

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

**Kardioprotektion durch ischämische  
Präkonditionierung: Einfluss verschiedener  
Anästhesieverfahren in der Ratte *in vivo***

Dissertation

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

vorgelegt von  
Franziska Eckelskemper

2021

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

gez.:

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

Erstgutachter: Prof. Dr. Dr. med. Ragnar Huhn-Wientgen

Zweitgutachter: PD Dr. med. Hug Aubin

**Meinem Mann und meinem Sohn gewidmet**

Ergebnisse und Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Bunte, S., Behmenburg, F., Eckelskemper, F., Mohr, F., Stroethoff, M., Raupach, A., Heinen, A., Hollmann, M., Huhn, R., (2019), Cardioprotection by Humoral Factors Released After Remote Ischemic Preconditioning Depends on Anesthetic Regimen. *Critical Care Medicine*, (47(3)), e250-e255

## Zusammenfassung

### Kardioprotektion durch ischämische Präkonditionierung: Einfluss verschiedener Anästhesieverfahren in der Ratte *in vivo*

Ischämische Präkonditionierung (IPC) führt zu einer deutlichen Reduktion des Ischämie- und Reperfusionsschadens des Herzens, ist jedoch für das klinische Setting zu invasiv und unpraktikabel. Die Ischämische Fernpräkonditionierung (*Remote Ischemic Preconditioning*, RIPC) ist dagegen im klinischen Umfeld weitaus einfacher durchzuführen. Während die Ergebnisse aus experimentellen Studien vielversprechend sind, bleiben Daten aus klinischen Studien jedoch widersprüchlich. Ein möglicher Einflussfaktor auf die vorteilhaften Effekte von RIPC stellt das gewählte Anästhesieverfahren dar. Auch eigene Daten konnten bereits eine Blockade der RIPC-vermittelten Kardioprotektion unter Propofolanästhesie zeigen. Ziel dieser Studie war es zu untersuchen, ob auch die kardioprotektiven Effekte der IPC durch verschiedene, klinisch eingesetzte Anästhesieverfahren beeinflusst werden.

Die Studie erfolgte nach Genehmigung durch die Landesbehörde an 36 männlichen, jungen, mit Pentobarbital narkotisierten Wistar-Ratten *in vivo*. Alle Tiere unterliefen nach der Instrumentierung eine 15-minütige Erholungsphase vor Beginn der Intervention, gefolgt von einer 25-minütigen regionalen Myokardischämie und 120 Minuten Reperfusion. Es wurden insgesamt sechs Gruppen randomisiert (n=6). Die Kontrolltiere (Con) wurden nicht weiter behandelt. IPC wurde durch drei Zyklen fünfminütiger Ischämie- und Reperfusionsphasen mittels Okklusion der linken Koronararterie induziert. Es wurden drei verschiedene Anästhesieregime untersucht: eine Narkose mit Pentobarbital (Pento, 40 mg/kg/h), eine balancierte Anästhesie mit Sevofluran (Sevo, MAC 1) und Remifentanyl (0,5 g/kg/min) und eine total intravenöse Anästhesie mit Propofol (Prop, 12 mg/kg/h) und Remifentanyl (0,5 µg/kg/min).

Am Ende des Experiments wurden die Herzen entnommen und das Infarktareal mittels *Evans-Blue* und Triphenyltetrazoliumchlorid angefärbt. Die Infarktgröße wurde in Prozent des Risikogebiets angegeben. Die statistische Auswertung erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse und anschließendem *Tukey's post hoc* Test. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte±Standardabweichung angegeben. Als statistisch signifikant wurden Ergebnisse mit einem p-Wert unter 0,05 erachtet.

In allen drei Kontrollgruppen war die Infarktgröße vergleichbar (Pento-Con: 58±7 %, Sevo-Con: 62±5 %, Prop-Con: 59±8 %). IPC induzierte unter allen drei Anästhesieverfahren eine signifikante Infarktgrößenreduktion (Pento-IPC: 19±5 %, Sevo-IPC: 17±6 %, Prop-IPC: 17±8 %; P<0.0001 vs. Con). Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Infarktgrößenreduktion in Bezug auf das gewählte Anästhesieregime.

Die IPC-vermittelte Kardioprotektion wird nicht durch unterschiedliche Anästhesieverfahren beeinflusst.

## Abstract

### **Cardioprotection by ischaemic preconditioning: impact of anaesthetic regimen in the rat heart *in vivo***

Ischaemic preconditioning (IPC) induces strong cardioprotection. Although remote ischaemic preconditioning (RIPC) is more practicable in the clinical setting the results from clinical trials are contradictory suggesting an influence by the anaesthetic regimen on the beneficial impact of RIPC. Own experimental data demonstrate abolished cardioprotection of RIPC under propofol anaesthesia. This study investigated whether cardioprotection by IPC is abolished by different clinically used anaesthetic regimens.

The study was performed on 36 young male Pentobarbital-anesthetized Wistar rats approved by and in accordance with institutional and national guidelines. After thoracotomy and pericardiotomy animals underwent 15 minutes of recovery period before being exposed to 25 minutes of regional ischemia and 120 minutes of reperfusion. Animals were randomized into six groups (each group n=6). IPC was achieved by three cycles of five-minute occlusion of the left coronary artery via a snare occluder. Control (Con) animals received the same surgical preparation, but without IPC treatment. Three different anaesthetic regimens were investigated: anaesthesia was either maintained by Pentobarbital alone (Pento, 40 mg/kg/h) or by a balanced anaesthesia with either Sevoflurane (Sevo, 1 MAC) or Propofol (Pro, 12 mg/kg/h), each combined with Remifentanyl (0.5 µg /kg/min).

After completion of the experimental protocol, hearts were excised for infarct size determination by Evans-blue and Triphenyltetrazoliumchloride staining. Infarct sizes were indicated as percentage of area at risk. Statistical analysis was performed by one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. Data are expressed as mean±SD. Differences were considered statistically significant when P values were less than 0.05.

In all three control groups infarct size was comparable (Pento-Con: 58±7 %, Sevo-Con: 62±5 %, Prop-Con: 59±8 %). IPC induces a strong infarct size reduction under all three forms of anaesthesia (Pento-IPC: 19±5 %, Sevo-IPC: 17±6 %, Prop-IPC: 17±8 %; P<0.0001 vs. respective control group).

Cardioprotection by IPC is not influenced by different anaesthetic regimens.

## Abkürzungsverzeichnis

<b>AAR</b>	<i>Area at risk</i>
<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>ACE</b>	<i>Angiotensin Converting Enzyme</i>
<b>ACS</b>	Akutes Koronarsyndrom
<b>AKT/PKB</b>	Proteinkinase B
<b>AP</b>	<i>Angina pectoris</i>
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>cAMP/PKA</b>	zyklische Adenosinmonophosphat-abhängige Proteinkinase A
<b>CKMB</b>	Myokardiale Kreatin-Kinase
<b>Con</b>	Kontrollgruppe
<b>DNA</b>	<i>Desoxyribonucleic acid</i>
<b>DOR</b>	Delta-Opioid-Rezeptor
<b>EKG</b>	Elektrokardiogramm
<b>eNOS</b>	<i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
<b>EPC</b>	<i>early preconditioning</i>
<b>ERK 1/2</b>	Extrazellulär regulierte Kinase 1/2
<b>FiO<sub>2</sub></b>	<i>fraction of inspired oxygen</i>
<b>g</b>	Gramm
<b>GABA</b>	$\gamma$ -Aminobuttersäure
<b>GLP-1</b>	<i>Glucagon-like-Peptide-1</i>
<b>GSK3<math>\beta</math></b>	Glykogen Synthase Kinase 3 $\beta$
<b>HIF-1<math>\alpha</math></b>	Hypoxie-induzierbarer Faktor 1 $\alpha$
<b>IL-6</b>	Interleukin-6
<b>IL-10</b>	Interleukin-10
<b>IPC</b>	<i>Ischemic Preconditioning</i> / Ischämische Präkonditionierung

<b>I/R</b>	Ischämie und Reperfusion
<b>I/R-Schaden</b>	Ischämie- und Reperfusionsschaden
<b>IS</b>	<i>infarct size/</i> Infarktgröße
<b>JAK</b>	Januskinase
<b>kg</b>	Kilogramm
<b>KG</b>	Körpergewicht
<b>KHK</b>	Koronare Herzerkrankung
<b>KOR</b>	Kappa-Opioid-Rezeptor
<b>LDH</b>	Laktatdehydrogenase
<b>LPC</b>	<i>late preconditioning</i>
<b>MAC</b>	Minimale alveoläre Konzentration
<b>MAP-Kinase</b>	Mitogen aktivierte Proteinkinase
<b>mg</b>	Milligramm
<b>miRNA</b>	<i>micro Ribonucleic acid</i>
<b>mK<sub>ATP</sub></b>	mitochondrialer ATP-abhängiger Kaliumkanal
<b>mK<sub>Ca</sub></b>	mitochondrialer kalziumabhängiger Kaliumkanal
<b>ml</b>	Milliliter
<b>mmHg</b>	Millimeter Quecksilbersäule
<b>MOR</b>	Morphin-Opioid-Rezeptor
<b>mPTP</b>	mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore (mPTP)
<b>mRNA</b>	<i>messenger Ribonucleic acid</i> (Boten-Ribonukleinsäure)
<b>NMDA</b>	N-Methyl-D-Aspartat
<b>NO</b>	Stickstoffmonoxid
<b>NSTEMI</b>	<i>Non ST-segment elevation myocardial infarction</i>
<b>PCI</b>	<i>Percutaneous coronary intervention/</i> perkutane Koronarintervention
<b>Pento</b>	Pentobarbital

<b>pH</b>	<i>potentia Hydrogenii</i>
<b>PI3K</b>	Phosphatidylinositol-3-Kinase
<b>PKB/AKT</b>	Proteinkinase B
<b>PKC</b>	Proteinkinase C
<b>PKG</b>	Proteinkinase G
<b>Prop</b>	Propofol
<b>RCX</b>	<i>Ramus circumflexus</i>
<b>RIPC</b>	<i>Remote Ischemic Preconditioning/</i> Ischämische Fernpräkonditionierung
<b>RISK</b>	<i>Reperfusion Injury Salvage Kinase</i>
<b>RIVA</b>	<i>Ramus interventricularis anterior</i>
<b>ROS</b>	<i>Reactive oxygen species/</i> reaktive Sauerstoffspezies
<b>SAFE</b>	<i>Survivor Activating Factor Enhancement</i>
<b>SDF-1<math>\alpha</math></b>	<i>stromal cell-derived factor 1<math>\alpha</math></i>
<b>Sevo</b>	Sevofluran
<b>STAT</b>	<i>Signal Transducers and Activators of Transcription</i>
<b>STEMI</b>	<i>ST-segment elevation myocardial infarction</i>
<b>TIVA</b>	Total intravenöse Anästhesie
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
<b>TLR-4</b>	Toll-Like-Rezeptor 4
<b>TTC</b>	Triphenyltetrazoliumhydrochlorid

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Ischämische Herzerkrankung.....	1
1.1.1	Definition.....	1
1.1.2	Epidemiologie.....	1
1.1.3	Ischämie- und Reperfusionsschaden.....	3
1.2	Ischämische Präkonditionierung.....	7
1.3	Ischämische Fernpräkonditionierung.....	11
1.4	Anästhetika.....	13
1.4.1	Pentobarbital.....	13
1.4.2	Sevofluran.....	13
1.4.3	Propofol.....	14
1.4.4	Remifentanyl.....	16
1.5	Zielsetzung der Arbeit.....	17
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>19</b>
2.1	Material.....	19
2.1.1	Tierversuchsgenehmigung.....	19
2.1.2	Versuchstiere.....	19
2.1.3	Verwendete Materialien/Laborgeräte/Software.....	19
2.2	Methoden.....	21
2.2.1	Chirurgisches Vorgehen – <i>in vivo</i> .....	21
2.2.2	Versuchsprotokoll.....	21
2.2.3	Bestimmung des Infarktareals.....	23
2.2.4	Statistische Auswertung.....	25
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>26</b>
3.1	Infarktgröße.....	26
3.2	Hämodynamische Parameter.....	27
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>29</b>
4.1	Beantwortung der Fragestellung.....	30
4.2	Signaltransduktion der IPC.....	31
4.2.1	Unterschiede zwischen IPC und RIPC.....	32
4.3	Diskussion der Methode.....	34
4.3.1	Versuchsaufbau und Anästhesie.....	34
4.3.2	Versuchstiere.....	38
4.4	Diskussion der Ergebnisse.....	40
4.4.1	Infarktgrößen.....	40

4.4.2	Hämodynamische Parameter .....	40
4.5	Limitierungen der Studie .....	41
4.6	Translation in die Klinik und Ausblick.....	42
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>44</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Ischämie und Reperfusion .....	5
Abb. 2: Signaltransduktion IPC .....	10
Abb. 3: Versuchsprotokoll.....	23
Abb. 4: Herzscheiben.....	24
Abb. 5: Infarktgröße .....	27

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über Material/Laborgeräte/Software .....	20
Tabelle 2: Hämodynamische Parameter .....	28

# **1 Einleitung**

## **1.1 Ischämische Herzerkrankung**

### **1.1.1 Definition**

Die ischämische Herzerkrankung (auch koronare Herzerkrankung, KHK) ist eine Manifestationsform der Arteriosklerose in den Herzkranzgefäßen (1). Durch Bildung lipidhaltiger Plaques in der Intima der Gefäßwand kommt es zu einer Verengung der Koronarien. In der Folge kommt es zu einer verringerten Durchblutung in dem entsprechenden Versorgungsgebiet des betroffenen Herzkranzgefäßes. Bei einer gesteigerten Belastung kann dies zu einer sogenannten Koronarinsuffizienz führen. Hierbei besteht eine Disbalance zwischen benötigtem und angebotenen Sauerstoff. Der resultierende Sauerstoffmangel und die myokardiale Ischämie äußern sich klinisch in einer akuten oder chronischen Verlaufsform, wobei die chronische Form sich jederzeit auch akut manifestieren kann (1). Das akute Koronarsyndrom (ACS) beschreibt drei akute potenziell lebensbedrohliche Krankheitsbilder: Die instabile Angina pectoris (AP), bei der der Patient unter plötzlich einsetzenden AP-typischen Symptomen (z.B. retrosternalen Brustschmerzen, gegebenenfalls mit Ausstrahlung in den Hals oder Arme) leidet, aber kein Anstieg der Herzenzyme nachzuweisen ist; den Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt (NSTEMI), bei dem der Patient eine AP-Symptomatik mit Troponinanstieg aufweist, jedoch ohne eine ST-Streckenhebung im Elektrokardiogramm (EKG), und den ST-Streckenhebungsinfarkt (STEMI), bei dem es zusätzlich zu direkten Infarktzeichen im EKG kommt. Unter dem chronischen Koronarsyndrom versteht man eine asymptomatische Ischämie, die beispielsweise während einer Routineuntersuchung festgestellt wurde, sowie die stabile Angina pectoris (1,2).

