpräkonditionierung in der Ratte *in vivo*

- Studie an Rattenherzen *in vivo*-

Doktorand: Sebastian Bunte

Abstract

Remote ischemic preconditioning (RIPC) leads to significant reduction of myocardial damage after ischemia and reperfusion injury in experimental protocols. Nevertheless, current clinical trials could not detect any cardioprotective effects after RIPC in patients. Against the background of this divergence, the question of the cause arises. It is discussed whether anesthetics could lead to a disturbance in the mediating signal chain in this context. In conclusion the aim of the current study was to investigate, whether use of different forms of anesthesia causes an influence on cardioprotection by RIPC.

An *in vivo* model in young male wistar rats was used for investigation (aged 2-3 months). After intraperitoneal injection of pentobarbital (80mg/kg), rats were intubated and mechanically ventilated. Furthermore, rats were instrumented for continuous invasive blood pressure measurement in the common carotid artery and for central vein access in the internal jugular vein. Ischemia was caused by ligation of a main branch of the left coronary artery for 25 min, followed by 120 min of reperfusion. Three different anesthetic procedures were examined: a mononarcosis with pentobarbital (Pento; 40mg/kg/h), a balanced anesthesia using sevoflurane (Sevo; 1 MAC) or a combined anesthesia with propofol (Pro; 12mg/kg/h) the last two ever combined with the opioid remifentanyl (0.5µg/kg/h). Animals of control groups (Con) did not receive special treatment except anesthesia, ischemia and reperfusion. Animals in RIPC groups (-RIPC) underwent four cycles of five-minute bilateral hind limb ischemia followed by reperfusion. At the end of the experiment hearts were excised and after staining with triphenyltetrazoliumchloride infarct sizes were given as percentage of area at risk. Results are presented in mean±SD. Sample size was calculated to detect a difference in infarct size of 25% with a power of 80% and an $\alpha < 0.05$. The statistical evaluation was carried out by variance analysis and tukey post hoc test. Results were considered significant if $p < 0.05$.

RIPC under pentobarbital caused a significant infarct size reduction (Pento-RIPC: 30±9% vs. Pento-Con: 65±6%; $P < 0,05$). Balanced anesthesia with sevoflurane and remifentanyl also led to clear cardioprotection after RIPC (Sevo-RIPC: 31±6% vs. Sevo-Con: 61±8%). By using propofol and remifentanyl no reduction of infarct size could be achieved after RIPC (Prop-RIPC: 59±6% n.s. vs. Prop-Con: 59±8%). The sole use of each anesthetics without RIPC did not influence the infarct size.

In conclusion the current data show that using the clinical well established anesthetic combination of propofol and remifentanyl leads to strong inhibition of RIPC-induced cardioprotection. The balanced anesthesia with sevoflurane and remifentanyl, which is also widely used in clinical routine, does not have a negative influence on cardioprotective effects after RIPC in the rat *in vivo*. The results of the present work thus support the currently discussed hypothesis that propofol could contribute to the lack of efficacy of RIPC in clinical studies.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACB-OP	aorto-koronare Bypassoperation
ACS	akutes Koronarsyndrom
ATP	Adenosin-Triphosphat
ERK	extrazellulärsignalregulierende Kinasen
ESA	European Society of Anaesthesiology
ESC	European Society of Cardiology
et al.	und andere
g	Gramm
GABA	γ -Aminobuttersäure
IAPs	inhibitors of Apoptosis Proteins
IPC	ischemic preconditioning
JAK	Januskinase
Kap.	Kapitel
kDa	Kilo-Dalton
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzerkrankung
KI	Konfidenzintervall
KRIPC	kidney remote ischemic preconditioning
LANUV	des Landesamts für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mPTP	mitochondrial permeability transition pore
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NDNV	Nucleus dorsalis nervi vagi
NIH	National Institute of Health
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NRW	Nordrhein-Westfalen
NSTEMI	Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt
Pento	Pentobarbital
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
Pro	Propofol
RISK	reperfusion injury salvage kinase
RKI	Robert Koch Institut
SAFE	survivor activating factor enhancement
SD	Standardabweichung
Sevo	Sevofluran
SPM	Schläge pro Minute
STAT	signal transducer and activator of transcription
STEMI	ST-Streckenhebungsinfarkt
Tab.	Tabelle
TIVA	totale intravenöse Anästhesie
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Ischämische Herzerkrankung.....	2
1.1.1	Definition und Klassifikation	2
1.1.2	Epidemiologie	2
1.1.3	Relevanz im perioperativen Umfeld	4
1.2	Ischämische Präkonditionierung (IPC)	5
1.3	Ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC)	6
1.4	Anästhetika	7
1.4.1	Pentobarbital.....	7
1.4.2	Sevofluran	7
1.4.3	Propofol.....	9
1.5	Ziele der Arbeit	10
2	Material und Methoden	11
2.1	Chirurgisches Vorgehen	11
2.2	Bestimmung der Infarktgröße	12
2.3	Versuchsprotokoll.....	12
2.4	Statistische Methoden	14
2.5	Verwendete Materialien	15
3	Ergebnisse.....	16
3.1	Infarktgröße	16
3.2	Hämodynamische Parameter	18
4	Diskussion	19
4.1	Mögliche Störgrößen bei der ischämischen Fernpräkonditionierung	20
4.2	Mechanismen ischämischer Fernpräkonditionierung und mögliche Beeinflussung durch Propofol	23
4.2.1	Neuronale Vermittlung.....	23
4.2.2	Humorale Faktoren und Aktivierung kardialer Signalwege	24
4.2.3	Das Mitochondrium.....	27
4.3	Limitierungen der Studie.....	29

4.4	Ausblick.....	29
5	Literaturverzeichnis	32

1 Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind mit Abstand die häufigste Todesursache in der industrialisierten Welt. 8,2% der im Rahmen der Krankenhausdiagnose-Statistik erfassten stationären Aufnahmen entfielen auf eine kardiale Ursache. 806,5 Krankenhausaufnahmen pro 100.000 Einwohnern sind bedingt durch eine ischämische Herzerkrankung [1]. Diese Erkrankungen sind mit über sieben Millionen weltweiten Todesfällen im Jahr 2010 gegenüber viereinhalb Millionen im Jahr 1980 deutlich angestiegen [2]. Dieser Anstieg ist unter anderem durch den demographischen Wandel der Gesellschaft und die steigende Zahl an Patienten mit Risikofaktoren, wie Diabetes mellitus, Adipositas, arterieller Hypertonie, und andere Ursachen bedingt. Dies bedeutet zugleich, dass dem Schutz dieser Patienten in jeder hospitalisierten Situation immer größere Bedeutung zukommt. Da die Anzahl an Patienten mit ischämischen Herzerkrankungen im Umfeld operativer Eingriffe zunimmt (s. Kap. 1.1.2 u 1.1.3), wächst auch die Bedeutung eines effektiven Schutzes dieses Patientenkollektivs. Die Möglichkeiten der Protektion jener Patienten beschränken sich aktuell auf eine gute präoperative Evaluation und Diagnostik, eine strenge Indikationsstellung zur operativen Therapie sowie angepasste und behutsame Narkoseführung mit, wenn nötig, invasivem Monitoring der Vitalparameter und der Herzfunktion [3]. Maßnahmen, wie eine prophylaktische präoperative β -Blockertherapie, werden in aktuellen Leitlinien diskutiert, eine eindeutige Empfehlung gibt es bisher aber nicht [3]. Der in mehreren tierexperimentellen sowie einigen klinischen Studien untersuchte Ansatz der ischämischen Fernpräkonditionierung (*remote ischemic preconditioning* = RIPC) scheint eine vielversprechende Möglichkeit zur aktiven Kardioprotektion darzustellen. Bei diesem Verfahren wird ein peripherer Reiz in Form von Zyklen der Ischämie und Reperfusion meist durch Aufpumpen und Ablassen einer Blutdruckmanschette an einer oder mehreren Extremitäten erzeugt. Diese Induktion wird durch noch nicht abschließend geklärte Wege auf das Myokard übertragen und erzeugt dort einen protektiven Effekt, der das Myokard auf später eintretende Ischämien vorbereiten soll [4, 5].

1.1 Ischämische Herzerkrankung

1.1.1 Definition und Klassifikation

Bei der ischämischen Herzerkrankung (= koronare Herzerkrankung, KHK) handelt es sich um die Manifestation der Arteriosklerose in den Koronararterien [6]. Aufgrund von Stenosen kommt es zur reduzierten Durchblutung im koronaren Stromgebiet. Es entsteht ein Missverhältnis zwischen myokardialen Sauerstoffbedarf und dem zur Verfügung stehenden Sauerstoffangebot. Bei entsprechenden Umständen kann die Unterversorgung zur Myokardischämie führen [7]. Je nach Manifestation und Ausprägung kann eine chronische von einer akuten Form unterschieden werden. Unter den akuten Ereignissen fasst man das akute Koronarsyndrom (ACS) mit seinen drei Entitäten der instabilen Angina pectoris, dem NSTEMI (Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt mit Troponinanstieg) und dem STEMI (ST-Streckenhebungsinfarkt mit Troponinanstieg) zusammen. Diese Formen stellen eine akute Lebensgefahr für die Patienten dar. Die chronische Verlaufsform der KHK kann asymptomatisch in Form einer stummen Ischämie oder in Form einer stabilen Angina pectoris ablaufen. In jedem Fall kann aus der chronischen Manifestation zu jeder Zeit eine akute Situation in Form eines ACS mit akuter Lebensbedrohung resultieren [6].

1.1.2 Epidemiologie

In der Todesursachenstatistik der Gesundheitsberichterstattung des Bundes sind die ischämischen Herzerkrankungen und der akute Myokardinfarkt auf Platz eins (siehe Tab. 1) [8]. Zwar nahmen die relativen Anteile über die letzten Jahre leicht ab, jedoch entfallen fast 20% der Todesfälle in Deutschland auf Folgen der koronaren Herzkrankheit [6]. Aktuelle Studien zeigen den hohen Stellenwert, den ischämische Herzerkrankungen in unserem Gesundheitssystem einnehmen. So weisen neue Daten des Bundesministeriums für Gesundheit darauf hin, dass sich der akute Myokardinfarkt mit 145.000 und die chronisch ischämische Herzerkrankung mit 142.000 Diagnosen in der männlichen Bevölkerung im Jahr 2015 auf Platz sechs und acht der 20 häufigsten Hauptdiagnosen vollstationär behandelter Patienten in Deutschland befinden [9]. In der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1) wurden zwischen 2008 und 2011 Daten bezüglich der Prävalenz von akutem Myokardinfarkt und koronarer Herzkrankheit in der Altersgruppe zwischen 40 und 79 Jahren erhoben. Die Arbeitsgruppe um Gößwald stellte dabei eine Lebenszeitprävalenz von gemittelt 9,3% fest, wobei es einen deutlichen geschlechtsspezifischen Unterschied gibt. So kommen Frauen im entsprechenden Alter

auf eine Lebenszeitprävalenz von 6,4%, wohingegen Männer mit 12,3% eine fast doppelt so hohe Wahrscheinlichkeit aufweisen [10]. Neben der gesamten Lebenszeitprävalenz stellten die Forscher einen Zusammenhang zwischen der Erkrankungswahrscheinlichkeit und dem Alter fest. Liegt die Lebenszeitprävalenz im Alter zwischen 40 und 49 Jahren nur bei 2,3%, steigt sie im Alter zwischen 70 und 79 Jahren um das Zehnfache auf 22,3% (siehe Tab.2).

Rang	Frauen Todesursache (ICD-10)	Anteil in %	Männer Todesursache (ICD-10)	Anteil in%
1	Ischämische Herzkrankheiten (I20 bis I25)	13,3	Ischämische Herzkrankheiten (I20 bis I25)	15,6
2	Zerebrovaskuläre Krankheiten (I60 bis I69)	7,6	Lungenkrebs (C33 bis C34)	6,9
3	Herzinsuffizienz (I50)	6,5	Zerebrovaskuläre Krankheiten (I60 bis I69)	5,4
4	Alzheimer u. andere Demenz (F01, F03, G30)	5,2	Chron. Krankheiten der unteren Atemwege (J40 bis J47)	4,2
5	Hypertensive Herzkrankheit / Herz- u. Nierenkrankheit (I11, I13)	4,6	Herzinsuffizienz (I50)	3,7

Tab. 1 Die fünf häufigsten Todesursachen, Todesursachenstatistik 2014, Statistisches Bundesamt [8]

	40 bis 49 Jahre % (95%-KI)	50 bis 59 Jahre % (95%-KI)	60 bis 69 Jahre % (95%-KI)	70 bis 79 Jahre % (95%-KI)	Gesamt % (95%-KI)
Frauen (n=3037)	1,6 (0,7-3,5)	1,8 (0,9-3,2)	10,8 (8,3-13,9)	15,5 (12,2-19,4)	6,4 (5,4-7,6)
Männer (n=2745)	3,0 (1,4-3,8)	6,9 (4,9-9,8)	19,5 (25,9-35,5)	30,5 (25,9-35,5)	12,3 (10,8-14,0)
Gesamt (n=5782)	2,3 (1,4-3,8)	4,4 (3,2-5,9)	15,1 (12,8-17,7)	22,3 (19,3-25,5)	9,3 (8,4-10,3)

Tab. 2 Lebenszeitprävalenz KHK bei Erwachsenen im Alter von 40 bis 79 Jahren in DEGS1 nach Altersgruppe und Geschlecht [8].