### **1.1.2 Epidemiologie**

Nach den Angaben der Weltgesundheitsorganisation stellen kardiovaskuläre Erkrankungen die Haupttodesursache weltweit dar. Mit 32,2 % aller Todesursachen im Jahr 2019 gegenüber 27,3 % im Jahr 2000 nimmt der Anteil der kardial bedingten Erkrankungen global betrachtet weiter zu. Die ischämische Herzerkrankung ist hierbei mit 16 % weltweit die häufigste Todesursache (3). Laut Statistischen Bundesamt waren 2019 in Deutschland 35,2 % der Sterbefälle durch Erkrankungen des Herz-

Kreislaufsystems bedingt (4), wobei 7,8 % aller Sterbefälle durch eine chronisch ischämische Herzerkrankung und 4,7 % durch einen akuten Myokardinfarkt verursacht wurden. Damit waren diese Erkrankungen im Jahr 2019 in Deutschland auf dem ersten und vierten Platz der Haupttodesursachen. Die meisten Todesfälle betrafen dabei Patienten jenseits des 65. Lebensjahres (5). Die Gesamtlebenszeitprävalenz der KHK beträgt 9,3 %, wobei die Prävalenz überproportional mit dem Alter zunimmt. Die 40-49-Jährigen erkranken mit einer Häufigkeit von 2,3 %, bei den 70-79-Jährigen nimmt die Prävalenz auf 22,3 % zu. Männer und Personen mit einem niedrigeren Bildungs- und Sozialstatus entwickeln weit häufiger eine KHK als Frauen oder Personen mit einem höheren sozialen Status (6). Während die Prävalenz der Erkrankung weiterhin weltweit betrachtet hoch ist, nehmen Inzidenz und Mortalität der KHK in Deutschland in den letzten Jahren ab (7), vermutlich aufgrund verbesserter Strategien zur Risikominimierung (Nichtrauchen, sportliche Aktivität, Blutdruck-, Diabetes- und Fettstoffwechseleinstellung) und einer Verbesserung der Versorgung des akuten Myokardinfarkts (8). Erkrankten in Deutschland 1985 noch 357 Männer je 100.000, waren es 2012 nur noch 253 je 100.000, bei den Frauen zeigt sich eine ähnliche Tendenz. Die Sterblichkeitsrate ging zwischen 1998 und 2013 bei Männern von 197,2 auf 105,0 je 100.000 Einwohner zurück, bei Frauen verhalten sich die Zahlen ähnlich (9). Dem gegenüber steht der demographische Wandel der Bevölkerung: Der Anteil der über 60 Jährigen wird im Jahr 2030 35 % und 2060 annähernd 40 % betragen (9). Hinzu kommt eine immer weiter zunehmende Lebenserwartung: Laut statistischem Bundesamt werden 2020 geborene Jungen im Durchschnitt 78,6 und Mädchen 83,4 Jahre alt (10).

Betrachtet man den hohen Anteil der durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursachten Kosten bezogen auf die gesamten Krankheitskosten in Deutschland (14,9 % im Jahr 2006), wird die Relevanz kardiologischer Erkrankungen nochmals verdeutlicht. Dabei entfielen allein 2,7 % bzw. 6,4 Mrd. Euro auf die Behandlung der ischämischen Herzerkrankung (11).

Zudem stellt die KHK im operativen Umfeld ein hohes Risiko dar. Die perioperative Sterblichkeit wird seit Jahren mit 0,4-0,8 % angegeben (12). Eine internationale prospektive Multicenterstudie zeigte 2016 anhand von über 44.000 Patienten, die sich einem operativen Eingriff unterzogen, eine Gesamtmortalität von 0,5 % und eine Komplikationsrate von 16,8 %. Die Mortalität bei Patienten mit einer oder mehr Komplikationen lag bei 2,8 %. Dabei traten kardiovaskuläre Komplikationen bei 4,5 % der Patienten auf, wobei die

Inzidenz für einen Myokardinfarkt oder einen plötzlichen Herztod jeweils 0,3 % betrug. Die Sterblichkeit bei Auftreten eines Myokardinfarkts betrug 18,7 % (13).

Immer mehr Menschen werden in Deutschland operiert, so wurden im Jahr 2018 insgesamt 16,9 Millionen Operationen an vollstationären Patient\*innen durchgeführt, im Jahr 2005 waren es noch 12 Millionen (14). Aufgrund dieser steigenden Zahlen und des demographischen Wandels der Bevölkerung ist davon auszugehen, dass die Zahl perioperativer kardialer Ereignisse noch weiter zunehmen wird. Wie oben bereits erläutert nimmt die Inzidenz der KHK mit steigendem Lebensalter zu. Daneben scheint ein hohes Alter das Risiko für ein perioperatives kardiovaskuläres Ereignis zusätzlich zu erhöhen (15,16).

Die zunehmende Alterung der Bevölkerung, steigende Operationszahlen, die immer noch sehr hohe Prävalenz kardialer Erkrankungen und perioperativ auftretende kardiovaskuläre Komplikationen zeigen, welche Bedeutung der Schutz kardialer Risikopatienten und die Entwicklung und Erforschung von Therapieoptionen zur Minimierung von Sterblichkeit und kardialen Ereignissen im Rahmen einer ischämischen Herzerkrankung haben.

Bisher beschränken sich die Schutzmaßnahmen auf eine präoperative Evaluation und Diagnostik, eine angepasste Anästhesie und postoperative Überwachung (17,18).

Einen weiteren Ansatz zur Minimierung perioperativer Mortalität und Morbidität stellt die ischämische Kardioprotektion zum Schutz vor einem Ischämie- und Reperfusionsschaden dar.

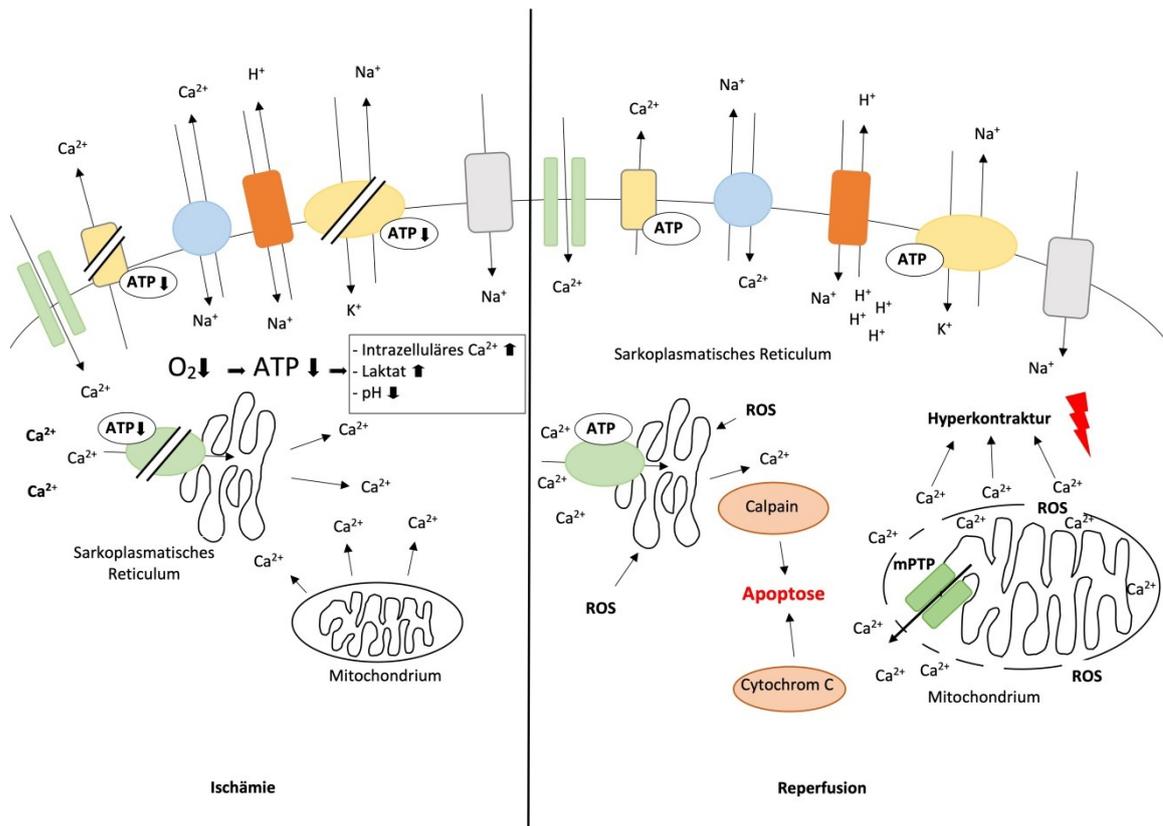
### **1.1.3 Ischämie- und Reperfusionsschaden**

Bei einem myokardialen Infarkt kommt es aufgrund von arteriosklerotischer Plaquebildung und einer anschließenden Ruptur des Plaques zu einer Okklusion einer Koronararterie. Dies hat eine reduzierte Durchblutung im koronaren Versorgungsgebiet und ein, gemessen am myokardialen Sauerstoffbedarf, unzureichendes Sauerstoffangebot zur Folge. Unter Belastung und einer fehlenden Reperfusion kann der Sauerstoffmangel zu einer Myokardischämie mit einem nachfolgenden Untergang der Kardiomyozyten führen. Dieser betrifft zunächst die subendothelialen Schichten und breitet sich mit anhaltender Ischämiedauer über die subepikardialen Schichten bis zur Grenze des von der betroffenen Koronararterie versorgten Gebietes aus (1,19).

Nach Heusch *et al.* wird die Ausdehnung der Infarktgröße vor allem von vier Faktoren beeinflusst: von dem Versorgungsgebiet der betroffenen Herzkranzarterie, der

sogenannten *area at risk* (AAR), von der Verschlussdauer der Koronararterie, dem Vorhandensein und der Ausprägung von Kollateralgefäßen und dem Ausmaß der mikrovaskulären Dysfunktion. Etwa 30-50 % der AAR können teilweise noch bis zu vier Stunden nach Beginn der klinischen Symptomatik durch eine zeitnahe Reperfusion, beispielsweise durch eine perkutane Koronarintervention (PCI), erhalten werden (20). Maßgeblich ist zudem die Toleranz des Gewebes gegenüber Phasen der Ischämie. In den ersten 30-40 Minuten sind die ischämiebedingten Schäden nur mikroskopisch nachweisbar und potentiell reversibel (21).

Ein rasches Wiedereinsetzen der Durchblutung ist nötig, damit ischämisches Myokard nicht infarziert. Die Reperfusion an sich führt jedoch zu einem zusätzlichen Gewebeschaden, dem sogenannten Ischämie- und Reperfusionsschaden (I/R-Schaden) (22,23). Dieser manifestiert sich als mikrovaskuläre Dysfunktion mit erhöhter Kapillarpermeabilität und Ödembildung, koronarer Mikroembolisation und Schädigung der vaskulären glatten Muskulatur mit Freisetzung vasokonstriktiver Substanzen (24,25). Schlussendlich kommt es zu einer Zerstörung der Kapillare mit Hämorrhagie und Zelluntergang der Kardiomyozyten (26). Klinisch können Arrhythmien und eine Verschlechterung der myokardialen Pumpfunktion auftreten. Abbildung 1 zeigt eine vereinfachte Übersicht der intrazellulären Vorgänge während der Ischämie- und Reperusionsphase.



**Abb. 1: Ischämie und Reperfusion:** Abbildung 1 zeigt vereinfacht die zellulären Vorgänge während Ischämie und Reperfusion. Im Rahmen der Ischämie führen eine Hemmung ATP-abhängiger Kanäle, der Anstieg der intrazellulären Calciumkonzentration, der pH-Wert-Abfall, die Bildung und Freisetzung von ROS (*Reactive oxygen species*; Reaktive Sauerstoffspezies) und ein intrazelluläres Ödem zu einer Zellschädigung. Während der Reperfusion kommt es in Anwesenheit von ROS, Calciumüberschuss und einem wieder normalisierten pH-Wert zu einer Öffnung der mPTP (mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Poren). In der Folge entkoppelt die oxydative Phosphorylierung, die Zelle schwillt an und die mitochondriale Membran rufturiert. Es werden Apoptosetrigger wie Cytochrom C und weiteres Calcium freigesetzt. Die überschießende Calciumkonzentration führt zu einer Hyperkontraktur und es kommt zum Zelluntergang. Zusätzlich schädigen radikale Sauerstoffspezies und die  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Protease Calpain Zellbestandteile, was zur Einleitung der Apoptose führt. Modifiziert nach Hausenloy *et al.* (2013) und Sanada *et al.* (2011) (27,28).

Aufgrund des mangelnden Sauerstoffangebots erfolgt die Energiegewinnung während der Ischämie mittels anaerober Glykolyse (29). Damit kann zunächst der Adenosintriphosphat (ATP)-Bedarf der Zelle gedeckt werden. Hält dieser Zustand jedoch an, kommt es zu einem Abfall des pH-Werts, zu einem Anstieg des Laktats und Phosphats, zu Änderungen der intrazellulären Elektrolytkonzentrationen und zu einem ATP-Mangel (30). Akkumulierende Stoffwechselprodukte der anaeroben Glykolyse wie Laktat und Phosphat tragen zur Entwicklung einer Azidose bei. Der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter

schleust Protonen aus der Zelle und Natrium in die Zelle, was zu einer Erhöhung der intrazellulären Natriumkonzentration führt. Aufgrund des Energiemangels werden zudem einige ATP-abhängige Membrantransporter in ihrer Funktion gehemmt. So kommt es aufgrund der nicht funktionierenden  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase zusätzlich zu einer erhöhten Natriumkonzentration, was wiederum dazu führt, dass der  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher im Verlauf entgegengesetzt arbeitet und nun Natrium aus der Zelle und zusätzliches Calcium in die Zelle transportiert wird. Folglich kommt es zu einer Erhöhung des Calciumgehalts der Zelle (28,31). Diese Überladung des Zytosols mit Calcium kann zu einer übermäßigen Aktivierung des kontraktilen Apparats, von Proteasen und Lipasen führen (32). Daneben schädigen gebildete reaktive Sauerstoffspezies (*Reactive oxygen species*, ROS) und das intrazelluläre Ödem enzymatische Prozesse, Zellorganellen und die Zellmembran (29). Durch die ischämiebedingte Azidose werden diese Vorgänge jedoch verlangsamt (32).

Während der nachfolgenden Reperfusion wird die Sauerstoffversorgung wiederhergestellt und die ATP-Gewinnung durch oxidative Phosphorylierung findet zunächst wieder statt. Es kommt zu einer Normalisierung des intrazellulären pH-Werts und einer zusätzlichen Freisetzung von ROS aus beschädigten Komplexen der Atmungskette. Zusammen mit der erhöhten Calcium- und Phosphatkonzentration führt dies dazu, dass sich an der inneren Mitochondrienmembran sogenannte mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Poren (*mitochondrial permeability transition pore*; mPTP) öffnen (27,33). Bei der mPTP handelt es sich um eine unspezifische Membranpore, deren Öffnung die Durchlässigkeit der inneren Mitochondrienmembran für Moleküle  $<1,5$  kDa zur Folge hat. Daraus resultiert der Verlust des mitochondrialen Membranpotentials. Im Verlauf kommt es zur Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung und damit zu einem Sistieren der ATP-Synthese. Entlang des osmotischen Gradienten strömt Wasser in die Mitochondrien ein, diese schwellen an und die äußere Mitochondrienmembran rupturiert (34,35). Dabei werden erneut Calcium und Cytochrom C, das die Einleitung eines Zelluntergangs triggert, freigesetzt (33). Daneben spaltet die Protease Calpain, die zuvor noch durch das saure Milieu gehemmt wurde, verschiedene Proteine des Zytoskeletts und initiiert eine Apoptose (27,31). Freie Sauerstoffradikale werden aus den Mitochondrien und von im Rahmen des inflammatorischen Prozesses eingewanderten neutrophilen Granulozyten freigesetzt. Übersteigt dies die antioxidative Kapazität der Zelle, greifen die ROS die

Integrität der Zellmembran und anderer zellulärer Strukturen wie Zellorganellen, Enzyme oder Ionenkanäle an, indem sie mit Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren reagieren. Dabei wird durch eine Schädigung des sarkoplasmatischen Retikulums die intrazelluläre Calciumüberladung verstärkt (27).

Eine zentrale Rolle bei der Entstehung des Reperfusionsschadens in den ersten Minuten scheint der Calcium-Überschuss zu spielen. Dieser führt neben den oben erläuterten Prozessen über eine überschießende Aktivierung des kontraktile Apparats im reperfundierten Myokard zu einer Hyperkontraktur der Kardiomyozyten. Die dabei entstehenden mechanischen Kräfte zerstören nicht nur die Zellmembran dieser Zelle, sondern beschädigen auch Nachbarzellen. Des Weiteren führt die elektromechanische Kopplung der Kardiomyozyten über *gap junctions* zu einer Ausbreitung der Hyperkontraktur, sodass Kontraktionsbandnekrosen entstehen (27,32).

Zusammen genommen führen die genannten Vorgänge zu einem Zelluntergang des Myokards. Dabei wird das Ausmaß des Gesamtschadens des untergegangenen Myokards sowohl durch die eigentliche Ischämie als auch durch die Reperfusion bestimmt. Es konnten jedoch Schutzmechanismen nachgewiesen werden, die im Sinne einer Präkonditionierung eine effektive Protektion des Herzens gegenüber einem Ischämie- und Reperfusionsschaden bewirken, sodass es im Rahmen einer Ischämie zu einem geringeren Verlust vitaler Kardiomyozyten kommt.

## **1.2 Ischämische Präkonditionierung**

Bei der ischämischen Präkonditionierung (*Ischemic Preconditioning*; IPC) des Herzens schützen kurze subletale Ischämien gefolgt von Reperfusionen über Freisetzung verschiedener endogener Faktoren sowie über die Aktivierung nicht abschließend geklärter Signalkaskaden die Kardiomyozyten vor einer darauffolgenden länger anhaltenden Ischämie. Aufgrund einer erhöhten Toleranz des Myokards gegenüber ischämischen Perioden fällt der Ischämie- und Reperfusionsschaden folglich geringer aus.

Murry *et al.* (36) gelang es erstmals im Jahre 1986 dieses Phänomen tierexperimentell am Hundeherzen *in vivo* darzustellen. Als präkonditionierenden ischämischen Stimulus setzten sie in der Interventionsgruppe vier Zyklen einer fünfminütigen Okklusion einer Koronararterie, gefolgt von einer fünfminütigen Reperusionsphase, ein. Im Anschluss

durchliefen Interventions- und Kontrollgruppe eine vierzigminütige Okklusion zur Simulation eines Myokardinfarktes. In der Interventionsgruppe zeigte sich eine Infarktgröße von 7,3 % und in der Kontrollgruppe von 29,4 % des Risikogebiets, was einer Infarktgrößenreduktion um bis zu 75 % entspricht. Damit konnten sie den kardioprotektiven Effekt der ischämischen Präkonditionierung im Sinne einer Infarktgrößenreduktion im Hundemodell nachweisen (36).

In zahlreichen tierexperimentellen (Schwein (37), Ratte (38,39), Kaninchen (40), Hund (41,42)) aber auch klinischen Studien (43), konnte der kardioprotektive Effekt der ischämischen Präkonditionierung in den folgenden Jahren nachgewiesen werden. Zudem konnte auch für andere Organe und Gewebe ein protektiver Effekt der ischämischen Präkonditionierung gezeigt werden (Niere (44), Leber (45), Gehirn (46), Lunge (47), Skelettmuskel (48), Gastrointestinaltrakt (49)).

Yellon *et al.* wiesen erstmals 1993 am Menschen kardioprotektive Effekte einer IPC im Rahmen einer Bypassoperation nach. Sie detektierten einen höheren ATP-Gehalt in den Myokardbiopsien der Patienten, die eine ischämische Präkonditionierung erhalten hatten und leiteten daraus eine erhöhte Geweberesistenz gegenüber Ischämien ab (50). Wu *et al.* zeigten in einer klinischen Studie den kardioprotektiven Effekt von IPC bei herzchirurgischen Patienten. Durch eine ischämische Präkonditionierung in Form von je zwei Episoden eines zweiminütigen Abklemmens der *Aorta ascendens* gefolgt von einer dreiminütigen Reperfusion konnte in der betreffenden Interventionsgruppe eine signifikante Verbesserung der globalen und rechtsventrikulären Pumpfunktion und eine Reduktion der postoperativen Troponinwerte im Vergleich zur Kontrollgruppe erzielt werden (51).

Bei der IPC können zwei Phasen der Protektion unterschieden werden (52): Die frühe Phase (*early preconditioning/ EPC*) oder klassische Präkonditionierung tritt direkt nach dem ischämischen Reiz auf und schützt den Herzmuskel bis zu zwei Stunden vor einem Zelluntergang. Die zweite, späte Präkonditionierung (*late preconditioning/ LPC*) setzt, wie Marber *et al.* zeigen konnten, 24 Stunden nach dem protektiven Initialstimulus ein und schützt das Myokard im Weiteren für etwa 48 Stunden gegen die negativen Auswirkungen der Ischämie und Reperfusion, insbesondere vor ventrikulärer Dysfunktion (53). Eine effektive Protektion außerhalb dieses Zeitintervalls scheint es nicht zu geben. Dem liegt zugrunde, dass die Vermittlung der Effekte der frühen Phase durch einen Verbrauch bereits vorhandener Signalmoleküle zu erklären ist (54) und der

Schutz der späten Phase auf einer gesteigerten Expression protektiver Elemente beruht (55). Es kommt also zu einer Veränderung der Genexpression und der Neusynthese von Proteinen.

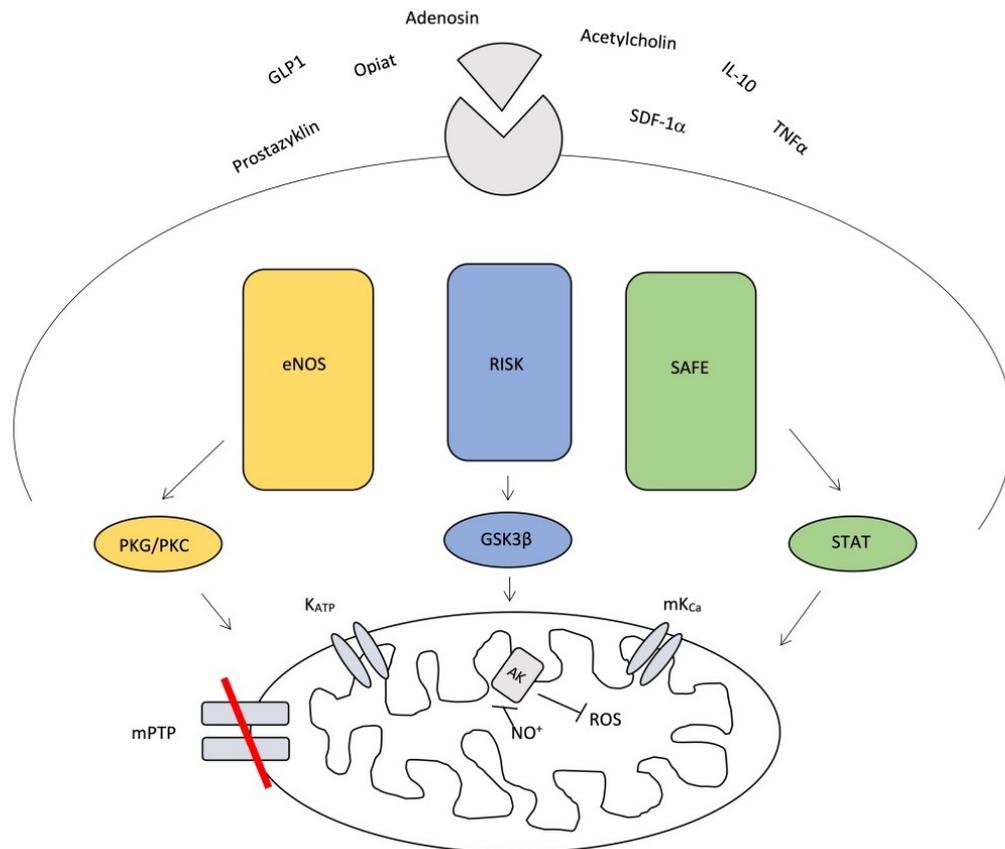
Neben ischämischen Reizen kann eine Kardioprotektion auch durch pharmakologische Stimuli induziert werden: Beispielsweise konnte ein kardioprotektiver Effekt durch eine Präkonditionierung mit Inhalationsanästhetika nachgewiesen werden (Sevofluran (56,57), Isofluran (58), Desfluran (59)). Daneben führt auch eine pharmakologische Aktivierung von myokardialen Adenosin- (60), Opioid- (61,62),  $\alpha$ -adrenergen- (63), muskarinischen- (64), oder Bradykininrezeptoren (65) zu einer Präkonditionierung.

Die genaue Signaltransduktion der myokardialen Präkonditionierung ist nach wie vor nicht vollständig geklärt. Der kardioprotektive Stimulus aktiviert über Mediatoren (z.B. Opiate, Adenosin, Bradykinin, Peptide, Acetylcholin) rezeptorvermittelt, meist über G-Protein gekoppelte Rezeptoren, oder rezeptorunvermittelt verschiedene Signalwege, die untereinander in komplexem Zusammenhang stehen. Hauptsächlich werden drei Signalwege diskutiert:

1. *Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)*-Signalweg: Eine Phosphorylierung aktiviert die Proteinkinase B (AKT) und die extrazellulär regulierte Kinase (ERK1/2), diese können die Glykogensynthase-Kinase-3  $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) phosphorylieren. Phosphoryliertes GSK3 $\beta$  ist inaktiv und verzögert die Öffnung der mPTP (66,67).
2. *Survivor Activating Factor Enhancement (SAFE)*-Signalweg: Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) aktiviert die Januskinase (JAK), die wiederum verschiedene Isoformen des *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT) durch Phosphorylierung aktiviert. STAT ist ein weiterer wichtiger Mediator der kardioprotektiven Effekte (68,69).
3. *Stickstoffmonoxid/Proteinkinase G-/Endothelial Nitric Oxide Synthase/Proteinkinase G (eNOS/PKG)*-Signalweg: Die aktivierte endotheliale NO-Synthase (eNOS) steigert die NO-Bildung. Dies wiederum führt zu einer Aktivierung der Proteinkinasen G und C (70).

Den Endeffektor stellt vermutlich das Mitochondrium bzw. die Regulation seiner Funktion dar. Über eine Modulation der Öffnung der mPTP bleibt die Integrität der Mitochondrienmembran und damit die Möglichkeit der aeroben Energiegewinnung

erhalten, sodass die Einleitung eines Zelluntergangs verzögert wird (71,72). Eine vereinfachte Übersicht der Signalwege findet sich in Abbildung 2.



**Abb. 2: Signaltransduktion IPC:** Abbildung 2 zeigt eine vereinfachte Übersicht der intrazellulären Signalwege der IPC: Nach Aktivierung der drei Signalwege (eNOS/PKG; RISK; SAFE) durch verschiedene Mediatoren erfolgt eine Modulation verschiedener Bausteine der Kaskade meist durch Phosphorylierung. Ziel ist eine Regulation der mitochondrialen Funktion über eine verminderte Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP (mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Poren). Vermittler stellen hier u.a. die mitochondrialen ATP-abhängigen ( $K_{ATP}$ ) und calciumabhängigen Kaliumkanäle ( $mK_{Ca}$ ) dar. RISK (*Reperfusion Injury Salvage Kinase*); SAFE (*Survivor Activating Factor Enhancement*); eNOS/PKG (*Endothelial Nitric Oxide Synthase/Proteinkinase G*); *Glucagon like peptide-1* (GLP-1); Interleukin-10 (IL-10); *stromal cell-derived factor 1α* (SDF-1α); Hypoxie-induzierbarer Faktor 1α (HIF-1α), Tumornekrosefaktor α (TNFα); PKC (Proteinkinase C); Glykogen-Synthase-Kinase 3β (GSK3β); ROS (*Reactive oxygen species*). Modifiziert nach Heusch *et al.* 2015 und Hausenloy *et al.* 2016 (71,72).

Wesentliche Nachteile der IPC für den klinischen Alltag liegen in der hohen Invasivität, der erschwerten Umsetzbarkeit und in den damit für den Patienten einhergehenden

Risiken. Um eine direkte ischämische Präkonditionierung am Myokard durchführen zu können, ist ein invasiver Zugang zu den Koronarien oder der Aorta notwendig. Dies ist vor einer Ischämie lediglich bei einer elektiv durchgeführten Herzoperation oder perkutanen Koronarintervention (*percutaneous coronary intervention*; PCI) möglich. Eine Manipulation an den Gefäßen kann jedoch ein erneutes Ablösen arteriosklerotischer Plaques verursachen mit der Folge myokardialer Infarkte, Herzrhythmusstörungen oder Schlaganfällen. Aufgrund dessen gewann die ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC) immer mehr an Bedeutung (73).

### 1.3 Ischämische Fernpräkonditionierung

Unter der ischämischen Fernpräkonditionierung (*Remote Ischemic Preconditioning*; RIPC) versteht man die Induktion von mehreren kurzen und reversiblen Zyklen einer Ischämie, die invasiv oder nicht-invasiv an einem vom Zielorgan entfernten Organsystem oder einer Extremität ausgelöst wird. Dieser periphere Reiz führt zu einer höheren Toleranz des Zielorgans gegenüber einem nachfolgenden länger anhaltenden Sauerstoffmangel und in der Folge zu einem verringerten Ischämie- und Reperfusionsschaden.

Erstmalig konnten Przyklenk *et al.* 1993 den Effekt der ischämischen Fernpräkonditionierung an Hundeherzen *in vivo* nachweisen, wobei ein präkonditionierender Stimulus am *Ramus circumflexus* (RCX) mit anschließender Reperfusion zu einer signifikanten Verkleinerung der Infarktgröße im Versorgungsgebiet des *Ramus interventricularis anterior* (RIVA) führte. Die Arbeitsgruppe folgerte daraus, dass durch ischämische Konditionierung sowohl das direkt betroffene Gebiet, als auch andere Gewebe, die deutlich vom eigentlichen Ort des Konditionierungsreizes entfernt waren, geschützt werden können (74).

Es folgten tierexperimentelle Studien zu Ort (z.B. Mesenterial- und Nierenarterie (75)), Art und Umfang des konditionierenden Stimulus. Kharbanda *et al.* untersuchten erstmals die RIPC in Form einer Inflation und Deflation (Ischämie/Reperfusion) eines Extremitäten-Tourniquets (Blutdruckmanschette) als nicht invasive Technik. Sie wiesen in einem *in vivo* Modell am Schwein eine Kardioprotektion nach, die durch kurzzeitige Ischämien eines Hinterlaufs mittels Manschette induziert wurde (76). Diese Methodik fand auch in klinischen Studien Anwendung (77,78). Yellon *et al.* führten eine

ischämische Präkonditionierung mittels einer Blutdruckmanschette am Oberarm von Patienten vor einer koronaren Bypass-Operation oder einer perkutanen koronaren Intervention durch. Hierdurch konnte eine signifikante Infarktgrößenreduktion, gemessen an der Troponin I-Freisetzung, bei diesen Patienten erzielt werden (79). Ebenso konnten Candilio *et al.* bei 108 Patienten einen geringeren Troponinanstieg bei Bypassoperationen nach RIPC, durchgeführt mit Hilfe einer Blutdruckmanschette, nachweisen (80). Thielmann *et al.* konnten bei 329 herzchirurgischen Patienten einen kardioprotektiven Effekt im Sinne einer signifikant reduzierten perioperativen Troponinfreisetzung und einer geringeren Einjahresmortalität in der RIPC-Gruppe nachweisen (81). Die Studienlage im klinischen Setting ist jedoch nicht eindeutig. In diesem Zusammenhang sind vor allem die groß angelegten Multicenterstudien RIPHeart (82) und ERICCA (83) mit je über 1000 herzchirurgischen Patienten zu nennen. Beide Studien konnten keinen positiven Einfluss von RIPC auf die genannten Endpunkte (Tod, Schlaganfall, postoperatives Nierenversagen und perioperativer Myokardinfarkt) zeigen (82,83). Folglich stellt sich die Frage, wie sich die unterschiedlichen Resultate zwischen klinischen und tierexperimentiellen Studien erklären lassen und welche möglichen Störfaktoren eine Rolle spielen. Als eine Einflussgröße auf die Kardioprotektion durch RIPC wird das Narkosemittel Propofol diskutiert, das bei beiden Studien primär als Anästhetikum eingesetzt wurde. In klinischen Studien, die einen positiven Effekt von RIPC belegten, wurde häufig Isofluran (78,84) oder Sevofluran (85) verwendet.