1.1.3 Relevanz im perioperativen Umfeld

Im Jahr 2015 wurden in der Bundesrepublik Deutschland insgesamt über 16 Millionen operative Interventionen durchgeführt. Ausgehend vom Jahr 2005 mit etwas über 12 Millionen Operationen liegt damit eine massive Steigerung operativer Behandlungen vor [11]. Betrachtet man die Gruppe der nicht-kardialen Operationen, so detektierten Haynes *et al.* in einem für den weltweiten Querschnitt repräsentativen Kollektiv an Krankenhäusern eine Gesamtkomplikationsrate von 7-11% und eine Mortalitätsrate von 0,8-1,5% [12]. Bis zu 42% der Komplikationen (nicht-letale Komplikationen plus Mortalität) entfallen laut den Guidelines der *European Society of Cardiology* und der *European Society of Anaesthesiology* (ESC/ESA) auf kardiale Ursachen [13, 14]. Das bedeutet, dass aktuell fast die Hälfte aller Zwischenfälle im operativen Umfeld kardialen Ursprungs sind. Ein Faktor für diesen großen Anteil ist das Alter der Patienten. Wie oben geschildert und in Tab. 2 zu sehen, verhalten sich das Lebensalter und die Lebenszeitprävalenz für KHK kongruent zueinander. Je älter ein Patient ist, desto höher ist also die Wahrscheinlichkeit einer kardialen Vorerkrankung. Der Anteil der Patienten im fortgeschrittenen Lebensalter wird sich im Laufe der Zeit weiter erhöhen. Laut Prognose des Statistischen Bundesamtes wird der Anteil der über 60-jährigen in der Bevölkerung von 26,6% im Jahr 2011 auf 39,2% im Jahr 2060 ansteigen [15]. Obwohl wie in Kap. 1.1.2 beschrieben, die relativen Anteile an Todesfällen bedingt durch ischämische Herzerkrankungen in den letzten Jahren leicht abgenommen haben, sind die Absolutzahlen weiterhin hoch (s. Kap. 1.1.1 und 1.1.2) und die Zahl älterer Patienten mit Risikofaktoren und Komorbiditäten steigt deutlich an [14]. Betrachtet man den demographischen Wandel, die in Kapitel 1.1.2 aufgeführte Lebenszeitprävalenz für die KHK in Abhängigkeit vom Alter und die steigenden Operationszahlen in Deutschland, wird deutlich, dass ischämische Herzerkrankungen im Umfeld operativer Interventionen eine immer größere Herausforderung darstellen. Diese steigende Problematik fördert den Wunsch nach aktiven Protektionsmöglichkeiten für gefährdete Patienten.

1.2 Ischämische Präkonditionierung (IPC)

Die Idee der ischämischen Präkonditionierung geht von der Hypothese aus, dass ein Gewebe oder Organ durch kurze Zyklen der Ischämie und Reperfusion protektiv auf nachfolgende Ischämieschäden vorbereitet werden kann. Beim Verfahren der ischämischen Präkonditionierung werden durch kurze Ischämieintervalle gefolgt von Zeiten der Reperfusion Stoffe freigesetzt, die über nicht abschließend geklärte Wege (s. Kap. 4) im Falle der kardialen Präkonditionierung Kardiomyozyten vor dem eigentlichen, nachfolgenden ischämischen Ereignis schützen. 1986 konnte die Arbeitsgruppe um Murry dieses Phänomen erstmals in einem Tierexperiment nachweisen. Ihnen gelang es, die Infarktgröße untersuchter Hunde durch Präkonditionierung im Vergleich zur Kontrollgruppe um bis zu 75% zu senken [16]. Murry *et al.* führten dazu vier Zyklen einer fünfminütigen Okklusion einer Koronararterie mit anschließender Reperfusion im Hundemodell durch. Nachfolgend wurde eine 40-minütige Okklusion zur Simulation eines Myokardinfarkts ausgeführt.

In den folgenden Jahren haben viele tierexperimentelle, aber auch klinische Studien den Effekt der Präkonditionierung als probates Mittel zur Kardioprotektion untersucht und belegen können [17-20]. So konnte durch Yellon *et al.* ein Effekt der Präkonditionierung in herzchirurgischen Patienten während einer ACB-OP (aorto-koronare Bypassoperation) in Form deutlich erhöhter Adenosintriphosphat (ATP)-Gehalte im Myokard nachgewiesen werden [21]. Die Arbeitsgruppe um Wu *et al.* konnte darüber hinaus in einer klinischen Studie einen kardioprotektiven Effekt von IPC bei herzchirurgischen Patienten nachweisen. Endgrößen in dieser Studie waren die globale und rechtsventrikuläre Pumpfunktion sowie die Troponinlevel. Für beide Endgrößen konnte ein positiver Effekt von IPC nachgewiesen werden [20]. Aufgrund der klinisch betrachteten hohen Invasivität und des großen Aufwandes für die Etablierung der Methode im Patienten, wurde nach Möglichkeiten gesucht, den gewünschten Effekt auf anderem, für die klinische Anwendung besser geeignetem Wege durchzuführen. In diesem Zuge rückte die ischämische Fernpräkonditionierung in den Fokus der Forschung.

1.3 Ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC)

Ausgehend von der grundlegenden Idee der direkten Präkonditionierung entdeckten Przyklenk *et al.* erstmalig im Jahr 1993, dass Zyklen der Präkonditionierung nicht nur das direkt betroffene Areal, sondern auch vom eigentlichen Stimulus der Konditionierung entferntes Gewebe schützen [22]. Dazu führte die Arbeitsgruppe vier Episoden fünfminütiger Okklusion des *Ramus circumflexus* mit anschließender fünfminütiger Reperfusion an Hunden durch. Danach erfolgte eine einstündige Ischämie in Form einer Okklusion der linken deszendierenden Koronararterie [22]. Verglichen mit der Kontrollgruppe zeigte sich bei den Tieren eine reduzierte Infarktgröße im Versorgungsgebiet der linken deszendierenden Koronararterie, obwohl der konditionierende Stimulus nicht an diesem Koronarast, sondern am *Ramus circumflexus* durchgeführt wurde. Przyklenk *et al.* schlossen daraus, dass es Mediatoren in Form bestimmter Faktoren geben muss, die einen präkonditionierenden Reiz auch auf davon unbeteiligtes Gewebe übertragen [22]. So entstand die Idee der ischämischen Fernpräkonditionierung. Ausgehend von dieser Arbeit wurde RIPC in unterschiedlichen, zunächst tierexperimentellen Studien untersucht und weiterentwickelt. So haben nachfolgende Projekte die konditionierenden Zyklen von Ischämie und Reperfusion nicht mehr direkt am zu schützenden Organ durchgeführt. Die Effekte wurden vielmehr zielortfern an anderen Geweben oder Organen induziert [4]. Die Arbeitsgruppe um Gho führte zielorganferne Ischämie- und Reperfusionszyklen in der Ratte durch Okklusion einer Mesenterial- oder Nierenarterie durch und konnte dadurch eine Kardioprotektion erzielen [4]. Nachfolgende Experimente konnten diesen Effekt nicht nur in Form invasiver Fernpräkonditionierung erreichen, sondern auch durch non-invasive Techniken [5]. Hier hat sich vor allem die Anwendung eines Extremitäten-Tourniquets in Form einer Blutdruckmanschette etabliert.

RIPC kann nicht nur zur Kardioprotektion angewendet werden. Viele Arbeiten und Studien beschäftigen sich mit den Effekten von ischämischer Fernpräkonditionierung zur Protektion anderer Gewebe und Organe. Besonderes Interesse gilt dabei der Wirkung auf die Niere. Mehrere Studien und Metaanalysen zeigen eine aktive Protektion des Organs durch RIPC [23-27].

1.4 Anästhetika

1.4.1 Pentobarbital

Pentobarbital gehört zur Großgruppe der Barbiturate. Sie sind die uns am längsten bekannten, intravenös applizierbaren Anästhetika [28]. Nach der Patentierung von Pentobarbital im Jahr 1950 durch die Firma Bayer wurde es zu Beginn als Schlafmittel in der Humanmedizin eingesetzt [29]. Barbiturate führen zu einer Hemmung der *Formatio reticularis* und binden an die β -Untereinheit des γ -Aminobuttersäure-A-Rezeptors (GABA-A-Rezeptor). Es kommt zu einem gesteigerten Chlorideinstrom und so zu einer potenzierten inhibierenden Wirkung des Neurotransmitters GABA [29]. Mit Fortschritten in der pharmakologischen Forschung wurde es in der Anwendung im Menschen, vor allem wegen seines hohen Suchtpotentials auch bei kurzer Anwendung, durch andere Medikamente ersetzt.

In der veterinärmedizinischen Anwendung dient Pentobarbital inzwischen vor allem zur schmerzlosen Einschläferung von Tieren. Durch eine Überdosierung kommt es hier zu einem Herz-Kreislauf- sowie Atemstillstand [30]. Besonders im Bereich von Tierversuchen wird es aber auch als Medikament zur Narkoseinduktion verwendet. Die Möglichkeit der intraperitonealen Applikation macht das Medikament zu einem probaten Mittel besonders bei kleinen Tieren (z.B.: Maus oder Ratte). Pentobarbital hat kaum kardiodepressive Wirkung und führt bei korrekter Dosierung zu einem chirurgischen Toleranzstadium von ca. einer Stunde [31]. Pentobarbital hat nachgewiesenermaßen kaum kardio- oder kreislaufdepressive Effekte, sodass es in vielen Studien zur Organoprotektion eingesetzt wird [31], um das Narkotikum als mögliche Störgröße der Ergebnisse ausklammern zu können.

1.4.2 Sevofluran

Inhalationsanästhetika stellen eine große Gruppe unter den Allgemeinanästhetika dar. Die Substanzen lassen sich in Gase und Dämpfe von verdampfbaren (volatilen) Flüssigkeiten unterteilen. Zu letztgenannter Gruppe zählt auch das Sevofluran (Fluormethyl-2,2,2-trifluor-1-(trifluormethyl)ethyl-Ether), ein zur Familie der Flurane gehörendes volatiles Anästhetikum [28]. Sevofluran hat ein schnelles An- und Abflutverhalten, durch das es im klinischen Gebrauch zu einem sehr gut steuerbaren Medikament wird. Der Grund für das schnelle An- und Abfluten sind kleine Blut/Gas- und Gewebe/Blut-Verteilungskoeffizienten (0,68 bzw. 1,7) [32]. Sevofluran hat damit den kleinsten Verteilungskoeffizient der Flurane [32]. Seit der Verwendung von volatilen Anästhetika gibt es unterschiedliche

Erklärungsansätze über die anästhetische Wirkungsweise der Medikamente. Bis zum heutigen Tage gibt es aber kein umfassend erklärendes Gesamtkonzept [33]. Lange ging man von der Annahme aus, die volatilen Anästhetika würden sich in der Zellmembran lösen und über deren Aufquellen zu einer Öffnungsbehinderung von Natriumkanälen führen [28]. Dieser Effekt allein kann die Wirkung allerdings nicht erklären, sodass inzwischen von einer multifaktoriellen Wirkvermittlung ausgegangen wird, die auch Einflüsse auf GABA-Rezeptoren sowie Inhibition exzitatorischer NMDA Neurotransmitter beinhalten [28, 34, 35].

Sevofluran führt dosisabhängig zu einer generalisierten Vasodilatation mit konsekutivem Blutdruckabfall. Dieser Effekt ist aber geringer als bei alternativen Inhalationsanästhetika, wie beispielsweise bei Desfluran, sodass es auch bei kardial beeinträchtigten Patienten zum Einsatz kommen kann. In einigen Studien wird sogar ein kardioprotektiver Effekt diskutiert [36, 37]. Die Arbeitsgruppe um Chiari stellte in einer experimentellen Studie an Kaninchen fest, dass Sevofluran nicht nur kardioprotektive Effekte hat, sondern dass die Ausprägung der Infarktgrößenreduktion ähnlich ist wie bei ischämischen Prä- und Postkonditionierungsverfahren [38]. Behmenburg *et al.* konnten darüber hinaus zeigen, dass kardioprotektive Effekte durch Sevofluran über den eigentlichen Induktionszeitpunkt hinaus bestehen und durch repetitive Gabe sogar zeitlich verlängert werden können [39]. In Studien, die kardioprotektive Effekte von Sevofluran nachweisen konnten, wurde eine pulsatile Applikationsform gewählt, bei der es nach kurzer Gabe immer wieder Auswaschphasen gab [36, 37, 40]. Für die Anwendung von Sevofluran als Narkotikum wird allerdings eine kontinuierliche Gabe benötigt. Hier konnten Berger *et al.* 2010 zeigen, dass es unter diesen Bedingungen zu keinerlei kardioprotektiven Effekten kommt [41].

Potentielle Nebenwirkungen sind die Induktion einer malignen Hyperthermie sowie mögliche Nierenschäden bedingt durch die nephrotoxische Substanz Compound A. Compound A kann im alkalischen Umfeld des Atemkalks im Beatmungsgerät entstehen. Die im klinischen Alltag gemessenen Konzentrationen von Compound A im Menschen sind allerdings deutlich unterhalb der im Tierversuch festgestellten nephrotoxischen Schwellendosis in der Ratte [28].

1.4.3 Propofol

Propofol (chemisch 2,6-Diisopropylphenol) ist ein in der Klinik beliebtes und häufig verwendetes Anästhetikum. Es gehört zur Gruppe der Allgemeinanästhetika und dient als solches zur Induktion sowie, kombiniert mit einem Opioid (totale intravenöse Anästhesie, TIVA), zur Aufrechterhaltung einer Allgemeinanästhesie oder je nach Dosierung zur Sedierung unter Spontanatmung [42]. Es ist sehr schlecht wasserlöslich und liegt deshalb in einer Wasser/Öl-Emulsion vor, welche intravenös appliziert werden kann. Die Wirkung verläuft über einen agonistischen Effekt am GABA-A-Rezeptor. Die Bindung an den Rezeptor vermittelt eine Öffnung nachgeschalteter Chloridkanäle und es kommt zu einer kurzfristigen Hyperpolarisation der entsprechenden Nervenzelle [43]. Es handelt sich also um eine aktive Hemmung der nachgeschalteten Neurone. Propofol wirkt hypnotisch und atemdepressiv. Durch seine vasodilatatorische und negativ inotrope Wirkung kommt es regelhaft zu Blutdruckabfällen [42]. Es wird diskutiert, welchen Einfluss Propofol auf den kardioprotektiven Effekt von RIPC hat. Mehrere Studien geben Hinweise, dass die Verwendung von Propofol den kardioprotektiven Effekt von RIPC beeinträchtigt oder gar aufhebt [44, 45]. Daten und Studien, die den alleinigen Einfluss von Propofol unter Minimierung anderweitiger *Confounder* untersuchen, fehlen bis zum aktuellen Zeitpunkt.

1.5 Ziele der Arbeit

Die der Arbeit zugrundeliegende Hypothese lautet wie folgt:

Der kardioprotektive Effekt von ischämischer Fernpräkonditionierung ist abhängig vom verwendeten Anästhetikum und wird unter Verwendung von Propofol unterdrückt.

Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden die Effekte von RIPC auf die Größe des Infarktareals nach Ischämie mit Reperfusion im Herzen unter Verwendung der Anästhetika Pentobarbital, Sevofluran und Propofol in 36 männlichen Wistar Ratten untersucht.

2 Material und Methoden

Für die der Arbeit zugrunde liegende Studie wurden gemäß des Tierversuchsantrags männliche Wistar Ratten in einem *in vivo* Modell verwendet. Das Alter der Ratten betrug 2-3 Monate, das Gewicht 301 ± 17 g. Die Durchführung erfolgte gemäß dem Leitfaden der „*Guide for the Care and Use Of Laboratory Animals*“ veröffentlicht durch das National Institute of Health (NIH) (Publikationsnummer 85-23, revidiert 1996). Die erforderliche Genehmigung des Landesamts für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (LANUV) NRW liegt vor (Aktenzeichen 84-02.04.2013A279).

2.1 Chirurgisches Vorgehen

Zu Beginn der chirurgischen Maßnahme wurden die Ratten mit einer intraperitonealen Injektion Pentobarbital (80 mg/kg KG) narkotisiert und nachfolgend endotracheal intubiert. Die mechanische Beatmung wurde mit einem Verhältnis von 30% Sauerstoff zu 70% Stickstoff realisiert. Für die Gabe von Flüssigkeit in Form von isotoner NaCl-Lösung und Medikamenten wurde nach Narkoseeinleitung und Intubation die Punktion und Kanülierung der rechten *Vena jugularis interna* durchgeführt. Als Katheter wurde hier eine Venenverweilkanüle verwendet. Um eine kontinuierliche Überwachung des Blutdrucks sicherzustellen, wurde über die Punktion der *Arteria carotis communis* eine invasive Blutdruckmessung implementiert. Um eine adäquate Beatmung sowie einen ausgeglichenen Säure-Base-Haushalt zu überwachen, wurden über die oben beschriebenen Zugänge intraoperativ Blutgasanalysen durchgeführt [46].

Nach der anästhesiologischen Einleitung und Platzierung der Katheter wurde eine linksseitige Thorakotomie durchgeführt. Es erfolgte die chirurgische Präparation zur Darstellung des Herzens um hier den deszendierenden Teil der linken anterioren Koronararterie mit einer Ligatur (5-0 Prolene) zu verschließen. Durch diese Maßnahmen durchliefen alle Tiere unabhängig von ihrer sonstigen Zuordnung in gleichem Maße eine 25-minütige lokale kardiale Ischämie mit anschließender 120-minütiger Reperfusion [46].

2.2 Bestimmung der Infarktgröße

Am Ende des Experiments wurden die Herzen der Ratten entfernt und die Infarktgröße in Prozent des entsprechenden Risikogebiets bestimmt. Als Risikogebiet ist das Versorgungsgebiet der ligierten linken anterioren, deszendierenden Koronararterie definiert. Zur Detektion dieses Areal wurden die Herzen an einen modifizierte Langendorff Anlage angeschlossen und mit kalter Kochsalzlösung gespült. Hierfür wurde ein aortaler Zugang gewählt und das intravasale Blut mit einem Perfusionsdruck von 80 mmHg herausgespült. Im Nachgang wurde die Koronararterie erneut verschlossen und das Herz für den Zeitraum von zehn Minuten mit 0,2% Evansblue in NaCl perfundiert. Überflüssiges und intravasales Evansblue wurde danach durch Spülung mit NaCl entfernt [46].

Zur Detektion des Infarktareals wurde das Herz transversal geschnitten und mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) (0,75%) eingefärbt. TTC ist ein wasserlöslicher, farbloser Redox-Indikator. In Anwesenheit vitaler Zellen induzieren zelleigene Dehydrogenasen die Reduktion des Farbstoffes, was zu einem roten Farbumschlag führt. Infarzierte Areale bleiben ungefärbt und stellen sich weiß dar. Aufgrund dieser Eigenschaft dient TTC zum Nachweis vitaler Zellen. In der vorliegenden Studie wurden die Präparate im Anschluss in Formalin fixiert. Das Risikogebiet und die Infarktgröße wurden planimetrisch unter Verwendung der Software SigmaScan Pro5® (SPSS Science Software, Chicago, IL, USA) bestimmt. Die Auswertung wurde durch einen verblindeten, an den Versuchen nicht beteiligten Untersucher durchgeführt und die Infarktgröße als prozentualer Anteil des Risikogebiets angegeben [46].

2.3 Versuchsprotokoll

Eine schematische Darstellung des Versuchsprotokolls ist in Abbildung 1 abgebildet.

Die Wistar Ratten wurden in sechs Gruppen mit je sechs Tieren randomisiert. Die Narkoseführung wurde je nach Gruppe entweder mit einer Pentobarbital-Mononarkose (40 mg/kg/h), als balancierte Anästhesie mit Sevofluran (MAC von 1,0) und Remifentanyl (0,5 µg/kg/min) oder mit Propofol (12 mg/kg/h) und Remifentanyl (0,5 µg/kg/min) aufrechterhalten. So entstanden drei Kontrollgruppen (Pento-Con, Sevo-Con, Prop-Con), die außer der operativen Ischämie und Reperfusion keine weitere Behandlung erhielten, und drei Versuchsgruppen (Pento-RIPC, Sevo-RIPC, Prop-RIPC). Bei den Letztgenannten erhielten die Tiere präoperativ vier Zyklen fünfminütiger bilateraler Hinterlaufischämie

mit jeweils anschließender fünfminütiger Reperfusion. Realisiert wurde diese kurzzeitige Ischämie durch zwei speziell modifizierte Blutdruckmanschetten, die jeweils für fünf Minuten auf 200 mmHg aufgepumpt wurden. Die Reperfusion startete mit Ablassen der Manschetten. Zu definierten Zeitpunkten des Experiments wurden in allen Gruppen hämodynamische Parameter erhoben (Ausgangswert zu Beginn, *last washout* bei vier Minuten, Ischämiezeit bei 15 Minuten und Reperfusion bei Minute 30 und 120) [46].

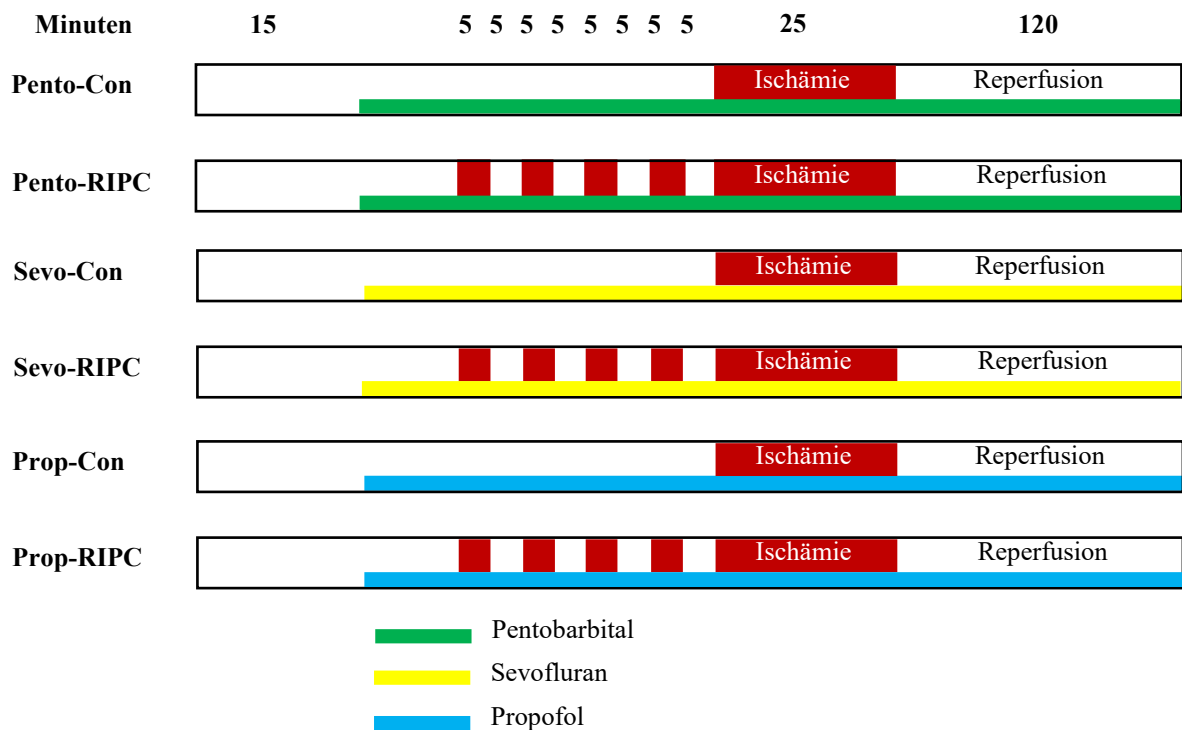


Abb. 1 Studienprotokoll. Vier Zyklen fünfminütiger Ischämie durch beidseitige Hinterlaufischämie jeweils gefolgt von fünfminütiger Reperfusion. Nachfolgend 25 min Ischämie und 120 min Reperfusion. Abkürzungen: Con, Kontrolle; RIPC, *remote ischemic preconditioning*; Sevo, Sevofluran; Prop, Propofol. [46]

2.4 Statistische Methoden

Die Analyse aller dieser Arbeit zugrunde liegenden Daten erfolgte mit einfaktorieller ANOVA (Varianzanalyse) und nachgeschaltetem *Tukey post hoc* Test (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Ein Vergleich der Infarktgröße zwischen den Kontrollgruppen (Pento-Con, Sevo-Con u. Prop-Con) und insbesondere zwischen den Kontroll- und Versuchsgruppen ist hier von besonderem Interesse (Pento-Con vs. Pento-RIPC, Sevo-Con vs. Sevo-RIPC u. Prop-Con vs. Prop-RIPC). Um Vergleiche im hämodynamischen Verlauf zwischen den Gruppen oder aber zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb einer Gruppe zu ziehen, wurde eine multifaktorielle Varianzanalyse mit anschließendem *Tukey post hoc* Test durchgeführt. Die Darstellung und Auswertung erfolgte durch Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden als statistisch signifikant angesehen, wenn $P < 0,05$. Die notwendige Fallzahl wurde mithilfe der GraphPad StatMate™ Software Version 1.01 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) kalkuliert und ergab eine erforderliche Gruppengröße von $n = 6$, um einen Unterschied von 25% in der Infarktgröße mit einer Wahrscheinlichkeit von 80% und einem α -Fehler $< 0,05$ registrieren zu können [46].

2.5 Verwendete Materialien

Im Folgenden werden die für die Studie verwendeten Chemikalien und Materialien tabellarisch aufgelistet (Tab. 3). Soweit untenstehend nicht anders angegeben wurden alle verwendeten Chemikalien und Materialien von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Taufkirchen), Merck Eurolab GmbH (Darmstadt), Carl Roth GmbH u. Co.KG (Karlsruhe), Abcam plc. (Cambridge, UK) und der Apotheke der Universitätsklinik Düsseldorf erworben.