Die genauen Übertragungswege der RIPC vom Ort des auslösenden Reizes hin zum Zielorgan sind noch nicht abschließend geklärt, jedoch werden als Übertragungswege dieses Stimulus zum Effektororgan neuronale Wege und humorale Faktoren diskutiert (71,86,87). Hinweise darauf konnten unter anderem Donato *et al.* liefern, die tierexperimentell zeigten, dass eine Vagotomie die positiven Effekte der RIPC aufhebt (88). Daneben scheint die Sekretion humoraler Faktoren ein wichtiger Bestandteil der Signaltransduktion zu sein. In mehreren Studien konnte durch die Übertragung von menschlichem oder Ratten-Plasma nach RIPC-Stimulus auf ein isoliertes Rattenherz eine signifikante Reduktion der Infarktgröße nach I/R-Schaden induziert werden (89–91). Diese Ergebnisse unterstreichen die Annahme, dass neben dem neuronalen Weg auch humorale Faktoren bei der Vermittlung protektiver Effekte am Herzen beteiligt sind.

## **1.4 Anästhetika**

### **1.4.1 Pentobarbital**

Pentobarbital ist ein synthetisches Derivat der Barbitursäure und gehört zur Gruppe der Barbiturate. Ihre Wirkung entfalten Barbiturate in der *Formatio reticularis* über eine Bindung an die  $\beta$ -Untereinheit des  $\gamma$ -Aminobuttersäure-A-Rezeptors (GABA-A-Rezeptor). Durch eine Konformitätsänderung des Rezeptors kommt es zu einer Erhöhung der Öffnungszeit des Chloridkanals mit anschließend gesteigertem Einstrom von Chloridionen und einer stärkeren Hyperpolarisation der Zelle, sodass diese schwerer erregbar ist. Es kommt also durch eine Reduktion der neuronalen Erregbarkeit zu einer Potenzierung der inhibierenden Wirkung des Neurotransmitters GABA (92).

Angewendet wurde Pentobarbital nach seiner Patentierung 1916 durch die Firma Bayer in der Humanmedizin als Schlafmittel. Aufgrund seines hohen psychischen und physischen Suchtpotentials, der ausgeprägten Atemdepression und der Gefahr eines Entzugssyndroms mit epileptischen Anfällen ist es jedoch nicht mehr im humanmedizinischen Handel (92). Einsatz findet Pentobarbital heute noch in der Tiermedizin zur schmerzlosen Einschläferung von Tieren (93). Darüber hinaus wird es im Bereich tierexperimenteller Versuche häufig zur Narkoseinduktion verwendet. Pentobarbital bietet hier einige Vorteile: Es besteht die Möglichkeit das Medikament intraperitoneal zu applizieren, es hat nur wenig kardiodepressive Eigenschaften und bei adäquater Dosierung werden chirurgische Maßnahmen über einen Zeitraum von ca. einer Stunde toleriert. Vor allem aufgrund seiner hämodynamischen Stabilität wird es in vielen Studien verwendet, um einen möglichen Einfluss des Narkotikums auf die Ergebnisse ausschließen zu können (94).

### **1.4.2 Sevofluran**

Sevofluran ist ein seit 1995 in Deutschland zur Narkoseinduktion und – aufrechterhaltung bzw. Sedierung zugelassenes Inhalationsanästhetikum. Es handelt sich um einen siebenfach fluorierten Methylisopropylether, der bei Raumtemperatur flüssig vorliegt und durch einen Vapor in den dampfförmigen Zustand übergeht. Das Gas wird über die Lunge aufgenommen und wieder abgegeben. Neben der pulmonalen

Elimination wird Sevofluran zu 3-5 % hepatisch metabolisiert. Die minimale alveoläre Hemmkonzentration bei Erwachsenen liegt bei 2,05 Vol.-%. Eine besondere Eigenschaft von Sevofluran ist seine gute Steuerbarkeit. Ein niedriger Blut-/Gas- (0,65) und Gewebe-/Blut- (1,7) Verteilungskoeffizient erlauben ein schnelles An- und Abfluten des Gases in der Lunge und im Gehirn. Neben Desfluran besitzen Lachgas und Xenon einen noch geringeren Blut-/Gas-Verteilungskoeffizienten, diese spielen im klinischen Alltag jedoch kaum eine Rolle (19,92). Die Wirkungsweise der Inhalationsanästhetika ist noch nicht abschließend geklärt, mittlerweile geht man von einem multimodalen Ansatz aus. Neben der Veränderung von Membraneigenschaften der Zelle (Lipidtheorie) spielen die Verstärkung des inhibitorisch wirkenden Neurotransmitter GABA und die Abschwächung des exzitatorisch wirkenden Neurotransmitters N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) mutmaßlich über die Aktivitätsänderung von Ionenkanälen eine Rolle (95,96).

Die modernen Inhalationsanästhetika sind nebenwirkungsarm. Äußerst selten können sie eine maligne Hyperthermie triggern. Die Gefahr der Hepatotoxizität scheint vernachlässigbar zu sein, da Sevofluran nicht den Perfusionsdruck und somit die Durchblutung der Leber senkt und das bei der hepatischen Metabolisierung entstehende Hexafluorisopropanol im Gegensatz zu Trifluoressigsäure (Abbauprodukt von Isofluran, Enfluran und Halothan) nicht hepatotoxisch wirkt. Eine mögliche Nephrotoxizität wurde durch die bei der Biotransformation freigesetzten freien Fluoridionen und durch unter Umständen im Absorber des Beatmungsgeräts entstehenden Compound A diskutiert. Die im Tierversuch an der Ratte gemessene nierenschädigende Konzentration wird jedoch beim Menschen im klinischen Alltag nie erreicht (19).

Je nach Höhe der Dosis kommt es unter Verwendung von Sevofluran durch eine generalisierte Vasodilatation zu einem Abfall des Blutdrucks. Die kardialen Nebenwirkungen sind jedoch insgesamt eher gering ausgeprägt.

### **1.4.3 Propofol**

Propofol (2,6 Diisopropylphenol) liegt wegen seiner Wasserunlöslichkeit in einer ein- oder zweiprozentigen Lipid-Wasser-Emulsion als Trägersubstanz vor und ist ein intravenös zu verabreichendes Anästhetikum, das je nach Höhe der Dosis zur Sedierung oder Narkoseeinleitung genutzt wird. In Kombination mit einem Opiat (meist

Remifentanyl) kann es auch kontinuierlich zur Aufrechterhaltung einer total intravenösen Anästhesie (TIVA) verwendet werden. Propofol entfaltet seine Wirkung über eine Verstärkung der inhibitorischen Effekte des Neurotransmitters GABA und durch die Hemmung der Freisetzung des exzitatorischen Transmitters Glutamat.

Die Wirkung tritt aufgrund seiner stark lipophilen Eigenschaften schnell ein, die Verstoffwechslung erfolgt hepatisch und die Ausscheidung zum größten Teil über die Niere. Auch unter Dauerinfusion nimmt die kontextsensitive Halbwertszeit nur langsam zu.

Mögliche Nebenwirkungen sind Bradykardien, Atemdepression, Myoklonien, Injektionsschmerz und selten Krampfanfälle. Propofol wirkt eher antikonvulsiv über einen verminderten zerebralen Sauerstoffverbrauch. Das Propofol-Infusionssyndrom ist eine seltene Störung des mitochondrialen Stoffwechsels mit hoher Letalität, die bei kontinuierlicher Verabreichung auftreten kann (19).

Propofol wirkt zudem stark kardiodepressiv: Je nach Dosis und Injektionsgeschwindigkeit kommt es durch seine negativ inotrope Wirkung und eine generalisierte Vasodilatation regelhaft zu einem deutlichen Abfall des Blutdrucks (25-40%) im Vergleich zum Ausgangswert und einer Abnahme des Herzzeitvolumens vor allem bei älteren Patienten (97,98).

In den Fokus der Forschung rückte der Effekt von Propofol auf die Kardioprotektion. Eine negative Beeinflussung der kardioprotektiven Effekte durch RIPC unter Propofolnarkose im Gegensatz zu Isofluran konnten Kottenberg *et al.* in einer klinischen randomisiert kontrollierten Studie zeigen (84). Daneben wurde wie in Kapitel 1.2 beschrieben in der RIPHeart- und ERICCA- Studie meist Propofol als Anästhetikum verwendet (82,83). In einer monozentrischen Studie von Coverdale *et al.* an über 400 herzchirurgischen Patienten konnte ebenfalls kein kardioprotektiver Effekt durch RIPC nachgewiesen werden, auch hier gab es kein standardisiertes Anästhesieprotokoll (99). Auch eigene Daten zeigten eine Aufhebung der Kardioprotektion durch RIPC während einer Anästhesie mit Propofol (100).

#### 1.4.4 Remifentanyl

Remifentanyl ist ein synthetisches Opioid, das hauptsächlich agonistisch am  $\mu$ -Opiodrezeptor (auch Morphin-Opioid-Rezeptor, MOR) wirkt und eine etwa hundert- bis zweihundertfache analgetische Potenz von Morphin aufweist. Über den MOR wird eine starke Analgesie auf supraspinaler und spinaler Ebene sowie eine starke Atemdepression vermittelt. Weitere Effekte sind Miosis, Euphorie, Entwicklung von Toleranz und starker Abhängigkeit sowie Juckreiz, Bradykardie, Obstipation und Übelkeit. Remifentanyl ist zur intravenösen Applikation zugelassen und dient als Analgetikum zur Einleitung und Aufrechterhaltung einer Narkose oder als Analgetikum im Rahmen einer Sedierung bei beatmeten Intensivpatienten (92). Es zeichnet sich durch einen schnellen Wirkeintritt nach ca. 1,5 Minuten und eine sehr kurze Wirkdauer aus. Aufgrund seiner kurzen kontextsensitiven Halbwertszeit von drei bis vier Minuten akkumuliert Remifentanyl kaum und bietet somit eine sehr gute Steuerbarkeit. Dies liegt darin begründet, dass im Gegensatz zu anderen klinisch eingesetzten Opioiden Remifentanyl eine Esterstruktur aufweist und zu etwa 98 % durch unspezifische Plasma- und Gewebeesterasen, unabhängig von Pseudocholinesteraseaktivität und Organfunktion, abgebaut wird. Dosisanpassungen bei Organinsuffizienzen sind somit nicht erforderlich (19,92).

Remifentanyl ist wenig fettlöslich und liegt nach intravenöser Gabe zu 98 % an Plasmaproteine gebunden vor. Die Ausscheidung des inaktiven Hauptmetaboliten erfolgt renal. Die Clearance ist alters-, gewichts- und geschlechtsunabhängig (101).

Neben den typischen Wirkungen und Nebenwirkungen reiner Agonisten treten substanzspezifische Nebenwirkungen, wie insbesondere zentrale Bradykardien und Hypotonien sowie Muskelrigidität, bei Bolusinjektion auf (19).

Endogene Opiode bzw. die Aktivierung der verschiedenen Opiodrezeptoren ( $\mu$ -/Morphin- Opioid-Rezeptor, MOR;  $\kappa$ -/ Kappa-Opioid-Rezeptor, KOR und  $\delta$ -Rezeptoren Delta-Opioid-Rezeptor, DOR) spielen eine wichtige Rolle bei der Beantwortung von verschiedensten Stressreizen (emotional, physikalisch, metabolisch) und der Vermittlung etwaiger Schutzmechanismen (61). Schultz *et al.* wiesen 1995 erstmals am Rattenherz nach, dass der protektive Effekt einer IPC durch die Gabe des Opioid-Antagonisten Naloxon wieder aufgehoben wird (102). Tomai *et al.* zeigten, dass dies auch für das menschliche Myokard gilt. In einer klinischen Studie konnten sie zeigen,

dass im Rahmen einer Koronarintervention die Kardioprotektion, induziert durch wiederholte Inflation des Ballons, durch eine intravenöse Naloxon-Gabe im Vergleich zur Placebogruppe signifikant reduziert wurde (103).

Diese Ergebnisse legen nahe, dass Opioidrezeptoren bzw. die nachgeschaltete Signalkaskade eine wichtige Funktion bei der Wirkvermittlung der IPC haben.

Zu der Erkenntnis, dass nicht nur ein ischämischer Reiz, sondern die Gabe eines Opiats im Sinne einer pharmakologischen Präkonditionierung zu einer Kardioprotektion führt, gelangten Schultz *et al.* 1996. Die Arbeitsgruppe konnte am Rattenherz eine signifikante Infarktgrößenreduktion nach Morphingabe nachweisen (104). Weitere tierexperimentelle Studien konnten den opioid-induzierten (für Morphin, Fentanyl, Remifentanyl, Sufentanyl) kardioprotektiven Effekt im Sinne einer Infarktgrößenreduktion, einer verbesserten Kontraktilität oder einer verringerten Anzahl an Arrhythmien nachweisen (61). In einer klinischen Studie zeigten Xu *et al.* und Wong *et al.*, dass eine Präkonditionierung mit Remifentanyl kardiale Marker bei Patienten, die sich einer Bypassoperation unterzogen, reduziert (105,106). Zusammengefasst scheint es, dass Remifentanyl kardioprotektive Eigenschaften hat oder diese zumindest nicht negativ beeinflusst.

## 1.5 Zielsetzung der Arbeit

Ziel der Arbeit ist die Untersuchung der Frage, ob der kardioprotektive Effekt durch IPC durch die Wahl des Anästhesieverfahrens beeinflusst wird. Wir untersuchten klinisch gebräuchliche Anästhetika. Insbesondere soll der Fokus auf die Fragestellung gelegt werden, ob der positive Effekt von IPC durch die Verwendung von Propofol aufgehoben wird. Dabei sollen andere mögliche Einflussfaktoren, wie beispielsweise Alter, Geschlecht, Vorerkrankungen oder Vormedikation, ausgeschlossen werden.

Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurde das folgende Versuchsmodell gewählt:

36 junge, männliche Wistar-Ratten wurden in einem *in vivo* Modell in sechs Gruppen randomisiert. Die Gruppen unterschieden sich in der Art des Anästhesieregimes (Pentobarbital, Sevofluran oder Propofol, die beiden letzteren mit Remifentanyl kombiniert) und der Durchführung einer Intervention im Sinne einer IPC. Diese wurde durch dreimaliges kurzzeitiges Zusammenziehen einer Ligatur um den *Ramus interventricularis anterior* mit anschließender Reperfusion initiiert. Danach durchliefen

alle Versuchstiere eine Indexischämie mit Reperfusion. Die Darstellung des Risikogebietes und des Infarktareals erfolgte mit Hilfe einer Langendorff-Apparatur und der Anfärbung mit *Evans-Blue* bzw. Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). Die Bereiche wurden durch einen verblindeten Untersucher planimetrisch erfasst und die Infarktgröße in Prozent des Risikogebiets angegeben.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Material**

#### **2.1.1 Tierversuchsgenehmigung**

Die der Studie zugrunde liegenden Versuche wurden gemäß des Tierversuchsantrags in einem *in vivo* Modell an männlichen Wistar-Ratten durchgeführt. Die Versuche erfolgten nach dem Leitfaden der „*Guide for the care and use of Laboratory Animals*“, herausgegeben durch das *National Institute of Health* (Publikationsnummer 85-23, revidiert 1996).

Die benötigte Genehmigung für Versuche an Wirbeltieren gemäß § 8 Abs. 1 TierSchG i.V.m. § 33 TierSchVersV durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (LANUV) NRW liegt vor (Aktenzeichen: 84-02.04.2013A279).

#### **2.1.2 Versuchstiere**

Im Rahmen der Studie wurden insgesamt 36 männliche, gesunde Wistar-Ratten im Alter von zwei bis drei Monaten und einem Gewicht von 250 bis 300g verwendet. Die Tiere wurden bis zur Durchführung der Experimente in der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben Düsseldorf (ZETT, Leiter: Prof. Dr. Sager) in Kleintierkäfigen mit maximal vier Tieren und einem 12-Stunden Tag-Nacht-Rhythmus untergebracht. Alle Tiere durchliefen vor Beginn der Studie zunächst eine mindestens achttägige Akklimatisierungszeit. Sie erhielten Alleinfuttermittel für Mäuse-Zucht (sniff Spezialdiäten GmbH, Soest Deutschland) und keimfreies, angesäuertes Wasser (pH 2,6-3,0) *ad libitum*.

#### **2.1.3 Verwendete Materialien/Laborgeräte/Software**

Im Folgenden sind die im Rahmen der Studie verwendeten Medikamente, Materialien, Laborgeräte und Software tabellarisch aufgeführt. Sofern nicht anders aufgelistet, wurden alle Materialien von den Firmen Abcam plc. (Cambridge, UK), Linde AG (München, Deutschland), Merck Eurolab GmbH (Darmstadt, Deutschland), Carl Roth GmbH und Co.KG (Karlsruhe, Deutschland), Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Taufkirchen, Deutschland) und der zentralen Apotheke der Universitätsklinik Düsseldorf erworben.

**Tabelle 1: Übersicht über Material/Laborgeräte/Software**

<b>Pentobarbital (Narcoren®)</b>	16g/100 ml, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland
<b>Propofol 1%</b>	10 mg/1ml, MCT Fresenius Kabi, Homburg, Deutschland
<b>Sevofluran</b>	Abbott Laboratories, North Chicago, USA
<b>Evans Blue Färbelösung</b>	1g <i>Evans Blue</i> , 5g Dextran, NaCl 0,9% ad 500 ml Aqua des.
<b>Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)</b>	Fa. Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
<b>TTC Färbelösung</b>	200 ml NaCl 0,9%, 1,5g TTC, 2,42g Trishydroxymethylaminomethan (Tris-Puffer)
<b>Beatmungsgerät</b>	Servo Ventilator 900C, Siemens-Elema AB, Solna, Schweden
<b>Blutgasanalysegerät</b>	ABL 700, Fa Radiometer, Willich, Deutschland
<b>Monitor</b>	Capnomac Ultima, Datex™, Finnland
<b>Planimetriesoftware</b>	SigmaScan Pro5® für Windows, SPSS Science Software, San Jose/CA, USA
<b>Statistiksoftware</b>	GraphPad StatMate™ Version 1.01, GraphPad software Inc., San Diego/CA, USA
<b>Aufzeichnungssoftware</b>	LabChart© Pro Version 8.0.5 ADInstruments Pty Ltd, Sydney/NSW, Australia

Tabelle 1 zeigt die verwendeten Medikamente, Materialien, Geräte und Software unter Angabe des Herstellers und der Zusammensetzung der Lösungen.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Chirurgisches Vorgehen – *in vivo*

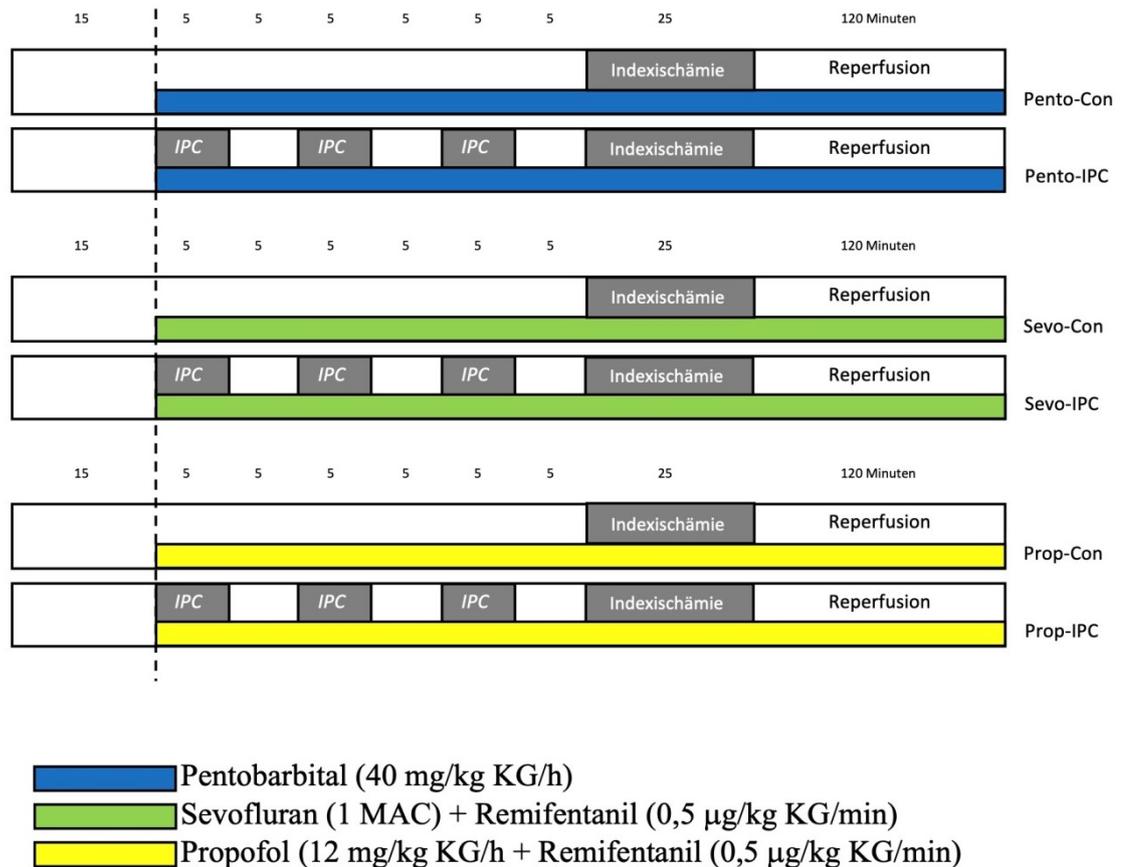
Der gewählte Versuchsaufbau ist in der Arbeitsgruppe etabliert und wurde in verschiedenen Studien zur Ischämischen (Fern-)Präkonditionierung erfolgreich umgesetzt. Insgesamt wurden 36 männliche, junge Wistar-Ratten verwendet. Zunächst erfolgte die Narkoseinduktion aller Versuchstiere mittels einer intraperitonealen Applikation von Pentobarbital in einer Dosierung von 80 mg/kg KG. Die Tiere wurden endotracheal intubiert und über den gesamten Versuch druckkontrolliert mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration von 30% und einer Stickstoffkonzentration von 70% beatmet. Zur weiteren Etablierung des hämodynamischen Monitorings und der chirurgischen Präparation wurden die Ratten in Rückenlage auf einer Wärmeplatte fixiert. Zur kontinuierlichen hämodynamischen Überwachung und Aufzeichnung wurde mit einer Venenverweilkanüle (24 Gauge) die linke *Arteria carotis communis* punktiert und so eine invasive Blutdruckmessung etabliert. Die Überprüfung einer ausreichenden Oxygenierung, Decarboxylierung und eines ausgeglichenen Säure-Base-Haushalts erfolgte durch regelmäßige Blutgasanalysen. Zur kontinuierlichen Applikation von Flüssigkeit (isotone Kochsalzlösung) und intravenöser Anästhetika (Pentobarbital, Propofol, Remifentanyl) wurde zudem bei allen Versuchstieren die rechte *Vena jugularis interna* ebenfalls mit einer Venenverweilkanüle (24 Gauge) kanüliert (107,108).

Nach Narkoseeinleitung und Etablierung der für den Eingriff benötigten Katheter wurde eine linkslaterale Thorakotomie durchgeführt, das Perikard eröffnet, das Herz dargestellt und der *Ramus interventricularis anterior* (RIVA) stumpf präpariert. Dieser wurde als Vorbereitung für die spätere Induktion der Ischämie mit einer Ligatur (5-0 Prolene, Ethicon, Somerville, NJ) umstochen, aber noch nicht verschlossen (107,108). Alle Versuchstiere durchliefen dieses chirurgische Prozedere unabhängig von ihrer späteren Zuordnung in das Versuchsprotokoll.

### 2.2.2 Versuchsprotokoll

Alle 36 Versuchstiere wurden in sechs Versuchsgruppen mit je sechs Ratten randomisiert. Eine Übersicht über das experimentelle Protokoll findet sich in Abbildung 3. Die Gruppen unterschieden sich in der Art der Fortführung der Anästhesie und der

Durchführung einer ischämischen Präkonditionierung (IPC). Alle Tiere durchliefen nach der chirurgischen Vorbereitung eine Ruhephase von 15 Minuten. Je nach Versuchsgruppe erhielten die Tiere während des gesamten Versuchs eine kontinuierliche Mono-Anästhesie mit Pentobarbital in einer Dosierung von 40 mg/kg KG/h, eine balancierte Anästhesie mit Sevofluran (Minimale Alveoläre Hemmkonzentration (MAC) von 1) und Remifentanil zur Analgesie in der Dosierung von 0,5 µg/kg KG/min oder eine total intravenöse Anästhesie (TIVA) mit Propofol in einer Dosierung von 12 mg/kg KG/h ebenfalls kombiniert mit Remifentanil (0,5 µg/kg KG/min). Dementsprechend ergaben sich drei Kontrollgruppen (Pento-Con, Sevo-Con, Prop-Con), die neben einer 25-minütigen regionalen Indexischämie und 120 Minuten Reperfusion mit kontinuierlicher Anästhesie keine weitere Behandlung erfuhren, und drei Interventionsgruppen (Pento-IPC, Sevo-IPC, Prop-IPC). In diesen drei IPC-Gruppen wurden zusätzlich zu der Indexischämie und Reperfusion zuvor jeweils drei Zyklen eines standardisierten Protokolls der ischämischen Präkonditionierung durchgeführt. Um die Versuchstiere der Interventionsgruppen kurzzeitigen Ischämien auszusetzen, wurde der RIVA über jeweils fünf Minuten mit der vorgelegten Ligatur (s. Kapitel 2.2.1) zusammengezogen und damit verschlossen. Diese einzelnen IPC-Zyklen wurden jeweils durch fünfminütige Phasen der Reperfusion unterbrochen, indem die Ligatur des RIVA erneut geöffnet wurde. Im Anschluss an die drei Zyklen IPC erfolgte eine letzte fünfminütige Reperfusion bevor alle Versuchstiere – die der Kontroll- und Interventionsgruppen – einer endgültigen myokardialen Indexischämie ausgesetzt wurden. Für die Induktion der Indexischämie wurde bei allen Tieren die Ligatur um den RIVA für 25 Minuten zugezogen, um eine Durchblutung des betreffenden Areals zu unterbrechen. Durch Lösen der Ligatur wurde die 120-minütige Reperfusion eingeleitet. Während der Durchführung des Protokolls wurde bei allen Tieren die Herzfrequenz und der mittlere aortale Druck kontinuierlich gemessen und zu definierten Zeitpunkten (Ausgangswert, drei Minuten nach *washout*, bei 20 Minuten Ischämiezeit und bei Minute 30 und 120 der Reperfusion) erfasst. Um die Infarktgröße untersuchen und bestimmen zu können, wurden bei allen Versuchstieren nach Beendigung des Versuchsprotokolls die Herzen entnommen (107).



**Abb. 3: Versuchsprotokoll:** Abbildung 3 zeigt den Versuchsaufbau der Interventions- und der Kontrollgruppen. Nach einer 15 minütigen Adaptierungsperiode erhielten die Tiere der IPC-Gruppen (Interventionsgruppen) drei Zyklen einer fünfminütigen ischämischen Präkonditionierung durch Verschluss des RIVA (*Ramus interventricularis anterior*), gefolgt von einer jeweils fünfminütigen Reperfusionphase. Anschließend durchliefen alle Gruppen eine Indexischämie induziert mittels eines 25-minütigen Verschluss des RIVA, gefolgt von einer 120-minütigen Reperfusion. Kontrolle (Con); Ischämische Präkonditionierung (IPC); Pentobarbital (Pento); Sevofluran (Sevo); Propofol (Prop). Modifiziert nach Bunte *et al.* (2019) (107).

### 2.2.3 Bestimmung des Infarktareals

Die Infarktgröße wurde in Prozent des entsprechenden Risikogebiets angegeben. Im Falle unseres Studienprotokolls liegt das Risikogebiet und damit das potenzielle Infarktareal im Versorgungsgebiet des *Ramus interventricularis anterior* (RIVA) im Bereich des linken Ventrikels. Um die Infarktgröße berechnen zu können, wurde zunächst das Risiko- bzw. Versorgungsgebiet mittels *Evans-Blue* Färbung dargestellt und im Anschluss das tatsächliche Infarktareal mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Lösung eingefärbt. Hierzu wurden die entnommenen, isolierten Herzen an einen

modifizierten Langendorff-Apparat überführt. Zunächst wurde das Herz über die Aortenwurzel mittels einer kalten Kochsalzlösung durchspült, um mit einem konstanten Perfusionsdruck von 80 mmHg das verbliebene intravasale Blut vor der Färbung zu entfernen. Danach wurde der für die Indexischämie ligierte RIVA nochmals verschlossen und das Herz für zehn Minuten mit 0,2-prozentiger *Evans-Blue* Färbung gelöst in Kochsalz gespült. Zur Entfernung von überschüssiger Färbelösung wurde das Herz danach erneut mit Kochsalz perfundiert. Das Risikogebiet bzw. das Versorgungsgebiet des RIVA zeigte sich nach diesem Färbeprogang ungefärbt, da durch den Verschluss der Arterie sichergestellt wurde, dass nur außerhalb des Versorgungsgebietes des RIVA liegende Areale mit *Evans-Blue* perfundiert und folglich koloriert wurden (107,108).

Um das Infarktareal darzustellen, wurden die Herzen eingefroren, transversal in acht 2 mm dicke Scheiben geschnitten und mit 0,75-prozentiger Triphenyltetrazoliumchlorid-(TTC) Lösung für zehn Minuten bei 37 °C und einem pH-Wert von 7,42 eingefärbt. Die Fixierung erfolgte mittels Formalin (107,108).

Bei TTC handelt es sich um einen wasserlöslichen, farblosen Redox-Indikator. Intakte, vitale Kardiomyozyten induzieren über zelleigene Dehydrogenasen eine Reduktion des zunächst farblosen TTC zu rotem Triphenylformazan. In avitalen Zellen ohne intakte Stoffwechselmechanismen hingegen wird der Farbstoff nicht enzymatisch reduziert. In der Folge zeigt sich vitales Myokard rötlich und infarzierte, nekrotische Areale präsentieren sich gräulich bis weiß (109). Zur Verdeutlichung zeigt Abbildung 4 exemplarisch einige angefärbte Herzscheiben.



**Abb. 4: Herzscheiben:** Abbildung 4 zeigt exemplarisch einige Herzscheiben nach Einfärbung mit 0,2-prozentiger *Evans-Blue* Färbung und 0,75-prozentiger Triphenyltetrazoliumchlorid- (TTC)-Lösung. Danach zeigt sich Gewebe außerhalb des RIVA-Stromgebiets bläulich. Innerhalb des RIVA-Stromgebiets (Risikogebiet) präsentiert sich vitales Gewebe rötlich und nekrotisches Myokard weiß bis gräulich. *RIVA* (*Ramus interventricularis anterior*).

Unter Verwendung des Programmes SigmaScan Pro5® (*SPSS Science Software, Chicago, IL, USA*) wurden das Risikogebiet und das Infarktareal planimetrisch ermittelt. Die Auswertung erfolgte durch einen verblindeten, nicht an den Versuchen beteiligten Untersucher. Die Infarktgrößen der verschiedenen Versuchsgruppen wurden als prozentualer Anteil des Infarktareals am Risikogebiet dargestellt (107).