Material/Geräte/Software

Pentobarbital	16g/100ml, Merial GmbH, Hallbergmoos
Propofol 1%	10mg/1ml, MCT Fresenius Kabi, Homburg
Sevofluran	Abbott Laboratories, North Chicago
Evansblue Färbelösung	1g Evansblue + 5g Dextran + NaCl 0,9% ad 500ml Aqua des.
TTC Färbelösung	200ml NaCl 0,9%, + 2,42g Trishydroxymethylaminomethan (Tris-Puffer) + 1,5g Triphenyltetrazoliumhydrochlorid (TTC)
Beatmungsgerät	Servo Ventilator 900C, Siemens Elena Schweden
Monitor	Capnomac Ultima, Datex
GraphPad StatMate™	Version 1.01, GraphPad Software, San Diego, CA, USA

Tab. 3 Auflistung verwendeter Materialien, Geräte und Software mit Angaben des Herstellers und/oder der Zusammensetzung.

3 Ergebnisse

3.1 Infarktgröße

Die den Ergebnissen zugrunde liegenden Daten wurden in 36 männlichen Wistar Ratten erhoben, die gemäß oben geschildertem Versuchsprotokoll (s. Kap. 2.1 f.) in sechs Gruppen aufgeteilt wurden. Die Größe der Infarktareale der unterschiedlichen Gruppen ist in der Abbildung 2 aufgeführt. Bei der Kontrollgruppe, bestehend aus sechs mit Pentobarbital narkotisierten Tieren, entstand durch die 25-minütige kardiale Ischämie, gefolgt von 120 Minuten Reperfusion eine Infarktgröße von $65 \pm 6\%$ des Risikogebiets. Dieser Ausgangswert dient als Vergleichsbasis für den Effekt einer 25-minütigen Ischämie am ungeschützten und unvorbereiteten Herzen. Die alleinige Verwendung einer balancierten Anästhesie unter Verwendung von Sevofluran und Remifentanyl (Sevo-Con) oder die Narkoseführung mit Propofol und Remifentanyl (Prop-Con) führte zu keinerlei Beeinflussung der Infarktgröße im Vergleich zur Pento-Con-Gruppe. Die Infarktgröße der Sevo-Con Gruppe betrug $61 \pm 8\%$ (mittlere Differenz zu Pento-Con: 5%, 95% KI: -8-17, $P = 0,878$), die der Prop-Con $59 \pm 8\%$ (6%, 95% KI: -7-19, $P=0,671$). Tiere, die vor der Narkose RIPC durchliefen und danach Pentobarbital (Pento-RIPC) oder eine balancierte Anästhesie mit Sevofluran/Remifentanyl (Sevo-RIPC) erhielten, wiesen in der Betrachtung der Infarktgröße eine signifikante Verkleinerung des Infarktareals im Verhältnis zur Kontrollgruppe auf. In der Pento-RIPC-Gruppe erreichten wir so ein Infarktareal von $30 \pm 9\%$ des Risikogebietes, was einer mittleren Reduktion der Größe um 35% im Vergleich zur Pento-Con-Gruppe entspricht (95% KI: 22-48, $P<0,0001$). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich bei Tieren der Sevo-RIPC-Gruppe. Die Infarktgröße betrug hier $31 \pm 6\%$ des Risikogebietes (mittlere Differenz zu Sevo-Con: 29%, 95% KI: 17-42, $P<0,0001$) [46]. Bei der Prop-RIPC- Gruppe entfiel dieser Effekt. Tiere, die Propofol erhielten, zeigten in den nachfolgenden Schnittbildern keine Verkleinerung des infarzierten Myokards im Vergleich zur Kontrollgruppe Prop-Con. Hier hat folglich keine Kardioprotektion durch RIPC stattgefunden. Die Infarktgröße betrug $59 \pm 6\%$ des entsprechenden Risikogebietes. Im Vergleich zur Prop-Con entspricht dies einem mittleren Unterschied von -0,4% (95% KI: -13-12, $P=1,000$) [46].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass RIPC unter der Verwendung von Pentobarbital oder Sevofluran kardioprotektive Effekte in der Ratte *in vivo* erzeugt. Verabreicht man den Tieren Propofol als Narkotikum, kann keinerlei kardioprotektive Wirkung von RIPC im Rattenmodell nachgewiesen werden.

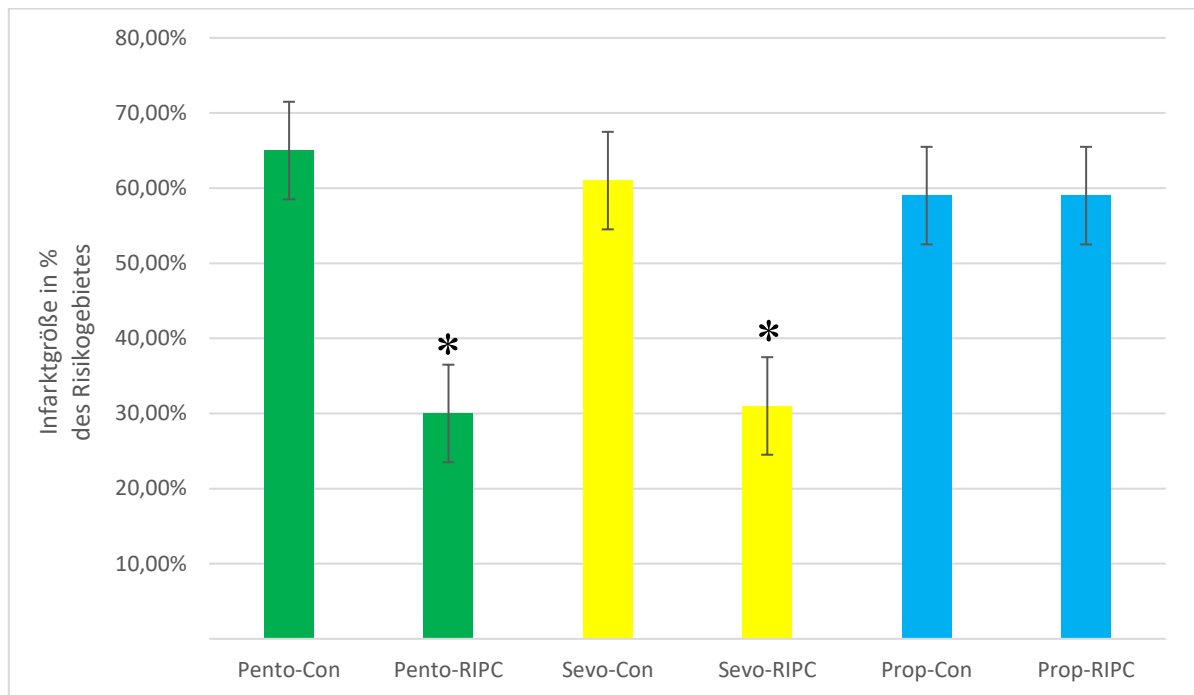


Abb. 2 Infarktgrößendarstellung. Das Histogramm zeigt die Infarktgröße in Prozent des Risikogebietes der Kontroll- (Con) sowie RIPC-Gruppen (RIPC). Alle Daten sind in Mittelwerten $\pm$ Standardabweichung angegeben. * $P < 0,05$ vs. Pento-Con und Sevo-Con. Abkürzungen: Con, Kontrolle; RIPC, *remote ischemic preconditioning*; Sevo, Sevofluran; Prop, Propofol. [46]

3.2 Hämodynamische Parameter

Die Ergebnisse des hämodynamischen Monitorings sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Während der gesamten operativen Prozedur (Messpunkte Ausgangswert, Washout 4 min, Ischämiezeit 15 min, Reperfusion 30 min und 120 min) gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Blutdrucks oder der Herzfrequenz zwischen den Versuchsgruppen. Bei den Tieren, die der Prop-RIPC-Gruppe zugeordnet waren, kam es im Vergleich zum Ausgangswert während der Reperfusion zu einem Abfall der Herzfrequenz. In allen Gruppen erfolgte während der Reperfusion ein Abfall des intraaortalen Blutdrucks im Vergleich zum Ausgangswert ($P < 0,05$) [46].

	Ausgangs- wert	Washout 4 min	Ischämie 15 min	Reperfusion	
				30 min	120 min
Herzfrequenz [SPM]					
Con	438 ± 41	431 ± 39	427 ± 30	393 ± 25	389 ±33
RIPC	438 ± 25	405 ± 38	405 ± 0	395 ± 38	386 ± 30
Sevo-Con	427 ± 31	419 ± 45	403 ± 37	380 ± 33	387 ± 36
Sevo-RIPC	412 ± 27	400 ± 17	396 ± 4	382 ± 22	388 ± 33
Prop-Con	430 ± 33	428 ± 37	384 ± 56	394 ± 31	387 ±21
Prop-RIPC	242 ± 32	424 ± 23	406 ± 25	385 ± 28	361 ± 36 ^a
Mittlerer arterieller Druck [mmHg]					
Con	118 ± 22	111 ± 31	104 ± 19	90 ± 15 ^a	83 ± 24 ^a
RIPC	120 ± 21	102 ± 18	94 ± 16	84 ± 15 ^a	71 ± 17 ^a
Sevo-Con	120 ± 19	114 ± 18	92 ± 25 ^a	87 ± 17 ^a	86 ± 18 ^a
Sevo-RIPC	121 ± 12	113 ± 13	109 ± 25	98 ± 19	87 ± 30 ^a
Prop-Con	132 ± 25	123 ± 19	102 ± 21 ^a	74 ± 24 ^a	70 ± 13 ^a
Prop-RIPC	120 ± 18	118 ± 18	118 ± 26	104 ± 30	92 ± 32 ^a

Tab. 4 Hämodynamische Variablen. Die Daten sind in Mittelwerten ± Standardabweichung angegeben. Abkürzungen: SPM, Schläge pro Minute; Con, Kontrolle; RIPC, *remote ischemic preconditioning*; Sevo, Sevofluran; Prop, Propofol. ^a $P < 0,05$ vs. Ausgangswert, jede Gruppe n = 6. [46]

4 Diskussion

Bedingt durch die immense Zahl an Todesfällen durch ischämische Herzerkrankungen [2], dem zunehmenden demographischen Wandel und stetig steigenden Zahlen an operativen Interventionen [11], steigt die Zahl kardial vorerkrankter Patienten und damit der Bedarf im perioperativen Umfeld vor ischämiebedingten kardialen Schäden zu schützen. Trotz bestmöglicher Evaluation sowie präoperativer Vorbereitung der Patienten und auch bei maximalem intraoperativen Monitoring fehlt dazu eine Möglichkeit der aktiven Kardioprotektion. Wie in Kapitel 1.1 sowie 1.1.3 beschrieben, gibt es auch nach aktuellen Leitlinien keinen klaren Hinweis auf evidenzbasierte Möglichkeiten der aktiven perioperativen Kardioprotektion sondern lediglich Möglichkeiten der präoperativen Vorbereitung und Risikominimierung sowie der intensiven perioperativen Überwachung [3]. Hier scheint die ischämische Fernpräkonditionierung eine vielversprechende Möglichkeit darzustellen. Wie in Kapitel 1.2.1 genauer ausgeführt, handelt es sich dabei um eine non-invasive, einfach und kostengünstig anwendbare Methode zur Kardioprotektion. Die Wirksamkeit der Methode wurde in den letzten Jahren durch eine Reihe experimenteller Studien [5, 47] und sogar durch proof-of-concept Studien belegt [48]. Botker *et al.* [49] und Hoole *et al.* [50] zeigten in zwei Studien, dass Patienten mit einem Herzinfarkt, die vor der Katheterintervention mit RIPC behandelt wurden, postinterventionell signifikant niedrigere Herzenzyme aufweisen als Probanden in der Kontrollgruppe.

Trotzdem ist die klinische Datenlage zu RIPC nicht eindeutig und es gibt noch viele offene Fragen. So konnten große Phase III Studien (ERICCA [51], RIPHeart [52]) keinen positiven Effekt von RIPC in herzchirurgischen Patienten nachweisen. Wie kommen diese unterschiedlichen Ergebnisse zustande? Sowohl ERICCA, als auch RIPHeart sind große multizentrische, randomisierte, kontrollierte, doppelblinde Studien mit jeweils über 1000 inkludierten Patienten. In den Versuchsprotokollen der Studien fällt auf, dass es bei der ERICCA-Studie kein vorgeschriebenes Protokoll hinsichtlich des Anästhesieverfahrens gab. Hier wurden über 90% der Anästhesien rein propofolbasiert oder als Mischanästhesien aus einem volatilen Anästhetikum in Kombination mit Propofol durchgeführt [51]. Patienten in der RIPHeart-Studie wurden sogar ausschließlich mit Propofol als Hypnotikum anästhesiert [52]. Auch aktuelle klinische Studien, wie von Coverdale *et al.* aus September 2017, konnten an 436 herzchirurgischen Patienten keinen Effekt von RIPC auf die Kardioprotektion feststellen [53]. In dieser single-center Studie gab es kein standardisiertes Protokoll für die Anästhesie und die genaue Verteilung der gewählten

Anästhesieverfahren auf die Versuchsgruppen lässt sich nicht nachvollziehen. Ein Teil der Patienten wurde aber auch hier propofolbasiert anästhesiert [53]. Die Verwendung von Propofol in den genannten Studien wirft zumindest in Teilen Zweifel an deren Aussagekraft hinsichtlich eines möglichen protektiven Effekts von RIPC hervor, da Propofol immer mehr in Verdacht gerät, in diesem Zusammenhang negativen Einfluss auf die Kardioprotektion durch RIPC zu nehmen. Kottenberg *et al.* zeigten in einer post-hoc Analyse von 72 Patienten, dass die Anwendung von RIPC postinterventionell für 72 h zu niedrigeren Troponinleveln nach herzchirurgischen Eingriffen führt, wenn die Narkoseführung mit Isofluran durchgeführt wurde. Dieser Effekt fehlt allerdings unter Verwendung von Propofol vollständig [45]. Auch die Ergebnisse unserer Arbeit zeigen, dass der Erfolg der Kardioprotektion durch RIPC maßgeblich von dem gewählten Anästhesieverfahren abzuhängen scheint (s. Kap. 3.1).