#### **2.2.4 Statistische Auswertung**

Die Berechnung der für das Versuchsprotokoll notwendigen Gruppengröße und die statistische Analyse der Daten erfolgte mit dem Software Programm *Graph Pad StatMate™* Version 1.01 (*GraphPad Software, San Diego, CA, USA*). Die Fallzahlanalyse kalkulierte einen Stichprobenumfang von sechs Versuchstieren pro Gruppe, um eine Infarktgrößendifferenz von 25 % mit einer Wahrscheinlichkeit von 80 % und einem  $\alpha$ -Fehler  $< 0,05$  (zweiseitig getestet) zu erkennen. Die Infarktgrößen wurden durch einen für alle experimentellen Gruppen verblindeten Untersucher berechnet. Die Signifikanz der Infarktgröße wurde mittels einfaktorieller Varianzanalyse (*one-way analysis of variance* (ANOVA)) und anschließendem *Tukey post hoc* Test ermittelt. Um die hämodynamischen Parameter der Gruppen untereinander im Verlauf und innerhalb einer Gruppe zu unterschiedlichen Zeitpunkten vergleichen zu können, erfolgte eine multifaktorielle Varianzanalyse mit nachgeschaltetem *Tukey post hoc* Test. Die Ergebnisse der Infarktgrößen und der Hämodynamik sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen (*mean  $\pm$  SD*) dargestellt. Als statistisch signifikant wurden Ergebnisse mit p-Werten  $\leq 0,05$  gewertet (107).

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Infarktgröße

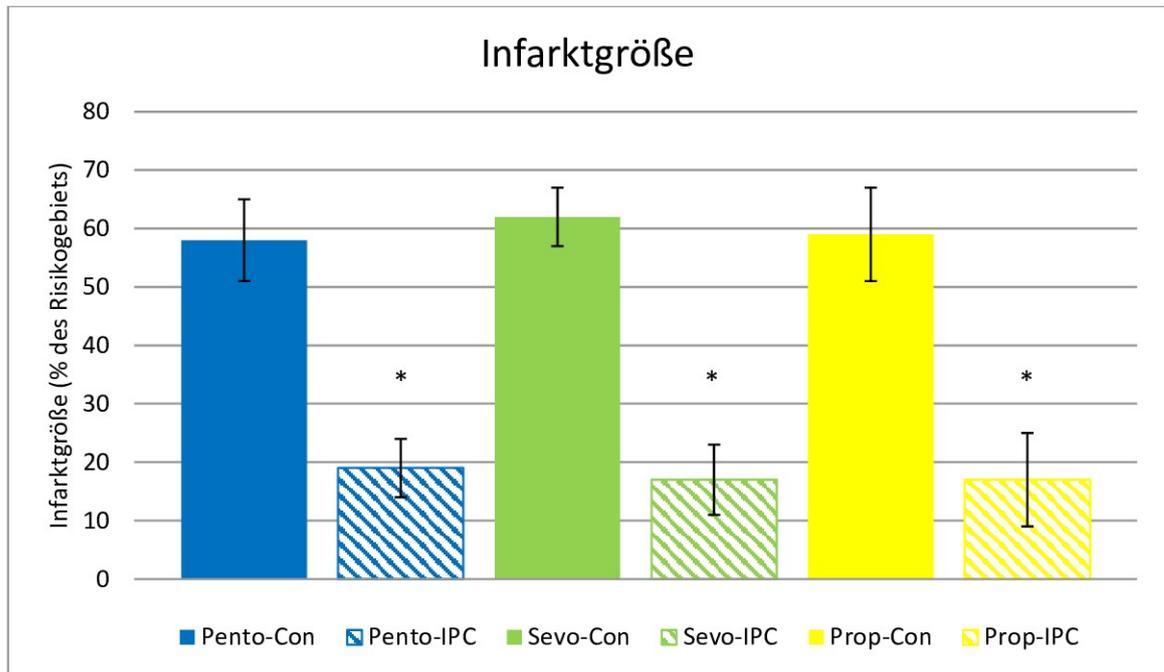
Die Infarktgröße stellt den primären Endpunkt der Studie dar. Die zur Bestimmung der Ergebnisse benötigten Daten wurden anhand aller 36 Versuchstiere mittels des bereits beschriebenen Versuchsprotokolls (s. Kapitel 2.2.2) erhoben. Eine graphische Darstellung der Infarktgröße in den sechs Versuchsgruppen findet sich in Abbildung 5. Die Infarktgröße wird als prozentualer Anteil des Infarktareals am Risikogebiet, in diesem Falle an dem Versorgungsgebiet des *Ramus interventricularis anterior* (RIVA), angegeben.

Die Größe des jeweiligen Risikogebiets zwischen den Versuchsgruppen unterschied sich nicht signifikant (Pento-Con  $28\pm 7\%$  vs. Pento-IPC  $27\pm 7\%$ , ns.; Sevo-Con  $33\pm 8\%$  vs. Sevo-IPC  $30\pm 11\%$ , ns.; Prop-Con  $31\pm 10\%$  vs. Prop-IPC  $26\pm 10\%$ , ns.) (107).

Bei allen drei Kontrollgruppen wurde durch die 25-minütige Indexischämie eine Infarzierung ausgelöst. So entstand in der mit Pentobarbital anästhesierten Kontrollgruppe (Pento-Con) eine Infarktgröße von  $58\pm 7\%$ , in der Sevo-Con Gruppe eine Infarktgröße von  $62\pm 5\%$  und in der Prop-Con Gruppe eine Infarktgröße von  $59\pm 8\%$ . Zwischen den Infarktgrößen der Kontrollgruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Der Vergleich der Kontrollgruppen untereinander zeigte, dass das verwendete Narkoseverfahren selbst keinen signifikanten Einfluss auf die Größe des Infarktareals hat.

Wurde vor der Indexischämie unter laufender Narkose mit Pentobarbital, Sevofluran mit Remifentanil oder Propofol mit Remifentanil eine ischämischen Präkonditionierung (IPC) durchgeführt, zeigte sich bei den Versuchstieren in allen drei Interventionsgruppen eine signifikante Reduktion der Infarktgröße verglichen mit der jeweiligen Kontrollgruppe. So verkleinerte sich in der Pento-IPC Gruppe die Infarktgröße nach IPC signifikant um 67 % auf  $19\pm 5\%$  ( $p < 0,0001$  vs. Pento-Con). Auch in der Sevo-IPC Gruppe wurde die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant um 72 % auf  $17\pm 6\%$  des Risikogebiets gesenkt ( $p < 0,0001$  vs. Sevo-Con). Ebenso fand sich in der Prop-IPC Gruppe eine signifikante Infarktgrößenreduktion von 71 % auf  $17\pm 8\%$  im Verhältnis zur Kontrollgruppe Propofol ( $p < 0,0001$  vs. Prop-Con). Der Vergleich der Interventionsgruppen untereinander zeigte zudem keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Infarktgrößenreduktion.

Folglich konnte in der Ratte *in vivo* gezeigt werden, dass die durch die ischämische Präkonditionierung induzierte Kardioprotektion nicht durch die verwendeten Anästhesieverfahren beeinflusst wird.



**Abb. 5: Infarktgröße:** Abbildung 5 zeigt die Infarktgröße als prozentualen Anteil am Risikogebiet. Dargestellt sind die Kontroll-(Con) und Interventionsgruppen (IPC). Bei allen Interventionsgruppen zeigte sich eine signifikante Reduktion der Infarktgröße im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe (\* $p < 0,0001$  vs. Con). Die Ergebnisse werden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Kontrolle (Con); Ischämische Präkonditionierung (IPC); Pentobarbital (Pento); Sevofluran (Sevo); Propofol (Prop). Modifiziert nach Bunte *et al.* (2019) (107).

### 3.2 Hämodynamische Parameter

Tabelle 2 zeigt die während des Versuchsprotokolls zu definierten Zeitpunkten erfassten Werte von Herzfrequenz und mittlerem aortalen Druck. Blutdruck und Herzfrequenz zeigten zu Beginn des Versuchs, während der Ischämie (nach 20 Minuten) und Reperfusion (nach 30 und 120 Minuten) keinen signifikanten Unterschied zwischen den Kontroll- und Interventionsgruppen. Bei den Tieren, die den Pentobarbital- und Propofolgruppen angehörten, kam es während der Reperfusion zu einem signifikanten Abfall des mittleren aortalen Blutdrucks verglichen zum Ausgangsblutdruck der jeweiligen Gruppen ( $p < 0,05$  vs. Ausgangswert) (107).

**Tabelle 2: Hämodynamische Parameter**

	Ausgangswert	Washout 3	Ischämie	Reperfusion	
			20 min	30 min	120 min
Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )					
<b>Pento-Con</b>	395 ± 25	394 ± 38	380 ± 27	366 ± 37	353 ± 58
<b>Pento-IPC</b>	380 ± 24	398 ± 23	370 ± 25	363 ± 25	333 ± 41
<b>Sevo-Con</b>	365 ± 27	357 ± 81	377 ± 41	343 ± 45	349 ± 47
<b>Sevo-IPC</b>	351 ± 75	359 ± 69	373 ± 68	372 ± 63	381 ± 43
<b>Prop-Con</b>	416 ± 37	421 ± 36	424 ± 41	408 ± 23	396 ± 24
<b>Prop-IPC</b>	320 ± 119	371 ± 66	392 ± 22	361 ± 52	349 ± 57
Mittlerer aortaler Druck (mmHg)					
<b>Pento-Con</b>	108 ± 25	109 ± 14	98 ± 10	89 ± 13	78 ± 19*
<b>Pento-IPC</b>	111 ± 20	108 ± 18	101 ± 19	89 ± 8	79 ± 12*
<b>Sevo-Con</b>	97 ± 14	100 ± 13	95 ± 17	83 ± 17	89 ± 21
<b>Sevo-IPC</b>	115 ± 14	104 ± 20	193 ± 21	93 ± 23	89 ± 16
<b>Prop-Con</b>	138 ± 16	123 ± 23	114 ± 30	103 ± 13*	90 ± 20*
<b>Prop-IPC</b>	122 ± 30	121 ± 23	112 ± 18	101 ± 21	91 ± 22*

Tabelle 2 zeigt Werte des kontinuierlichen hämodynamischen Monitorings zu definierten Messpunkten. Blutdruck und Herzfrequenz zeigten im Vergleich zwischen den Versuchsgruppen keine Unterschiede. Lediglich in den Pentobarbital- und Propofol-Gruppen kam es während der Reperfusion zu einem signifikanten Abfall der Blutdrucks gegenüber dem Ausgangswert (\*p<0,05 vs. Ausgangswert). Die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Kontrolle (Con); Ischämische Präkonditionierung (IPC); Pentobarbital (Pento); Sevofluran (Sevo); Propofol (Prop). Modifiziert nach Bunte *et al.* (2019) (107).

## 4 Diskussion

Ischämische Herzerkrankungen stellen nicht nur in Europa, sondern auch weltweit die Haupttodesursache dar (110). Darüber hinaus nimmt aufgrund einer alternden Bevölkerung und steigender operativer und interventioneller Fallzahlen die Anzahl der kardialen Risikopatienten zu. Aufgrund dessen sind Strategien zur Kardioprotektion und Verbesserung des *outcome* der Patienten von großem Interesse und Gegenstand aktueller Forschung.

Die ischämische Kardioprotektion stellt hierbei den bisher stärksten kardioprotektiven Reiz zur Reduzierung der Infarktgröße und eines Ischämie- und Reperfusionsschadens nach einem Myokardinfarkt dar (36,50). Seit 1986 Murry *et al.* das Phänomen der IPC beschrieben haben sind vielfältige Anstrengungen unternommen worden, um diesen Mechanismus in das klinische Setting zu überführen. Als vielversprechend in diesem Zusammenhang stellten sich die ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC) (72) und pharmakologische Konditionierungsmaßnahmen (111) dar.

Dennoch fällt die Translation in die Klinik schwer, da sich die Ergebnisse klinischer Studien hinsichtlich der Wirksamkeit der RIPC als nicht eindeutig darstellen (s. Kapitel 1.3, 1.4.3). In mehreren kleineren klinischen Studien konnte ein positiver Effekt der RIPC nachgewiesen werden (77,81,112,113). Zwei große randomisiert kontrollierte Multicenterstudien an herzchirurgischen Patienten, RIPHeart- (82) und ERICCA-Studie (83), zeigten jedoch keinen positiven Einfluss hinsichtlich einer signifikanten Reduzierung der Endpunkte Tod, Schlaganfall, postoperatives Nierenversagen und perioperativer Myokardinfarkt (82,83). Als mögliche Einflussgrößen werden neben dem Alter, verschiedene Medikamente und Vorerkrankungen sowie die Wahl des Anästhetikums diskutiert. Bei näherer Betrachtung des Studiendesigns fällt auf, dass in der RIPHeart-Studie alle Patienten und in der ERICCA-Studie 90 % der Teilnehmer eine Narkose mit Propofol oder eine Kombination erhielten. Dies legt die Vermutung nahe, dass Propofol die positiven Effekte der Kardioprotektion durch RIPC beeinträchtigt oder aufhebt. Bereits 2012 konnten Kottenberg *et al.* reduzierte Troponinlevel bei mit RIPC behandelten herzchirurgischen Patienten nachweisen, sofern die Narkose mit Isofluran durchgeführt wurde, bei einer Anästhesie mit Propofol jedoch konnten die positiven Effekte nicht gezeigt werden (84).

Auch eigene Daten zeigten eine Aufhebung der Kardioprotektion durch RIPC während einer Anästhesie mit Propofol (100). Behmenburg *et al.* haben 2018 erstmalig unter Ausschluss anderer Störgrößen wie Alter, Vorerkrankungen oder Vormedikation an einem Modell an der Ratte *in vivo* den Einfluss verschiedener Anästhesieverfahren auf die Kardioprotektion durch RIPC untersucht. Hier wurde gezeigt, dass es unter einer Anästhesie mit Propofol zu keinem signifikanten Unterschied in der Infarktgröße zwischen Interventions- und Kontrollgruppe kommt, während bei einer Narkose mit Pentobarbital oder Sevofluran eine signifikante Infarktgrößenreduktion erzielt werden konnte. Ein Anästhesieregime mit Propofol scheint also die protektiven Effekte der RIPC aufzuheben (100).

Daten, die zeigen ob Propofol auch einen negativen Effekt auf die Kardioprotektion durch direkte ischämische Präkonditionierung hat, fehlten bis zum aktuellen Zeitpunkt.

#### **4.1 Beantwortung der Fragestellung**

Ziel der Arbeit war die Beantwortung der Frage, ob die kardioprotektiven Effekte der direkten IPC durch die Wahl verschiedener, klinisch gebräuchlicher Anästhesieregime, insbesondere durch die Verwendung von Propofol, beeinflusst werden.

Viele Studien zeigen widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der Kardioprotektion durch RIPC. Wie bereits dargelegt (s. Kapitel 4), wird als mögliche Störgröße in diesem Zusammenhang zunehmend das Anästhetikum Propofol diskutiert. Es sollte untersucht werden, ob die Wahl des Narkosemittels auch ein unabhängiger *confounder* der IPC ist, um so weitere Hinweise auf die Rolle des Narkosemittels zu gewinnen.

36 junge, männliche Wistar-Ratten wurden in sechs Gruppen randomisiert, die drei unterschiedliche Anästhesieregime und eine IPC vor einer Indexischämie erhielten. Im Anschluss wurden die Infarktgrößen der Interventionsgruppen mit denen der Kontrollgruppe desselben Anästhesieregimens und jeweils untereinander verglichen.