4.1 Mögliche Störgrößen bei der ischämischen Fernpräkonditionierung

Neben der Wahl der Anästhetika gibt es noch viele weitere Größen, die bei der Untersuchung von RIPC Einflüsse haben können. Großteile der klinischen Studien zu RIPC wurden an Patienten durchgeführt, die sich kardiovaskulären Operationen unterziehen mussten (siehe z.B.: ERICCA [51] u. RIPHeart [52]). Gerade dieses Patientenkollektiv weist eine Vielzahl an *Confoundern* auf, die mit kardioprotektiven Effekten interagieren und diese negativ beeinflussen können. Einige davon wurden bereits in experimentellen oder klinischen Studien isoliert und festgestellt. So zeigten Behmenburg *et al.*, dass die kardioprotektiven Eigenschaften der Fernpräkonditionierung bei alten Ratten im Tierversuch vollständig blockiert sind und stellten so das Alter als einen *Confounder* fest [54]. Auch das Vorhandensein einer diabetischen Erkrankung, insbesondere Diabetes mellitus Typ II, scheint einen dämpfenden bis blockierenden Einfluss auf die Effekte von RIPC zu haben [55-57]. Viele weitere *Confounder*, die bei der Durchführung einer klinischen Studie auftreten können, sind im Bereich der kardialen Fernpräkonditionierung bisher noch unbekannt. Aufgrund mannigfaltiger möglicher Störgrößen betrachtet keine der oben genannten Arbeiten den alleinigen Einfluss des verwendeten Anästhetikums auf die Kardioprotektion. Um dies isoliert zu untersuchen, wählten wir das in Kapitel 2.1 f. erläuterte Studiendesign mit Verwendung junger, gesunder Ratten. So schalteten wir weitere

mögliche Störfaktoren aus, um zu zeigen, dass die Verwendung von Propofol an sich einen aufhebenden Einfluss auf die kardioprotektiven Einflüsse von RIPC hat. Trotz des experimentellen Designs gibt es auch in unserer Studie mögliche Einflussgrößen, die beachtet und hinterfragt werden sollten. Propofol in seiner klinisch verwendeten Darreichungsform liegt gelöst in der Trägersubstanz Intralipid® vor. Es könnte also sein, dass von uns festgestellte Effekte nicht durch die Substanz Propofol an sich, sondern durch das entsprechende Lösungsmittel hervorgerufen wurden. In der Vergangenheit haben sich verschiedene Forschungsgruppen mit dem Effekt von Intralipid® auf die Kardioprotektion beschäftigt. Rahman *et al.* registrierten 2011 in einem Modell an Ratten- und Mäuserherzen, dass die Verabreichung von Intralipid® zu einer Infarktgrößenreduktion von bis zu 70% führt [58]. Den Studien, die kardioprotektive Effekte der Substanz feststellen konnten [58, 59], steht mit einem Ergebnis von Lou *et al.* aus dem Jahr 2014 eine experimentelle Studie gegenüber, die keinen Effekt von Intralipid® im Bereich der Kardioprotektion in diabetischen Ratten feststellen konnte [40]. Auch wenn die Arbeitsgruppe um Lou zwar keine protektiven Eigenschaften unter Diabetes, einem aus mehreren Studien bekannten blockierenden Effekt der Kardioprotektion [55, 56], erkennen konnte, gibt es aber keine Ergebnisse, die einen negativen oder blockierenden Effekt von Intralipid® auf die Kardioprotektion nahelegen. Damit scheint das Lösungsmittel, in dem Propofol vorliegt, nicht der ausschlaggebende Faktor für die Ergebnisse unserer aktuellen Studie zu sein. Vor dem Hintergrund oben genannter Erkenntnisse scheint es sogar umso eindrücklicher, dass unsere Ergebnisse trotz der Anwesenheit von Propofol und damit einhergehend Intralipid®, einer an sich nachgewiesenermaßen kardioprotektiven Substanz, eine Blockierung kardioprotektiver Effekte nach RIPC zeigen. Dieser Umstand in Kombination mit dem von uns gewählten experimentellen Design legt die Vermutung nahe, dass Propofol an sich ein hemmender Faktor im Feld der perioperativen Kardioprotektion durch RIPC sein könnte (s. Kap. 3.1). Diese Schlussfolgerung scheint erst einmal zu verwundern, konnte Propofol doch in einigen Studien ein zellprotektiver Effekt nachgewiesen werden. So untersuchten Sabzali *et al.* Herzen von Wistar Ratten in einem *in vitro* Modell und induzierten eine globale Ischämie nach Präkonditionierung mit Propofol. Im Ergebnis zeigte sich, dass Herzen, die Propofol erhalten haben, eine signifikant bessere linksventrikuläre Funktion aufwiesen [60]. Hierbei geht es allerdings um protektive Eigenschaften der Substanz an sich, nicht deren Einfluss auf andere Verfahren zur Protektion, wie sie von uns untersucht wurden. Zusätzlich zeigen die unter Kapitel 3 aufgeführten Ergebnisse, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe

unter Propofolanästhesie (Prop-Con) und der unter Pentobarbitalnarkose (Pento-Con) gibt. Würde Propofol zu einem kardioprotektiven Effekt führen, ließe sich hier eine Differenz in den Infarktgrößen feststellen. Auch für das von uns verwendete Sevofluran liegen Daten vor, die kardioprotektive Effekte belegen [36, 37, 39, 40, 61]. Trotzdem sind diese nicht in unseren Ergebnissen erkennbar. Das Fehlen dieser Effekte könnte an unserem gewählten Versuchsaufbau liegen, der nicht darauf abzielt eine Präkonditionierung durch die jeweiligen Anästhetika zu untersuchen. Um einen protektiven Effekt durch das Anästhetikum zu erzielen, wird, wie in Kapitel 1.3.2 erwähnt, eine pulsatile Applikation des Sevoflurans mit anschließenden Auswaschphasen verwendet. In unserem vorliegenden Fall sieht das Protokoll allerdings eine kontinuierliche Gabe des Narkotikums zum Zweck der Narkoseführung vor. Berger *et al.* konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass unter diesen Umständen keine Kardioprotektion durch Sevofluran erfolgt [41]. In einem *in vivo* Modell an Ratten konnte nur unter kurzzeitigen und alternierenden Gaben von Sevofluran eine Kardioprotektion erreicht werden, nicht aber wenn das Narkotikum kontinuierlich verabreicht wurde [41]. Eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die Verwendung von Sevofluran scheint in diesem Zusammenhang und unter dem gewählten Studienprotokoll somit unwahrscheinlich.

4.2 Mechanismen ischämischer Fernpräkonditionierung und mögliche Beeinflussung durch Propofol

Um zu verstehen, welche Rolle Propofol im Rahmen der Wirkung ischämischer Fernpräkonditionierung spielen könnte, muss der molekulare Ablauf der Kardioprotektion betrachtet werden. Die genauen Wege und Vorgänge, wie Fernpräkonditionierung kardioprotektiv wirkt, sind abschließend nicht geklärt. Unterschiedliche Ansätze sind Gegenstand der aktuellen Forschung. Im Folgenden wird ein kurzer Überblick über die aktuellen Ansichten und die mögliche Beeinflussung durch Propofol gewährt.

4.2.1 Neuronale Vermittlung

Ein intaktes parasympathisches Nervensystem scheint ein wichtiger Baustein für die Entstehung kardioprotektiver Faktoren zu sein. Die Arbeitsgruppe um Matitskaya zeigte, dass der Effekt von RIPC von der Aktivität präganglionärer vagaler Neuronen abhängt [62]. In dieser Studie wurde der *Nucleus dorsalis nervi vagi* (NDNV) als eine zentrale Funktionseinheit des vagalen Nervensystems in einer Versuchsgruppe gezielt blockiert. Bei den so behandelten Patienten zeigte sich im Gegensatz zur Kontrollgruppe ohne Blockierung des NDNV bei nachfolgender Anwendung von RIPC kein kardioprotektiver Effekt [62]. Aufgrund der gewonnenen Ergebnisse zogen die Forscher den Umkehrschluss, dass ein intaktes vagales Nervensystem von zentraler Bedeutung für die Entstehung protektiver Eigenschaften von RIPC ist. Auch Donato *et al.* stellten in ihrer Studie die Bedeutung vagaler Neurone für die erfolgreiche Anwendung von RIPC im Tiermodell fest [63]. Obwohl das vagale Nervensystem anatomisch intakt ist, kann es an unterschiedlichen Stellen durch andere Faktoren gestört werden. So kann auch Propofol eine Beeinflussung in dieser Kausalkette hervorrufen. Experimentelle Studien wiesen den Einfluss von Propofol auf γ -Aminobuttersäure (GABA) vermittelte zentralnervöse Kontrollmechanismen kardialer vagaler Neurone auf [64, 65]. Wang *et al.* stellten dabei fest, dass Propofol in klinisch relevanten Dosierungen zu einer deutlichen Steigerung der GABA-ergen Wirkung auf kardial wirksame Anteile vagaler Neurone führt und diese so depressiv beeinflusst [65]. Ein intaktes neuronales System scheint aber eher für die Entstehung kardioprotektiver Reize am Induktionsort verantwortlich zu sein als für deren Übertragung oder Vermittlung auf das Herz. Das zeigen Versuche zu ischämischer Fernpräkonditionierung an isolierten Herzen mit Plasma von vorher mit RIPC behandelten Tieren oder Menschen [66, 67]. Die im Langendorff-Modell untersuchten Herzen sind durch die Entnahme von jeglichen neuronalen Bahnen getrennt. Hatte man die Herzen mit per RIPC

behandeltem Plasma perfundiert, kam es bei einer induzierten Ischämie zu reduzierten Infarktgrößen im Vergleich zur Kontrollgruppe, bei der unbehandeltes Plasma verabreicht wurde [66, 67].

Daraus ergibt sich, dass es neben den nervalen Strukturen, die zur Entstehung protektiver Signale beitragen, weitere Wege oder Faktoren gibt, die diese Protektion auf das Endorgan übertragen. Hier stehen humorale Faktoren, die durch die Fernpräkonditionierung entstehen, in der aktuellen wissenschaftlichen Diskussion.

4.2.2 Humorale Faktoren und Aktivierung kardialer Signalwege

Unter dem Begriff „humorale Faktoren“ versteht man eine heterogene Gruppe unterschiedlicher Stoffe, die alleinig oder in ihrer Gesamtheit zur Kardioprotektion führen. In der aktuellen Forschung zur Kardioprotektion wird ihnen große Aufmerksamkeit zuteil, da vermutet wird, dass die Freisetzung humoraler Faktoren eine entscheidende Rolle in den grundlegenden Mechanismen fernpräkonditionierungsbedingter Kardioprotektion einnimmt [67-69]. Shimizu *et al.* konnten 2009 zeigen, dass nach Induktion von RIPC im Tiermodell protektive Faktoren freigesetzt werden, deren Effekte darüber hinaus mit dem Plasma übertragbar sind [67]. Die Identifizierung der entsprechenden humoralen Faktoren ist bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen. Es gibt unterschiedliche Vermutungen, welche Substanzen als humorale Faktoren in der Kardioprotektion agieren könnten. Die Arbeitsgruppe um Totzeck stellte in diesem Zusammenhang heraus, dass Nitrit in diesem als ein solcher Faktor fungieren könnte [68]. Zur genauen Detektion dieser Mechanismen und Faktoren sind allerdings weitere Studien nötig.