Anhand der Ergebnisse lässt sich die Fragestellung aus Kapitel 1.5 wie folgt beantworten:

Die IPC führt zu einer signifikanten Infarktgrößenreduktion in allen drei Anästhesieregimen. Die Infarktgrößen unterscheiden sich untereinander nicht

signifikant. Die Wahl des Anästhetikums, auch insbesondere die Verwendung von Propofol, beeinflusst die kardioprotektiven Effekte der IPC nicht.

## 4.2 Signaltransduktion der IPC

Die Ergebnisse dieser Arbeit verdeutlichen, dass Propofol im Gegensatz zur RIPC keinen Einfluss auf die kardioprotektiven Effekte von IPC hat. Um mögliche Gründe zu erkennen, müssen die der Kardioprotektion zugrunde liegenden Mechanismen der Signalauslösung, des Transports und die intrazelluläre Signaltransduktion untersucht werden. Die Signalwege der IPC sind im Einzelnen jedoch nicht abschließend erforscht.

Wie bereits in Kapitel 1.2 kurz beschrieben, werden durch den präkonditionierenden ischämischen Reiz verschiedene Mediatoren aktiviert oder freigesetzt, die wiederum eine Aktivierung der beiden Hauptsignalwege RISK und SAFE triggern (71,72). Diese können sowohl unabhängig voneinander ablaufen als auch über komplexe Querverbindungen miteinander in Zusammenhang stehen (114–116). Zielstruktur dieser Signalwege ist vermutlich das Mitochondrium. Über eine Aktivierung der oben genannten Signalwege kommt es zu einer geringeren Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP und daher zu einer reduzierten Schädigung des Mitochondriums und der Zelle (117,118).

Yellon und Hausenloy *et al.* haben erstmalig den RISK-Signalweg beschrieben (66,67): Unterschiedliche durch die IPC freigesetzte Liganden (z.B. Adenosin, Bradykinin) binden an G-Protein gekoppelte Rezeptoren an Myozyten und aktivieren diese. Dies wiederum führt zu einer erhöhten Aktivität der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K), die die Proteinkinase B (PKB oder AKT) und die extrazellulär regulierte Kinase 1 und 2 (ERK1/2) durch Phosphorylierung aktiviert. Die aktivierte AKT phosphoryliert wiederum Proteinkinase C (PKC), die endotheliale NO-Synthase (eNOS) und die Glykogensynthase-Kinase-3  $\beta$  (GSK3 $\beta$ ). Durch die Phosphorylierung wird GSK3 $\beta$  inhibiert und dadurch die Öffnung der mitochondrialen Permeabilitätspore (mPTP) verhindert (71,117,118).

Neben dem RISK-Signalweg identifizierten Lecour *et al.* den *Survivor Activating Factor Enhancement* (SAFE)-Signalweg (69,119). Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) aktiviert über die Bindung an den TNF $\alpha$ -Rezeptor die Januskinase (JAK), die durch Phosphorylierung je nach Spezies und Konditionierungsform unterschiedliche

Isoformen des *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT) triggert (71). Eine wesentliche Rolle spielen hier die STAT 3 (114,115,120) und bei der RIPC am Menschen die STAT 5 (121). Aktivierte STAT-Isomere regulieren den Gehalt an reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und die Aktivität von Transportkanälen sowie der mPTP (71).

Endeffektor der Kardioprotektion scheint das Mitochondrium zu sein (71,118,122–124). Der Erhalt der Integrität der mitochondrialen Zellmembran und damit der mitochondrialen Funktion durch eine Regulation der Öffnung der mPTP über oben beschriebene Signalwege ist dabei vermutlich essentiell. Andernfalls käme es durch eine prolongierte Öffnung der mPTP neben Schwellung und schließlich Ruptur des Mitochondriums zur Freisetzung proapoptotischer Faktoren (71,72). Darüber hinaus spielen mitochondriale ATP- und kalziumabhängige Kaliumkanäle ( $mK_{ATP}$ ,  $mK_{Ca}$ ) bei der Regulation des zellulären Energiestatus und der mitochondrialen Funktion eine wichtige Rolle (122,125,126). Durch die Aktivierung der Kanäle kommt es zur Öffnung und zu einem Kaliumeinstrom in die Mitochondrien. Die Reduzierung des Membranpotentials des Mitochondriums führt zu einer Abnahme des Kaliumeinstroms und letztlich zu einer Verringerung der Menge der freigesetzten ROS, wodurch die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP wiederum herabgesetzt wird (127). Entscheidend scheint hierbei u.a. die Menge an freigesetztem ROS zu sein: Während exzessive Mengen an ROS, induziert durch einen Ischämie- und Reperfusionsschaden, zu einem Zelluntergang führen, ist eine durch IPC freigesetzte kleinere Menge ROS beteiligt an der Vermittlung kardioprotektiver Effekte (118,122). Vermutlich kommt es durch eine Öffnung der  $mK_{Ca}$ -Kanäle über einen erhöhten Sauerstoffverbrauch des Mitochondriums zur Bildung kleinerer Mengen ROS. Diese triggern wiederum Signalwege, die während der Reperfusion eine Überladung der Zelle mit Kalzium und eine massive ROS-Bildung verhindern (128).

#### **4.2.1 Unterschiede zwischen IPC und RIPC**

Neben den zugrundeliegenden Mechanismen der IPC konnten in den letzten Jahren ebenfalls die Signalkaskaden der RIPC-vermittelten Kardioprotektion herausgearbeitet werden. Interessanterweise ähneln die intrazellulären Mechanismen der RIPC in hohem Maße der Signaltransduktion der IPC. Auch bei der RIPC sind der RISK und SAFE

*pathway* bei der Induktion kardioprotektiver Effekte hauptsächlich involviert (71,87,129). Auf Grundlage dieses Wissens stellt sich jedoch die Frage, wieso das Anästhesieverfahren (im speziellen die Gabe von Propofol) einen Einfluss auf RIPC, jedoch nicht auf IPC hat. Ein entscheidender Faktor scheint hier vermutlich die extrazelluläre Vermittlung und damit Aktivierung der intrazellulären Signalkaskaden zu sein. Während die IPC ein Verfahren darstellt, das unmittelbar am Myokard durchgeführt wird, erfolgt die RIPC – wie in Kapitel 1.3 beschrieben – in herzfernen Organen oder Geweben. Man geht davon aus, dass durch Phasen subletaler Ischämie und Reperfusion in diesen Geweben humorale Faktoren freigesetzt und dann, mittels noch nicht abschließend geklärter Mechanismen, zum Herzen transportiert werden. Neuronale und vaskuläre Wege scheinen eine zusätzliche Rolle bei der Vermittlung zu spielen (130). Unter anderem werden als humorale Faktoren Nitrit (131), *Glucagon like peptide-1* (GLP-1) (132), Adenosin (133), Opiate (134) und Acetylcholin (135) diskutiert. Diese aktivieren am Kardiomyozyten – meist über G-Protein gekoppelte Rezeptoren – die oben beschriebenen intrazellulären Signalkaskaden. Ein möglicher Erklärungsansatz der unterschiedlichen Einflüsse von Anästhesieverfahren auf IPC im Vergleich zu RIPC könnte in der Freisetzung und Vermittlung humoraler Faktoren liegen. Es ist vorstellbar, dass das gewählte Anästhesieverfahren, in diesem Fall Propofol, keinen Einfluss auf die Signalvermittlung am Myokard selbst hat, aber die Freisetzung oder den Transfer humoraler Faktoren im Rahmen von RIPC beeinflusst. Da IPC unmittelbar am Herzen wirkt und dort direkt entsprechende Botenstoffe (wie Adenosin oder Bradykinin) freisetzt, wird dieses Verfahren vermutlich nicht durch die Gabe von Anästhetika blockiert. Bunte *et al.* zeigten in einer *in vivo* Studie den Einfluss von verschiedenen Anästhesieverfahren auf RIPC in der Ratte (107): Ratten, die eine Propofol- oder Pentobarbitalnarkose erhielten, durchliefen ein RIPC-Protokoll. Anschließend erfolgte ein Transfer des Plasmas dieser Ratten auf *in vitro* Ratten-Herzen im Langendorff-Modell, die eine definierte Ischämie und Reperfusion durchliefen. In den mit Plasma der mit Pentobarbital narkotisierten RIPC-Ratten perfundierten Herzen konnte eine signifikante Infarktgrößenreduktion im Vergleich zu den Kontrollgruppen nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu konnte keine Infarktgrößenreduktion mit dem Plasma der mit Propofol narkotisierten RIPC-Ratten erzielt werden. Interessanterweise konnte aber in mit Propofol perfundierten Rattenherzen, die vor der Ischämiephase Plasma von Pentobarbital-RIPC-Ratten erhielten, auch eine signifikante Infarktgrößenreduktion nachgewiesen werden. Mit dieser Studie konnte folglich gezeigt

werden, dass die Wirkung von RIPC am Myokard selbst vermutlich nicht durch Propofol beeinflusst wird. Lediglich die Freisetzung oder der Transfer der humoralen Faktoren wird durch die Applikation von Propofol als Anästhetikum blockiert. Die erhaltenen kardioprotektiven Effekte der IPC, unabhängig von dem gewählten Anästhesieverfahren, könnten von entscheidendem Vorteil für eine Übertragung in klinische Studien sein. Insbesondere in Anbetracht dessen, dass Propofol weltweit das Standard-Injektionsanästhetikum darstellt, könnte man hier eine Überlegenheit von IPC gegenüber RIPC vermuten. Jedoch müssen im Rahmen einer möglichen Translation von IPC in das klinische Setting eine Vielzahl an potenziellen Risiken und weiteren Einflussfaktoren betrachtet werden (s. Kapitel 1.2).

### **4.3 Diskussion der Methode**

#### **4.3.1 Versuchsaufbau und Anästhesie**

Um die Kardioprotektion durch IPC untersuchen zu können, nutzten wir ein *open chest in vivo* Modell der Ratte, das in der Klinik für Anästhesiologie mehrfach durchgeführt wurde und etabliert ist (108,136–138). Im Gegensatz zu einem *in vitro* Versuchsaufbau erzeugt das *in vivo* Modell ein realitätsnäheres experimentelles Umfeld. Durch Einschluss der Reaktionen des Gesamtorganismus eröffnen sich andere Möglichkeiten der Interpretation der Versuchsergebnisse als bei einem *in vitro* Modell. Nachteilig bei einem *in vivo* Modell ist jedoch die Vielzahl der Faktoren, die die Infarktgröße nachgewiesen beeinflussen können. Unter standardisierten Bedingungen können diese jedoch reduziert werden.

Die Ausdehnung des Infarktareals ist maßgeblich abhängig von der Erfahrung und dem Geschick des Operateurs, da der Erfolg der Ligatur des RIVA nach regionaler Wandbewegungsstörung und Zyanose beurteilt wird. Hinzu kommen anatomische Normvarianten des Gefäßes und die Ausbildung von Kollateralkreisläufen, wobei diese bei kleinen Nagetieren nur sehr gering ausgeprägt sind (139). Als Qualitätskriterium können hier die Größen des Risikogebiets der einzelnen Versuchsgruppen herangezogen werden. Diese unterschieden sich in der Studie dieser Arbeit nicht signifikant (s. Kapitel 3.1) (107), sodass es unwahrscheinlich ist, dass die Infarktgröße hierdurch beeinflusst wurde. Darüber hinaus durchliefen alle Versuchstiere eine Indexischämie von 25 Minuten, sodass es nicht zu einer Beeinflussung der Infarktgröße durch eine

unterschiedliche Dauer kommen konnte. Erfahrungsgemäß reichen 25 Minuten Ischämiezeit für einen irreversiblen Zelluntergang des Myokards der Ratte aus (108).

Für den Versuch entscheidend war eine sichere und ausreichende Induktion einer IPC. Sandhu *et al.* zeigten eine größere Infarktgrößenreduktion nach drei Zyklen IPC als nach einem Zyklus (140). Darüber hinaus verdeutlicht die signifikante Verkleinerung des Infarktareals im vorliegenden Versuch, dass Anzahl und Dauer der IPC-Zyklen als ischämische Stimuli ausreichend gewesen sein müssen.

Die Kombination aus *Evans-Blue*- und TTC-Färbung stellt eine etablierte Methode zur Bestimmung des Risikogebiets und des Infarktareals dar (141,142). Das Auswaschen der Reduktionsäquivalente aus infarziertem Myokard beansprucht einige Zeit. Wir wählten eine in der Arbeitsgruppe etablierte Reperfusiondauer von 120 Minuten.

Um auszuschließen, dass es durch eine Hypothermie zu einer Kardioprotektion und dementsprechend einer Verkleinerung des Infarktareals kommt (143,144), wurden die Tiere während des Versuchs zur Aufrechterhaltung einer konstanten Körpertemperatur auf einer Wärmeplatte fixiert.

Zusätzlich nimmt der pH-Wert Einfluss auf den Reperfusionsschaden und damit auf die Ausdehnung des Infarkts (145). Um einen ausgeglichenen Säure-Basen-Haushalt zu gewährleisten, wurden regelmäßige Blutgasanalysen durchgeführt.

Des Weiteren könnte die Wahl des Narkotikums im Sinne einer pharmakologischen Präkonditionierung, einen zur IPC additiven kardioprotektiven Effekt haben. Wie in Kapitel 1.4. erläutert, haben einige Anästhetika kardioprotektive Eigenschaften und könnten so die Infarktgröße beeinflussen. Zur Narkoseinduktion bei allen Versuchstieren und zur Narkoseaufrechterhaltung bei zwei Versuchsgruppen wurde Pentobarbital verwendet. Bisher konnten für Pentobarbital keine eigenen präkonditionierenden Eigenschaften gezeigt werden. Zudem beeinflusst das Medikament die hämodynamische Stabilität nur geringfügig (94). Zaugg *et al.* zeigten jedoch, dass Pentobarbital die Öffnung des  $mK_{ATP}$ -Kanal beeinflussen könnte (146). Folglich kann eine Auswirkung von Pentobarbital auf die Ergebnisse nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Verschiedene tierexperimentelle Studien wiesen kardioprotektive Effekte im Sinne einer medikamentösen Präkonditionierung durch Sevofluran nach (147–150). Erstmals konnten dies 1998 Novalija *et al.* an Schweineherzen zeigen, da es nach

Präkonditionierung mit Sevofluran vor einer Ischämie zu einer verbesserten Herzarbeit im Sinne eines reduzierten Sauerstoffverbrauchs kommt (151). Obal *et al.* wiesen bei der Ratte *in vivo* eine signifikant reduzierte Infarktgröße nach einer Prä- und/oder Postkonditionierung mit Sevofluran nach und stellten die zentrale Bedeutung des mitochondrialen ATP-abhängigen Kalium-Kanals ( $mK_{ATP}$ ) heraus (57). Randomisierte kontrollierte Studien bei Patienten, die sich einer Bypassoperation unterzogen, zeigten jedoch unterschiedliche Ergebnisse (152–157): Piriou *et al.* konnten keine signifikant reduzierten Troponinlevel nachweisen (156); Bein *et al.* und Frässdorf *et al.* gelang es nur bei wiederholter Gabe von Sevofluran mit nachfolgenden Auswaschphasen als Präkonditionierungsstimulus signifikant reduzierte Troponinwerte zu erzielen (155,157). Die Studienprotokolle oben genannter Studien lassen den Schluss zu, dass eine kontinuierliche Verabreichung von Sevofluran, die jedoch zur Aufrechterhaltung einer balancierten Anästhesie nötig ist, keine präkonditionierenden Effekte hat (152,154). In einer Metaanalyse von 2016 fassten Lu *et al.* zusammen, dass eine Präkonditionierung mit Sevofluran kardioprotektiv wirkt und Troponinwerte bei Patienten mit Bypassoperationen signifikant senkt, wobei das optimale Präkonditionierungsprotokoll nach wie vor unbekannt ist. Hinsichtlich der sekundären Endpunkte (CK-MB-Werte, Beatmungsdauer, Dauer des Intensivaufenthalts oder der Krankenhausverweildauer) gab es keine signifikanten Unterschiede (158).