Die Hypothese, es existiere eine Freisetzung bestimmter Faktoren aus sublethal ischämischem Gewebe, die über kardiale Signalwege zu einem protektiven Effekt am Herzen führen, geht auf den Versuch zurück, den Zelluntergang im Allgemeinen zu verhindern, was in der Entwicklung dieser Hypothese ein zentraler Gedanke war. Zelltod kann prinzipiell auf den zwei Prinzipien Nekrose und Apoptose beruhen [70]. Bei der Nekrose handelt es sich um den unkontrollierten Untergang von Zellen. Apoptose hingegen ist ein vom Körper gesteuerter, Adenosin-Triphosphat (ATP) abhängiger kontrollierter Zelltod [70]. Vermittelt durch Mediatoren, die den Caspasen der Gruppe der Bcl-2-Proteine und den *inhibitors of Apoptosis Proteins (IAPs)* zuzuordnen sind, kommt es über intrazelluläre Kaskaden zum Untergang der jeweiligen Zelle [70]. In den 1990er Jahren beschäftigte sich der Forschungsbereich der Kardioprotektion mit dem Versuch Apoptose vermittelnde Faktoren, wie die Caspasen, zu blocken oder zu antagonisieren, um so durch

Unterversorgung induzierte Apoptose zu verhindern [71]. Neben der Inhibition der proapoptotischen Faktoren stellten mehrere Forschungsgruppen eine kardioprotektive Wirkung in Anwesenheit verschiedener Wachstumsfaktoren fest [72, 73]. So entstand die Vorstellung des *reperfusion injury salvage kinase pathway* (RISK-Pathway) als einem für die Kardioprotektion verantwortlichen Weg. Unter dem RISK-Pathway fasst man die p42/p44-extrazellulärsignalregulierenden Kinasen 1 und 2 (ERK-1/2), die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) und die Akt (Proteinkinase B) zusammen [74]. Erstmals beschrieben war dieser Effekt durch Schulman *et al.*, die mit einer Verabreichung von Urocortin, einem Stimulator der p42/p44-Signalwege, eine Reduktion von Ischämieschäden in der Ratte *in vivo* und *in vitro* erreichten [75]. 2005 stellten Hausenloy *et al.* fest, dass o.g. Wachstumsfaktoren bei der Anwendung von ischämischer Präkonditionierung vermehrt phosphoryliert werden und so das Myokard vor ischämischen Schäden schützen [76]. So entstand die Annahme, der RISK-Pathway könne eine entscheidende Rolle bei der Vermittlung der Kardioprotektion unter RIPC spielen. Wenngleich o.g. Studien die Relevanz von RISK im Bereich der IPC zeigten, fehlt eine eindeutige Datenlage für die Bedeutung unter RIPC [77, 78]. Skyschally *et al.* und Tamarelle *et al.* zeigten in ihren Studien, dass RISK bei der Anwendung von RIPC keine Bedeutung hat, jedoch eine wichtige Rolle unter IPC und ischämischer Postkonditionierung spielt [77, 78]. Bei nachgewiesenem Effekt von RIPC in multiplen Studien [16, 22, 47-49, 54] muss also neben RISK ein weiterer Weg der Vermittlung kardioprotektiver Effekte im Rahmen von ischämischer Fernpräkonditionierung existieren. In diesem Zusammenhang wurde der s.g. *survivor activating factor enhancement pathway* (SAFE-Pathway) beschrieben. Hier kommt es über die Aktivierung einer *Januskinase* (JAK) und *signal transducer and activator of transcription-3* (STAT3) zur Initialisierung von Kardioprotektion [79]. Aktiviert wird diese Kaskade durch den Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) [79]. SAFE scheint ein wichtiger Faktor in der Vermittlung von Kardioprotektion unter RIPC zu sein [78]. Insbesondere STAT3 wird in diesem Zusammenhang große Bedeutung beigemessen. Heusch *et al.* demonstrierten am Schwein *in vivo* den direkten Zusammenhang zwischen vermehrter STAT3-Phosphorylierung und einer reduzierten Infarktgröße [80]. Studien zeigten, dass ein Fehlen von STAT3 die Effekte von RIPC aufhebt. Suleman *et al.* verdeutlichten, dass bei STAT3-Knockout-Mäusen keine Kardioprotektion nach RIPC eintritt [81]. Neben der Untersuchung an Kardiomyozyten von STAT3-Knockout-Mäusen arbeitete die Forschungsgruppe an isolierten Herzen von männlichen *Long-Evans* Ratten, um einen eventuellen Zusammenhang zwischen STAT3 und Akt und damit SAFE und RISK

zu prüfen [81]. Dazu führten Suleman *et al.* in einer Gruppe eine Präkonditionierung per IPC durch, in einer weiteren Gruppe über die direkte Verabreichung von TNF- α . Während es bei der Verabreichung von TNF- α zu einem isolierten Anstieg von STAT3 ohne Beteiligung von Akt kam, registrierten die Autoren eine vermehrte Aktivität von beiden Parametern unter der Verwendung von IPC [81]. Daraus schlossen sie, dass unter der Verwendung einer ischämischen Präkonditionierung eine Kombination des RISK- und SAFE-*Pathway* zur Übermittlung von Kardioprotektion bestehen könnte oder zu mindestens diskutiert werden sollte. Gleichzeitig, so postulierten die Forscher, scheinen aber auch separate Wege der Aktivierung von RISK und SAFE zu bestehen [81]. In anderen Studien wurden neben SAFE und RISK weitere mögliche Einflussgrößen entdeckt. Heusch *et al.* beschreiben eine vermehrte Phosphorylierung des *signal transducer and activator of transcription-5* (STAT5) als einen wichtigen Vermittlungsfaktor bei der Kardioprotektion an herzchirurgischen Patienten [82]. Die Arbeitsgruppe untersuchte dabei linksventrikuläre Biopsien von 24 Patienten, aufgeteilt in eine Studien- (mit RIPC) und eine Kontrollgruppe (ohne RIPC), die sich einer ACB-Operation unter Isoflurananästhesie unterzogen. Als Surrogatparameter zum Nachweis der Kardioprotektion diente hier die Serumkonzentration von Troponin I, die bei den Patienten, die RIPC erhalten hatten, deutlich vermindert war [82]. In der genaueren Betrachtung und Erforschung der Rolle von STAT5 für die Übertragung von kardioprotektiven Effekten untersuchten Kottenberg *et al.* [44] die Auswirkungen von Propofol auf den kardioprotektiven Effekt unter RIPC. Eingeschlossen wurden 24 Patienten mit einer 3-Gefäß-KHK unter kardiochirurgischer Intervention (ACB-Op). Die Arbeitsgruppe fand heraus, dass bei der Verwendung von Propofol im Gegensatz zur Anwendung von Sevofluran wie bei Heusch *et al.* [82] keine vermehrte Phosphorylierung von STAT5 erfolgte. Aus diesen Resultaten schlossen die Autoren, dass die registrierte, reduzierte kardioprotektive Wirkung auf eine verminderte Aktivierung von STAT5 zurückzuführen sei [44]. Auch wenn diese Studien einen engen Zusammenhang zwischen der durch RIPC vermittelten Kardioprotektion und der Aktivität von STAT5 zeigen, so scheint auch STAT5 nur einer von vielen vermittelnden Faktoren zu sein. Skyschally *et al.* zeigten in diesem Zusammenhang, dass RIPC im Myokard von Ratten und Schweinen keinen Anstieg von STAT5 hervorruft [77]. Trotzdem beweisen die Ergebnisse multipler Studien und nicht zuletzt diese Arbeit die protektive Wirkung durch RIPC auch in der Ratte [47, 54, 83].

In der Zusammenschau scheinen also alle oben aufgeführten Wege einzelne Bausteine für die Entstehung und Übermittlung kardioprotektiver Effekte unter Anwendung von

RIPC zu sein. Da es sich bei der vorliegenden Arbeit um ein *in vivo* und nicht um ein isoliertes Modell handelt, können prinzipiell alle oben genannten Mechanismen relevant sein. Die Datenlage reicht allerdings nicht aus, um einen zentralen Faktor zu identifizieren. Alles in allem scheint hier ein multifaktorielles Geschehen vorzuliegen, dessen genauer Ablauf noch nicht geklärt ist. Auch diese Arbeit kann nicht zur Identifizierung eines zentral verantwortlichen Faktors beitragen. Die vorliegenden Ergebnisse deuten jedoch auf die große Bedeutung von Propofol als hemmenden Faktor der Kardioprotektion hin. Unsere Daten zeigen, dass Propofol einen signifikant negativen Einfluss hat, obwohl ein komplexes und multifaktorielles System für die Übertragung protektiver Effekte nach RIPC verantwortlich zu sein scheint. Das Anästhetikum scheint also entweder auf mehrere vermittelnde Faktoren Einfluss zu nehmen oder einen bisher unbekannten zentralen Mechanismus zu unterdrücken.

4.2.3 Das Mitochondrium

Unabhängig vom zugrundeliegenden Übertragungsweg scheint sich in der aktuellen Forschung das Mitochondrium als Endpunkt in der Kaskade der Kardioprotektion zu festigen [84]. In einer weiterführenden Arbeit konnten Gedik *et al.* einen Zusammenhang zwischen einer gesteigerten Mitochondrienaktivität durch RIPC und einer Infarktgrößenreduktion an isolierten Rattenherzen zeigen [83]. Im Speziellen stellten einige Studien die *mitochondrial permeability transition pore* (mPTP) als einen zentralen Endpunkt der Kardioprotektion dar [85-87]. Cao *et al.* konnten hier zeigen, dass eine Öffnung der mPTP zu einer Blockierung kardioprotektiver Effekte führt [86]. Die Öffnung der mPTP führt unabhängig von dem vorgeschalteten Weg zu einem Einstrom jeglicher Moleküle < 1,5 kDa und damit letztlich zum Untergang der Zelle [87]. Im Kontext dieser Arbeit stellt sich also die Frage, ob Propofol einen Einfluss auf die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP hat und die unter Kapitel 3.1 beschriebene Blockierung kardioprotektiver Effekte vielleicht auf diesen Zusammenhang zurückzuführen ist. Konkrete Daten, die den Einfluss von Propofol auf die Öffnung von mPTP im Kontext von RIPC untersuchen, fehlen aktuell. Allerdings geben Daten aus dem Kontext anderer Forschung einen Hinweis. So konnte die Forschungsgruppe um Twaroski 2015 feststellen, dass propofol-induzierte Neurotoxizität in aus embryonalen Stammzellen abgeleiteten humanen Neuronen über einen mPTP-Signalweg vermittelt wird [88]. Diese Daten könnten

auch im Bereich der Kardioprotektion an einen eventuellen Zusammenhang denken lassen. Diesbezüglich müssen aber weitere Studien für eine Klärung sorgen.

Der genaue Einfluss von Propofol auf die einzelnen Schritte der Kardioprotektion unter RIPC ist noch ungeklärt. Wie oben beschrieben existieren Studien, die hemmende oder einschränkende Effekte von Propofol auf die vermuteten zugrundeliegenden Mechanismen beschreiben [44, 65]. Genau wie diese Mechanismen selbst, ist jedoch auch der Einfluss von Propofol noch nicht gänzlich geklärt. Angestoßen durch die Beobachtungen in klinischen Studien, die eine Beeinflussung der Kardioprotektion durch Propofol diskutieren [44, 45], beweist diese Arbeit unabhängig der offenen Fragen zur genauen Entstehung und Übertragung kardioprotektiver Effekte durch RIPC auf die Kardiomyozyten, dass Propofol diese durch Fernpräkonditionierung induzierte schützende Wirkung aufhebt (s. Kap. 3). Durch die Veröffentlichung der beiden großen klinischen Studien ERICCA und RIPHeart, ist die Wirksamkeit von RIPC zur Kardioprotektion erneut deutlich in Frage gestellt worden. Dass Propofol als ein wichtiger und entscheidender *Confounder* fungieren könnte, verdeutlichen auch Arbeiten, die sich mit der Nephroprotektion durch RIPC (KRIPC) beschäftigt haben. Zarbock *et al.* zeigten in einer randomisierten, doppelblinden Studie mit 240 herzchirurgischen Patienten, dass KRIPC zu einer Reduktion von akutem Nierenversagen um 15% im Vergleich zur Kontrollgruppe führte [26]. Die Forschungsgruppe hat in dieser Studie bewusst auf Propofol als aktuell diskutierten *Confounder* im Anästhesieregime verzichtet und die Narkose mit volatilen Anästhetika durchgeführt [26]. Insgesamt scheinen die Ergebnisse im Bereich der Nephroprotektion durch ischämische Fernpräkonditionierung aktuell vielversprechender zu sein als im Gebiet der Kardioprotektion. Auch wenn sich diese Arbeit mit dem derzeit diskutierten Einfluss von Propofol auf die Kardioprotektion beschäftigt, geht dadurch nichts an ihrer Aktualität und Relevanz verloren. Propofol scheint unabhängig von dem Zielorgan der Fernpräkonditionierung einen hemmenden Effekt auf die protektiven Eigenschaften zu haben [26, 45, 65](s. Kap. 3).

4.3 Limitierungen der Studie

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sind rein deskriptiv. Eine Limitierung liegt darin, dass die zugrundeliegenden Mechanismen der Blockierung kardioprotektiver Effekte durch Propofol nicht untersucht wurden. Des Weiteren untersuchten wir ausschließlich den Einfluss von Anästhetika, wie sie im klinischen Alltag verwendet werden. Dadurch kommen die Ergebnisse einer klinischen Situation zwar sehr nahe, da wir aber keine Untersuchung von Pharmakon vs. Vehikel (z.B.: durch separate Gruppe mit Intralipid® und Pentobarbital) durchgeführt haben, können wir eventuelle Einflüsse durch enthaltene Substanzen, wie oben beschrieben, nicht sicher ausschließen. Hier sollten weitere Versuche zur Klärung erfolgen.

4.4 Ausblick

Aufgrund der Hinweise, die Kottenberg *et al.*[45] aufbrachten, den Ergebnissen dieser Arbeit und nicht zuletzt der Erfolge von KRIPC (s.o.), sollte der Effekt von RIPC auf die Kardioprotektion in klinischen Studien unter Ausschluss von Propofol erneut untersucht werden. Auch wenn es, wie oben diskutiert, so zu sein scheint, dass die Trägerlösung von Propofol keinen negativen Effekt auf die Kardioprotektion hat, müssen auch hier spezifischere Studien durchgeführt werden, um Intralipid® als Ursache aufgehobener kardioprotektiver Effekte nach ischämischer Fernpräkonditionierung auszuschließen. Die Frage, warum der Transfer aus experimentellen in klinische Studien bisher wenig erfolgreich war, stellt in diesem Zusammenhang einen wichtigen Punkt dar. Trotz eines hohen Forschungsaufwandes und immer mehr detektierten Störfaktoren scheinen sicher und reproduzierbar erfolgreiche Anwendungen von RIPC im Patienten aktuell in einiger Ferne. Heusch und Rassaf diskutierten in diesem Zusammenhang in einer Veröffentlichung aus dem Jahr 2016 mit dem Titel „*Time to Give Up on Cardioprotection?*“ [18] unter anderem über die Sinnhaftigkeit, weitere Anstrengungen in das Gebiet der ischämischen Fernpräkonditionierung zu investieren. Gegenstand der Diskussion war unter anderem die Schwierigkeit der Übertragung funktionierender Ergebnisse aus dem Tierversuch in klinische Studien [18]. Die Autoren verdeutlichten, dass es je nach Spezies schon alleine anatomisch und physiologisch entscheidende Unterschiede zum Menschen gibt [18]. Auch wenn biologische Unterschiede unumstrittene Hindernisse sind, die einen direkten Vergleich und eine Eins-zu-Eins-Übertragung unmöglich machen, so geben

vielversprechende experimentelle Daten immer einen Anhalt auf eine mögliche Übertragung auf den Menschen und sind eine notwendige Grundlage. Die bisher einzigen großen Phase-III-Studien zu diesem Thema konnten zwar keinen Effekt von RIPC feststellen [51, 52], aber die positiven Ergebnisse einiger kleinerer klinischer Studien und die Ergebnisse aktueller experimenteller Forschung, wie auch dieser Arbeit, sollten zur Bewertung der Gesamtsituation herangezogen und berücksichtigt werden. So gibt es neben den unumgänglichen Hürden bei der Übertragung von Tiermodellen in klinische Studien immer auch beeinflussbare Faktoren, die das Ergebnis ändern können. Hier spielt z.B. die Frage nach der Art der Durchführung von RIPC eine interessante Rolle. Die Anwendung der ischämischen Fernpräkonditionierung am Patienten beruht auf den Ergebnissen vorangegangener erfolgreicher Tierversuche. Aufgrund der elementaren Unterschiede zwischen den Spezies [18] sollte die Übertragung der Versuchsprotokolle aus dem experimentellen Bereich in die Klinik kritisch diskutiert werden. Es muss überprüft werden, ob die in den klinischen Studien häufig verwendete Anwendung der einseitigen Armschämie per *Tourniquet* einen ausreichenden Reiz darstellt. Ist die zur Verfügung stehende Muskelmasse eines Arms ausreichend, um einen kardioprotektiven Stimulus zu erzeugen, oder muss eine beidseitige Anwendung oder eventuell eine Ischämieinduktion über Unterschenkel-, oder Oberschenkel-*Tourniquets* in Betracht gezogen werden? In gleichem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob die verwendete Zyklenzahl und die Dauer der Extremitätenischämie ausreichend und passend gewählt sind. All dem liegt die Frage zugrunde, welches Verhältnis von Dauer und Häufigkeit der Anwendung zu benötigter Muskelmasse erforderlich ist, um einen kardioprotektiven Stimulus erzeugen zu können. In einem aktuellen Review der Arbeitsgruppe um Deferrari aus 2017 wurden unterschiedliche klinische Studien zu RIPC eingeschlossen [89]. Dabei wurde eine Subgruppenanalyse einiger Studien mit unterschiedlichen Protokollen durchgeführt. Hier konnten die Autoren keine Unterschiede in den Ergebnissen durch Variationen in Zyklusanzahl oder Stimulationsort feststellen [89]. Allerdings ist diese retrospektive Analyse nicht mit der Aussagekraft einer prospektiven Dosisfindung zu vergleichen. Dementsprechend sollten zur Klärung dieser Frage entsprechende Phase II Studien zur Dosisfindung im Menschen durchgeführt werden. Aktuell fehlen diese Studien.

Die Übertragung der Ergebnisse aus etablierten experimentellen Untersuchungen in klinische Studien ist eine große Hürde, die im vorliegenden Fall der Kardioprotektion durch RIPC noch nicht fehlerfrei funktioniert. Dennoch stellen weitere Forschungen eine unverzichtbare Säule in der Etablierung der Methode in den klinischen Alltag dar. Da es

sich bei der ischämischen Fernpräkonditionierung um eine einfach und *ubiquitär* verfügbare, für Patienten gefahrlose und nicht zuletzt kostengünstige Möglichkeit handelt, um aktive Kardioprotektion zu etablieren, sollten die Bemühungen in diesem Bereich fortgeführt werden. Unter diesem Aspekt wird die Relevanz der vorliegenden Arbeit deutlich. Durch die Detektion von Propofol als einen blockierenden Faktor der Kardioprotektion unter RIPC bildet sie einen weiteren Baustein für den erfolgreichen Einsatz von ischämischer Fernpräkonditionierung im Menschen.

5 Literaturverzeichnis

1. Deutsche Gesellschaft Für Kardiologie, Herz- Und Kreislaufforschung e.V., *Neuer Deutscher Herzbericht*. Pressetext DGK, 2014.
2. Moran, A.E., Forouzanfar, M.H., Roth, G.A., et al., *Temporal trends in ischemic heart disease mortality in 21 world regions, 1980 to 2010: the Global Burden of Disease 2010 study*. Circulation, 2014. **129**(14): p. 1483-92.
3. Osterhues, H.H., Baer, F.M., Kelm, M., et al., *Kommentar zu den Leitlinien zur perioperativen kardiovaskulären Evaluation bei nichtkardialer Chirurgie der ACC/AHA*. Der Kardiologe, 2007. **1**(1): p. 18-30.
4. Gho, B.C., Schoemaker, R.G., van den Doel, M.A., et al., *Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue*. Circulation, 1996. **94**(9): p. 2193-200.
5. Przyklenk, K. and Whittaker, P., *Remote ischemic preconditioning: current knowledge, unresolved questions, and future priorities*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2011. **16**(3-4): p. 255-9.
6. Gerd Herold und Mitarb., *Innere Medizin: eine vorlesungsorientierte Darstellung ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung ; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. 2017: Gerd Herold. 997.
7. Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), and Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF), *Nationale Versorgungsleitlinie Chronische KHK - Langfassung*. 2016.
8. Statistisches Bundesamt. *Todesursachenstatistik ab 1998. Sterbefälle, Sterbeziffern (je 100.000 Einwohner, altersstandardisiert)*. 2014 14.11.2017]; Available from: www.gbe-bund.de.
9. Robert Koch Institut and Statistisches Bundesamt. *Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Diagnosedaten der Krankenhäuser ab 2000 für die 10/20/50/100 häufigsten Diagnosen (Fälle, Verweildauer, Anteile). Gliederungsmerkmale: Jahre, Behandlungsort, Alter, Geschlecht, Verweildauerklassen, ICD10*. [Tabelle] 2017 23.11.2017]; Available from: http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd_init?gbe.isgbetol/xs_start_neu/&p_aid=i&p_aid=82118622&nummer=564&p_sprache=D&p_indsp=6000&p_aid=14552434.
10. Gosswald, A., Schienkiewitz, A., Nowossadeck, E., et al., *[Prevalence of myocardial infarction and coronary heart disease in adults aged 40-79 years in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2013. **56**(5-6): p. 650-5.
11. Robert Koch Institut and Statistisches Bundesamt. *Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Operationen und Prozeduren der vollstationären Patientinnen und Patienten in Krankenhäusern*. 2017; Available from: http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd_init?gbe.isgbetol/xs_start_neu/&p_aid=3&p_aid=30029408&nummer=662&p_sprache=D&p_indsp=99999999&p_aid=29509655.

12. Haynes, A.B., Weiser, T.G., Berry, W.R., et al., *A surgical safety checklist to reduce morbidity and mortality in a global population*. N Engl J Med, 2009. **360**(5): p. 491-9.
13. Devereaux, P.J., Chan, M.T., Alonso-Coello, P., et al., *Association between postoperative troponin levels and 30-day mortality among patients undergoing noncardiac surgery*. Jama, 2012. **307**(21): p. 2295-304.
14. Kristensen, S.D., Knuuti, J., Saraste, A., et al., *2014 ESC/ESA Guidelines on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management: The Joint Task Force on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Anaesthesiology (ESA)*. Eur Heart J, 2014. **35**(35): p. 2383-431.
15. Statistisches Bundesamt, *Online-Datenbank, 10. und 12. koordinierte Bevölkerungsvorausberechnung: Bevölkerung Deutschlands bis 2050, Bevölkerung Deutschlands bis 2060*. 2012, Bundeszentrale für politische Bildung.
16. Murry, C.E., Jennings, R.B., and Reimer, K.A., *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium*. Circulation, 1986. **74**(5): p. 1124-36.
17. Skyschally, A., Amanakis, G., Neuhauser, M., et al., *Impact of electrical defibrillation on infarct size and no-reflow in pigs subjected to myocardial ischemia-reperfusion without and with ischemic conditioning*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2017. **313**(5): p. H871-h878.
18. Heusch, G. and Rassaf, T., *Time to Give Up on Cardioprotection? A Critical Appraisal of Clinical Studies on Ischemic Pre-, Post-, and Remote Conditioning*. Circ Res, 2016. **119**(5): p. 676-95.
19. Jenkins, D.P., Pugsley, W.B., Alkhulaifi, A.M., et al., *Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery*. Heart, 1997. **77**(4): p. 314-8.
20. Wu, Z.K., Pehkonen, E., Laurikka, J., et al., *The protective effects of preconditioning decline in aged patients undergoing coronary artery bypass grafting*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2001. **122**(5): p. 972-8.
21. Yellon, D.M., Alkhulaifi, A.M., and Pugsley, W.B., *Preconditioning the human myocardium*. Lancet, 1993. **342**(8866): p. 276-7.
22. Przyklenk, K., Bauer, B., Ovize, M., et al., *Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion*. Circulation, 1993. **87**(3): p. 893-9.
23. Siedek, F., Persigehl, T., Mueller, R.U., et al., *Assessing renal changes after remote ischemic preconditioning (RIPC) of the upper extremity using BOLD imaging at 3T*. MAGMA, 2017.
24. Tuorkey, M.J., *Kidney remote ischemic preconditioning as a novel strategy to explore the accurate protective mechanisms underlying remote ischemic preconditioning*. Interv Med Appl Sci, 2017. **9**(1): p. 20-26.
25. Wang, X., Kong, N., Zhou, C., et al., *Effect of Remote Ischemic Preconditioning on Perioperative Cardiac Events in Patients Undergoing Elective Percutaneous Coronary Intervention: A Meta-Analysis of 16 Randomized Trials*. Cardiol Res Pract, 2017. **2017**: p. 6907167.

26. Zarbock, A., Schmidt, C., Van Aken, H., et al., *Effect of remote ischemic preconditioning on kidney injury among high-risk patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial*. JAMA, 2015. **313**(21): p. 2133-41.
27. Zhou, C., Bulluck, H., Fang, N., et al., *Age and Surgical Complexity impact on Renoprotection by Remote Ischemic Preconditioning during Adult Cardiac Surgery: A Meta analysis*. Sci Rep, 2017. **7**(1): p. 215.
28. Striebel, H.W., *Die Anästhesie, Grundlagen und Praxis, Band I*. Vol. 3. 2002: Schattauer Stuttgart. 861.
29. Karow, T. and Lang-Roth, R., *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Vol. 21. 2012: Thomas Karow. 1290.
30. Kirsch, K., Palm, J., and Wedel, K., *Die Tücken des "sanften Todes", Euthanasie von Tieren*. Deutsches Tierärzteblatt, 2016: p. 1362-1366.
31. Frey, H.-H. and Löscher, W., *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. Vol. 2. 2002, Stuttgart: Enke Verlag.
32. Estler, C.-J. and Schmidt, H., *Pharmakologie und Toxikologie, Für Studium und Praxis*. Vol. 6. 2007, Stuttgart: Schattauer 1124.
33. Heller, A.R. and Brückner, J.B., *Update Inhalationsanästhesie*, in *Deutscher Anästhesie Kongress (DAC)*. 2009.
34. Campagna, J.A., Miller, K.W., and Forman, S.A., *Mechanisms of actions of inhaled anesthetics*. N Engl J Med, 2003. **348**(21): p. 2110-24.
35. Tonner, P.H., *How do anaesthetics act?* Anästh Intensivmed, 2006. **47**: p. 265-82.
36. Garcia, C., Julier, K., Bestmann, L., et al., *Preconditioning with sevoflurane decreases PECAM-1 expression and improves one-year cardiovascular outcome in coronary artery bypass graft surgery*. Br J Anaesth, 2005. **94**(2): p. 159-65.
37. Julier, K., da Silva, R., Garcia, C., et al., *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, 2003. **98**(6): p. 1315-27.
38. Chiari, P.C., Bienengraeber, M.W., Pagel, P.S., et al., *Isoflurane protects against myocardial infarction during early reperfusion by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction: evidence for anesthetic-induced postconditioning in rabbits*. Anesthesiology, 2005. **102**(1): p. 102-9.
39. Behmenburg, F., Boekholt, Y., van Caster, P., et al., *Extended Second Window of Protection of Sevoflurane-induced Preconditioning*. J Cardiovasc Pharmacol, 2017. **70**(5): p. 284-289.
40. Lou, P.H., Lucchinetti, E., Zhang, L., et al., *Loss of Intralipid(R)- but not sevoflurane-mediated cardioprotection in early type-2 diabetic hearts of fructose-fed rats: importance of ROS signaling*. PLoS One, 2014. **9**(8): p. e104971.
41. Berger, M.M., Huhn, R., Oei, G.T., et al., *Hypoxia induces late preconditioning in the rat heart in vivo*. Anesthesiology, 2010. **113**(6): p. 1351-60.
42. Mutschler, E., Geisslinger, G., Kroemer, H.K., et al., *Mutschler Arzneimittelwirkungen, Pharmakologie, Klinische Pharmakologie, Toxikologie*. Vol. 10. 2013, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft 1197.

43. Yip, G.M., Chen, Z.W., Edge, C.J., et al., *A propofol binding site on mammalian GABAA receptors identified by photolabeling*. Nat Chem Biol, 2013. **9**(11): p. 715-20.
44. Kottenberg, E., Musiolik, J., Thielmann, M., et al., *Interference of propofol with signal transducer and activator of transcription 5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass grafting*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2014. **147**(1): p. 376-82.
45. Kottenberg, E., Thielmann, M., Bergmann, L., et al., *Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol - a clinical trial*. Acta Anaesthesiol Scand, 2012. **56**(1): p. 30-8.
46. Behmenburg, F., van Caster, P., Bunte, S., et al., *Impact of Anesthetic Regimen on Remote Ischemic Preconditioning in the Rat Heart In Vivo*. Anesth Analg, 2018. **126**(4): p. 1377-1380.
47. Zhang, J., Zhang, J., Yu, P., et al., *Remote Ischaemic Preconditioning and Sevoflurane Postconditioning Synergistically Protect Rats from Myocardial Injury Induced by Ischemia and Reperfusion Partly via Inhibition TLR4/MyD88/NF-kappaB Signaling Pathway*. Cell Physiol Biochem, 2017. **41**(1): p. 22-32.
48. Thielmann, M., Kottenberg, E., Kleinbongard, P., et al., *Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial*. Lancet, 2013. **382**(9892): p. 597-604.
49. Botker, H.E., Kharbanda, R., Schmidt, M.R., et al., *Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial*. Lancet, 2010. **375**(9716): p. 727-34.
50. Hoole, S.P., Heck, P.M., Sharples, L., et al., *Cardiac Remote Ischemic Preconditioning in Coronary Stenting (CRISP Stent) Study: a prospective, randomized control trial*. Circulation, 2009. **119**(6): p. 820-7.
51. Hausenloy, D.J., Candilio, L., Evans, R., et al., *Remote Ischemic Preconditioning and Outcomes of Cardiac Surgery*. N Engl J Med, 2015. **373**(15): p. 1408-17.
52. Meybohm, P., Bein, B., Brosteanu, O., et al., *A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery*. N Engl J Med, 2015. **373**(15): p. 1397-407.
53. Coverdale, N.S., Hamilton, A., Petsikas, D., et al., *Remote Ischemic Preconditioning in High-risk Cardiovascular Surgery Patients: A Randomized-controlled Trial*. Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2017.
54. Behmenburg, F., Heinen, A., Bruch, L.V., et al., *Cardioprotection by Remote Ischemic Preconditioning is Blocked in the Aged Rat Heart in Vivo*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2017. **31**(4): p. 1223-1226.
55. Galagudza, M.M., Nekrasova, M.K., Syrenskii, A.V., et al., *Resistance of the myocardium to ischemia and the efficacy of ischemic preconditioning in experimental diabetes mellitus*. Neurosci Behav Physiol, 2007. **37**(5): p. 489-93.
56. Kristiansen, S.B., Lofgren, B., Stottrup, N.B., et al., *Ischaemic preconditioning does not protect the heart in obese and lean animal models of type 2 diabetes*. Diabetologia, 2004. **47**(10): p. 1716-21.

57. Lim, S.Y., Yellon, D.M., and Hausenloy, D.J., *The neural and humoral pathways in remote limb ischemic preconditioning*. Basic Res Cardiol, 2010. **105**(5): p. 651-5.
58. Rahman, S., Li, J., Bopassa, J.C., et al., *Phosphorylation of GSK-3 β mediates intralipid-induced cardioprotection against ischemia/reperfusion injury*. Anesthesiology, 2011. **115**(2): p. 242-53.
59. Lou, P.H., Lucchinetti, E., Zhang, L., et al., *The mechanism of Intralipid(R)-mediated cardioprotection complex IV inhibition by the active metabolite, palmitoylecarnitine, generates reactive oxygen species and activates reperfusion injury salvage kinases*. PLoS One, 2014. **9**(1): p. e87205.
60. Javadov, S.A., Lim, K.H.H., Kerr, P.M., et al., *Protection of hearts from reperfusion injury by propofol is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition*. Cardiovascular Research, 2000. **45**(2): p. 360-369.
61. De Hert, S.G., ten Broecke, P.W., Mertens, E., et al., *Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function in coronary surgery patients*. Anesthesiology, 2002. **97**(1): p. 42-9.
62. Mastitskaya, S., Marina, N., Gourine, A., et al., *Cardioprotection evoked by remote ischaemic preconditioning is critically dependent on the activity of vagal pre-ganglionic neurones*. Cardiovasc Res, 2012. **95**(4): p. 487-94.
63. Donato, M., Buchholz, B., Rodriguez, M., et al., *Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning*. Exp Physiol, 2013. **98**(2): p. 425-34.
64. McDougall, S.J., Bailey, T.W., Mendelowitz, D., et al., *Propofol enhances both tonic and phasic inhibitory currents in second-order neurons of the solitary tract nucleus (NTS)*. Neuropharmacology, 2008. **54**(3): p. 552-63.
65. Wang, X., Huang, Z.G., Gold, A., et al., *Propofol modulates gamma-aminobutyric acid-mediated inhibitory neurotransmission to cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus*. Anesthesiology, 2004. **100**(5): p. 1198-205.
66. Jensen, R.V., Stottrup, N.B., Kristiansen, S.B., et al., *Release of a humoral circulating cardioprotective factor by remote ischemic preconditioning is dependent on preserved neural pathways in diabetic patients*. Basic Res Cardiol, 2012. **107**(5): p. 285.
67. Shimizu, M., Tropak, M., Diaz, R.J., et al., *Transient limb ischaemia remotely preconditions through a humoral mechanism acting directly on the myocardium: evidence suggesting cross-species protection*. Clin Sci (Lond), 2009. **117**(5): p. 191-200.
68. Totzeck, M., Hendgen-Cotta, U., and Rassaf, T., *Concepts of hypoxic NO signaling in remote ischemic preconditioning*. World J Cardiol, 2015. **7**(10): p. 645-51.
69. Totzeck, M., Hendgen-Cotta, U.B., French, B.A., et al., *A practical approach to remote ischemic preconditioning and ischemic preconditioning against myocardial ischemia/reperfusion injury*. J Biol Methods, 2016. **3**(4).
70. Rassow, J., Hauser, K., Netzker, R., et al., *Biochemie*. Vol. 4. 2016: Thieme.
71. Mocanu, M.M., Baxter, G.F., and Yellon, D.M., *Caspase inhibition and limitation of myocardial infarct size: protection against lethal reperfusion injury*. Br J Pharmacol, 2000. **130**(2): p. 197-200.

72. Baxter, G.F., Mocanu, M.M., Brar, B.K., et al., *Cardioprotective effects of transforming growth factor-beta1 during early reoxygenation or reperfusion are mediated by p42/p44 MAPK*. J Cardiovasc Pharmacol, 2001. **38**(6): p. 930-9.
73. Yellon, D.M. and Baxter, G.F., *Reperfusion injury revisited: is there a role for growth factor signaling in limiting lethal reperfusion injury?* Trends Cardiovasc Med, 1999. **9**(8): p. 245-9.
74. Hausenloy, D.J. and Yellon, D.M., *New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway*. Cardiovasc Res, 2004. **61**(3): p. 448-60.
75. Schulman, D., Latchman, D.S., and Yellon, D.M., *Urocortin protects the heart from reperfusion injury via upregulation of p42/p44 MAPK signaling pathway*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002. **283**(4): p. H1481-8.
76. Hausenloy, D.J., Tsang, A., Mocanu, M.M., et al., *Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005. **288**(2): p. H971-6.
77. Skyschally, A., Gent, S., Amanakis, G., et al., *Across-Species Transfer of Protection by Remote Ischemic Preconditioning With Species-Specific Myocardial Signal Transduction by Reperfusion Injury Salvage Kinase and Survival Activating Factor Enhancement Pathways*. Circ Res, 2015. **117**(3): p. 279-88.
78. Tamarelle, S., Mateus, V., Ghaboura, N., et al., *RISK and SAFE signaling pathway interactions in remote limb ischemic preconditioning in combination with local ischemic postconditioning*. Basic Res Cardiol, 2011. **106**(6): p. 1329-39.
79. Lecour, S., *Activation of the protective Survivor Activating Factor Enhancement (SAFE) pathway against reperfusion injury: Does it go beyond the RISK pathway?* J Mol Cell Cardiol, 2009. **47**(1): p. 32-40.
80. Heusch, G., Musiolik, J., Gedik, N., et al., *Mitochondrial STAT3 activation and cardioprotection by ischemic postconditioning in pigs with regional myocardial ischemia/reperfusion*. Circ Res, 2011. **109**(11): p. 1302-8.
81. Suleman, N., Somers, S., Smith, R., et al., *Dual activation of STAT-3 and Akt is required during the trigger phase of ischaemic preconditioning*. Cardiovasc Res, 2008. **79**(1): p. 127-33.
82. Heusch, G., Musiolik, J., Kottenberg, E., et al., *STAT5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning in humans: short communication*. Circ Res, 2012. **110**(1): p. 111-5.
83. Gedik, N., Maciel, L., Schulte, C., et al., *Cardiomyocyte mitochondria as targets of humoral factors released by remote ischemic preconditioning*. Arch Med Sci, 2017. **13**(2): p. 448-458.
84. Heusch, G., Boengler, K., and Schulz, R., *Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening: the Holy Grail of cardioprotection*. Basic Res Cardiol, 2010. **105**(2): p. 151-4.
85. Dorsch, M., Behmenburg, F., Raible, M., et al., *Morphine-Induced Preconditioning: Involvement of Protein Kinase A and Mitochondrial Permeability Transition Pore*. PLoS One, 2016. **11**(3): p. e0151025.

86. Cao, C.M., Xia, Q., Gao, Q., et al., *Calcium-activated potassium channel triggers cardioprotection of ischemic preconditioning*. J Pharmacol Exp Ther, 2005. **312**(2): p. 644-50.
87. Halestrap, A.P., Clarke, S.J., and Khaliulin, I., *The role of mitochondria in protection of the heart by preconditioning*. Biochim Biophys Acta, 2007. **1767**(8): p. 1007-31.
88. Twaroski, D.M., Yan, Y., Zaja, I., et al., *Altered Mitochondrial Dynamics Contributes to Propofol-induced Cell Death in Human Stem Cell-derived Neurons*. Anesthesiology, 2015. **123**(5): p. 1067-83.
89. Deferrari, G., Bonanni, A., Bruschi, M., et al., *Remote ischaemic preconditioning for renal and cardiac protection in adult patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*. Nephrol Dial Transplant, 2017.

Danksagung

Ein besonderer und ausdrücklicher Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. med. Ragnar Huhn-Wientgen. Seine Bestärkung, Förderung und außerordentliche Betreuung haben mich immer wieder motiviert und angetrieben. Ich möchte mich für diese Zeit, in der ich sehr viel lernen durfte, bedanken.

Frau Dr. med. Friederike Behmenburg danke ich für ihre Unterstützung und die stets unmittelbare Hilfestellung.

Weiterhin möchte ich Frau Prof. Dr. rer. nat. Inge Bauer für die gewährte Unterstützung und die Beratung im Zuge des Schreibprozesses danken.

Zum Ende gilt mein außerordentlicher Dank meiner gesamten Familie. Sie gaben mir zu jeder Zeit den nötigen Rückhalt. Besonders dankbar bin ich meinen Eltern Gabriele und Klaus Bunte, die in jeder Lebenssituation uneingeschränkt hinter mir stehen und mich stets bestärken. Ohne diesen unermüdlichen Beistand und ihren immensen Einsatz wäre ich niemals an diesen Punkt gekommen. Nicht zuletzt möchte ich meinen Schwestern Anne Christin Wietfeld und Katharina Emptmeyer danken, die mich stets unterstützt und ermutigt haben und die mir immer ein Vorbild sind.