Eine Kardioprotektion durch Sevofluran zeichnet sich in den vorliegenden Ergebnissen nicht ab. Andernfalls müsste sich ein Unterschied in den Infarktgrößen zwischen den jeweiligen Kontrollgruppen der verschiedenen Anästhetika zeigen, insbesondere im Vergleich zu Pentobarbital (s. Kapitel 3.1). Möglicherweise lässt sich dies mit dem verwendeten Studienprotokoll begründen, das nicht Sevofluran als präkonditionierenden Stimulus vorsieht. Das optimale Protokoll zur Präkonditionierung mit Sevofluran ist noch nicht bekannt (158). Einige Studien zeigen, dass zur Induktion einer Kardioprotektion kurze repetitive Gaben von Sevofluran in einer Dosierung von 1,0 MAC mit nachfolgenden Auswaschphasen nötig sind: Berger *et al.* konnten eine Infarktgrößenreduktion an Ratten unter pulsativer Verabreichung nachweisen, die sie jedoch nicht bei einer kontinuierlichen Gabe reproduzieren konnten (159). Auch klinisch scheint sich dies zu bestätigen (155,157). Da wir Sevofluran kontinuierlich zur Aufrechterhaltung der Narkose verabreichten, sind additive kardioprotektive Effekte durch eine pharmakologische Präkonditionierung eher unwahrscheinlich.

Darüber hinaus können Opiate bzw. die Aktivierung von Opiat-Rezeptoren kardioprotektive Effekte induzieren (61,102,104). Wie in Kapitel 1.4.4 beschrieben besitzt auch Remifentanyl diese Eigenschaften (105,106). Ähnlich wie bei Sevofluran zeigen unsere Ergebnisse keine Kardioprotektion durch Remifentanyl, andernfalls müsste es eine signifikante Differenz der Infarktgröße jeweils zwischen der Pentobarbital-Kontrollgruppe und der Kontrollgruppe der balancierten Anästhesie mit Sevofluran kombiniert mit Remifentanyl und der Kontrollgruppe der TIVA (s. Kapitel 3.1) geben. Zudem beschreiben einige Studien, dass zur Erzeugung eines präkonditionierenden Reizes durch Remifentanyl wiederholte kurze Gaben nötig sind (160,161) und keine kontinuierliche Applikation, wie es in unserer Studie zur Narkoseführung vorgesehen war. Die beobachteten kardioprotektiven Effekte scheinen auch eine Dosis-Wirkungsbeziehung zu haben: So scheint es zunächst mit Erhöhung der Dosis auch zu einem Anstieg der Effektivität der Kardioprotektion und dann bei Überschreiten einer Schwellendosis – bei Zhang *et al.* war es 6µg/kg KG/min (160), bei Yu *et al.* 10µg/kg KG/min (161) – wieder zu einem Abfall bzw. zu keiner weiteren Steigerung zu kommen. Die genannten Dosierungen liegen außerhalb der für den klinischen Gebrauch üblichen Dosierung: Falls ein Initialbolus über eine Minute verabreicht wird, liegt dieser meist bei 0,5-1µg/kg KG/min; die Dosis einer kontinuierlichen Gabe beträgt 0,1-0,5µg/kg KG/min (19). Vermutlich ist die von uns verwendete Dosierung von 0,5µg/kg KG/min zu gering, um einen kardioprotektiven Effekt zu erzeugen. Aufgrund des Versuchsprotokolls, der kontinuierlichen Darreichung und der gewählten Dosierung ist davon auszugehen, dass der Einfluss von Remifentanyl auf die Ergebnisse vernachlässigbar ist. Darüber hinaus konnte in einigen Studien auch ein kardioprotektiver Effekt durch Propofol nachgewiesen werden: In tierexperimentellen Modellen zeigten sich nach einer myokardialen Ischämie bei vorheriger oder gleichzeitiger Gabe von Propofol eine verbesserte linksventrikuläre Funktion (162–164), weniger Arrhythmien (165) und eine reduzierte Infarktgröße (163,164,166). Allen diesen Studien ist jedoch gemein, dass Propofol als präkonditionierender Stimulus, die Untersuchung der kardioprotektiven Eigenschaften und mögliche Signalwege im Fokus standen und nicht der Einfluss von Propofol auf andere kardioprotektive Reize. Zudem zeigen klinische Daten keine kardioprotektiven Effekte bei kardiochirurgischen und nicht-kardiochirurgischen erwachsenen Patienten (167–169).

Wie bereits in Kapitel 1.4.3 beschrieben liegt Propofol in einer Lipid-Wasser-Emulsion vor. Eine mögliche Trägersubstanz ist Intralipid®, für die kardioprotektive Effekte gezeigt worden sind (170,171). Rahman *et al.* erzielten an der Maus *in vivo* durch die Gabe von Intralipid® zu Beginn der Reperfusionphase eine Infarktgrößenreduktion um 70 % (172). Neuere Daten von Lucchinetti *et al.* legen jedoch nahe, dass möglicherweise die kardioprotektiven Effekte von Intralipid® durch die Substanz Propofol wieder aufgehoben werden: Die Arbeitsgruppe untersuchte an der Ratte *in vitro* den Einfluss verschiedener Anästhesieregime auf die postkonditionierenden Effekte von Intralipid®. Sie konnten zeigen, dass es trotz Intralipidinfusion während einer kontinuierlichen Applikation von Propofol zu keiner verbesserten linksventrikulären Funktion kam (173). Wie bei den Pentobarbital- und Sevofluran-Gruppen, konnte auch bei Propofol kein Unterschied in der Infarktgröße zu den anderen Kontrollgruppen gezeigt werden. Vermutlich haben also weder Propofol noch Intralipid® in dieser Studie additive pharmakologisch präkonditionierende Effekte.

Da es zwischen den drei Kontrollgruppen zu keinem signifikanten Unterschied der Infarktgrößen kam, lässt sich aus diesen Ergebnissen zusammenfassend schließen, dass die hier gewählten Narkoseverfahren im verwendeten Versuchsaufbau selbst keinen kardioprotektiven Effekt besitzen.

#### **4.3.2 Versuchstiere**

Um den Einfluss verschiedener Anästhesieregime als möglichen Störfaktor isoliert betrachten zu können, wurden durch das gewählte Studienprotokoll (s. Kapitel 2.2.2) andere potentielle *confounder* ausgeschlossen.

Um einen Einfluss des Geschlechts auf den Ischämie- und Reperfusionsschaden zu vermeiden, wurden lediglich männliche Wistar-Ratten verwendet. Wie in Kapitel 1.1.2 dargelegt sind Frauen weniger häufig von kardiovaskulär bedingten Erkrankungen betroffen als Männer. Ursächlich scheinen unter anderem ein genetischer Vorteil sowie hormonelle Faktoren im Hinblick auf die Entstehung kardialer Erkrankungen zu sein (174,175). Verschiedene tierexperimentelle Studien konnten eine geringere Anfälligkeit des weiblichen Geschlechts hinsichtlich der Ausbildung eines Ischämie- und Reperfusionsschadens belegen (176–178). Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, inwieweit das Geschlecht die Wirksamkeit einer Präkonditionierung durch einen

ischämischen Trigger beeinflusst. Song *et al.* und Turcato *et al.* konnten keine Infarktgrößenreduktion durch IPC bei jungen weiblichen Mäusen im Vergleich zu jungen männlichen Mäusen induzieren (179,180). Lieder *et al.* hingegen konnten *in vitro* keine signifikanten Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Ratten hinsichtlich der Effektivität der Kardioprotektion durch IPC feststellen (181), wobei im Versuchsaufbau dieser Studie eine stärkere Stimulation gewählt wurde. Eventuell sind aufgrund der höheren endogenen Schutzmechanismen bei Weibchen intensivere Trigger von Nöten. Durch eine Beschränkung auf Männchen im vorliegenden Studiendesign konnten wir potentielle Effekte durch das Geschlecht ausschließen.

Darüber hinaus verwendeten wir nur gesunde Tiere, um Störgrößen wie Vorerkrankungen oder Medikamente nicht einbeziehen zu müssen. In diesem Zusammenhang scheint Diabetes mellitus eine wichtige Rolle zu spielen. Viele Studien konnten eine reduzierte oder aufgehobene Kardioprotektion durch IPC bei Diabetes mellitus nachweisen (182–185). Daneben können Medikamente wie ACE-Hemmer (186), Statine (187), Antidiabetika (188–190), Nitrate (191) und  $\beta$ -Blocker (191,192), die häufig von Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren eingenommen werden, Einfluss auf die kardioprotektive Wirkung der IPC haben.

Ein weiterer *confounder* hinsichtlich der Effektivität der IPC stellt das Alter dar: In vielen tierexperimentellen und klinischen Studien zeigte sich ein Verlust der Kardioprotektion durch IPC bei älteren Tieren bzw. Patienten (191,193). Schulmann *et al.* konnten beispielsweise an der Ratte *in vitro* nachweisen, dass es auch nach einer Intensivierung des Triggers bei älteren Ratten im Vergleich zu jungen Tieren zu keiner Kardioprotektion kommt. Bei Ratten mittleren Alters hingegen konnte durch eine Verstärkung des Reizes eine Kardioprotektion induziert werden (194). Neben tierexperimentellen Daten (195,196) zeigen auch klinische Studien eine Aufhebung kardioprotektiver Effekte bei Patienten mit höherem Lebensalter: Abete *et al.* konnten keinen infarkt-reduzierenden Effekt durch eine Präinfarkt-angina bei älteren Patienten, die einen Myokardinfarkt erlitten, im Gegensatz zu Jüngeren nachweisen (197). Im Rahmen von Koronarinterventionen (198) oder Bypassoperationen (51) ließ sich ebenfalls ein Wirkverlust bei älteren Patienten beobachten. Aus diesem Grund wurden in unserem Versuchsaufbau lediglich junge Tiere verwendet.

## 4.4 Diskussion der Ergebnisse

### 4.4.1 Infarktgrößen

Als primären Endpunkt dieser Studie wählten wir die Messung der Infarktgrößenreduktion mittels *Evans-Blue*- und TTC-Färbung. Als sensitivster Marker zur Beurteilung des Ausmaßes des Ischämie- und Reperfusionsschadens bzw. etwaiger kardioprotektiver Effekte *in vivo* und *in vitro* gilt die Bestimmung der Infarktgröße im Verhältnis zum Risikogebiet (199). Damit stellt die quantitative Bestimmung des Infarktareals weiterhin den Goldstandard bei Studien zur Kardioprotektion dar.

Zur Ermittlung des Myokardschadens könnte auch die kontraktile Dysfunktion gemessen werden, treten ischämisch bedingter Zellschaden und kontraktile Dysfunktion doch häufig gleichzeitig auf und beruhen meist auf ähnlichen Mechanismen. Jedoch ist eine Protektion gegen die Dysfunktion nicht gleichzusetzen mit einer Protektion gegen einen Zelluntergang im Rahmen eines Ischämie- und Reperfusionsschadens (200). Die reduzierte Freisetzung definierter Biomarker spiegelt eine Kardioprotektion nicht ausreichend sensitiv wider. So konnten Rosello *et al.* in ihrer Arbeit zur Analyse von primären Endpunkten zur validen Beurteilung kardioprotektiver Therapien nur eine geringe Korrelation zwischen einer reduzierten Freisetzung von Laktatdehydrogenase (LDH) und einer Infarktgrößenreduktion nachgewiesen mittels TTC-Färbung zeigen (201).

Auf Grundlage dieser Erkenntnisse wurde in dieser Studie die Infarktgröße als primärer Endpunkt gewählt und die hämodynamischen Parameter als sekundäre Endpunkte evaluiert.

### 4.4.2 Hämodynamische Parameter

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen eine signifikante Infarktgrößenreduktion durch IPC im Vergleich zu den Kontrollgruppen unabhängig vom gewählten Anästhesieverfahren. Im Gegensatz dazu konnten wir jedoch keine Unterschiede hinsichtlich der Hämodynamik zwischen den Tieren mit IPC und denen der Kontrollgruppen nachweisen. Diese Tatsache zeigt sich auch in einer Vielzahl an Studien am isolierten Herzen. Weshalb es zu einer Reduzierung der Infarktgröße, aber nicht zu einer Verbesserung der hämodynamischen Werte durch IPC kommt, ist bisher nicht vollständig geklärt.

Eine mögliche Erklärung könnte das Auftreten eines *myocardial stunning* sein. Braunwald *et al.* beschrieben erstmals mit diesem Begriff eine zeitlich begrenzte kontraktile Dysfunktion der Myozyten, die nach einer regionalen oder globalen Ischämie auch nach wiederhergestellter Koronarperfusion und fehlendem Zelluntergang auftreten kann (202). Pathogenetisch scheint es zum einen durch Sauerstoffradikale zu einer Schädigung von Zellorganellen und Myofilamenten, zum anderen zu einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration zu kommen. Eine herabgesetzte Sensibilität des kontraktiven Apparats für Kalzium führt schließlich zu einer temporären Verschlechterung der myokardialen Funktion in den überlebenden Kardiomyozyten (203).

In diesem Zusammenhang untersuchten Ferrera *et al.* einen möglichen Einfluss der Dauer der Reperfusion auf die Hämodynamik bei kardioprotektiven Verfahren. Es konnte gezeigt werden, dass eine Reperfusion von 120 min im Vergleich zu einer 60-minütigen Reperfusion zu keiner signifikanten Verbesserung der Hämodynamik in isolierten Herzen führt. Es kam ebenfalls zu keiner weiteren Zunahme der Infarktgrößenreduktion (204). Diese Ergebnisse sind vereinbar mit denen dieser Arbeit. Es lässt sich folgern, dass vermutlich eine deutlich prolongierte Reperusionsphase notwendig wäre, um möglicherweise signifikante Effekte in der Hämodynamik zu erzielen und nachzuweisen. Dies könnte im Rahmen eines chronischen *in vivo* Modells umgesetzt werden. Den Goldstandard zur Bestimmung der Kardioprotektion stellt jedoch, wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben, die Infarktgrößenbestimmung dar. Verbesserungen in der Hämodynamik sind auf Grundlage dieser Erklärungen also nicht primär entscheidend für den Nachweis kardioprotektiver Effekte in unserer Studie.

#### **4.5 Limitierungen der Studie**

Die Resultate der durchgeführten Studie sind rein deskriptiv.

Die Durchführung erfolgte an 36 Ratten, eine Übertragung auf den Menschen in einem größeren Kollektiv ist daher nur mit Einschränkung möglich. Hinzu kommt, dass die IPC doch in weiten Teilen zu invasiv und risikobehaftet für Patienten zu sein scheint, um regelhaft durchgeführt zu werden. Zusätzlich sind die Patienten, die von einer IPC vermutlich profitieren würden, meist älter, vorerkrankt und nehmen Medikamente ein.

Auch das Geschlecht ist natürlich variabel. Zum Ausschluss möglicher anderer Störgrößen wurden jedoch nur männliche, junge und gesunde Ratten verwendet.

Zudem wurde weder die Initiierung der IPC auf zellulärer Ebene noch die Vermittlung der Kardioprotektion über intrazelluläre Signalwege untersucht. Ziel war es nur die Wahl des Narkotikums als möglichen *confounder* zu beleuchten. Folglich können nur theoretische Überlegungen darüber getroffen werden, wo genau die Unterschiede zu RIPC liegen und wo etwaige Ansatzpunkte für verschiedene Narkotika denkbar wären.

Darüber hinaus wurden klinisch gebräuchliche Anästhetika verwendet, Trägerlösungen wurden nicht separat betrachtet, sodass ein möglicher zusätzlicher protektiver Einfluss dieser nicht sicher ausgeschlossen werden kann.

#### **4.6 Translation in die Klinik und Ausblick**

Die Ergebnisse aus tierexperimentellen Studien zur IPC-induzierten Kardioprotektion sind vielversprechend und konnten bereits in einigen klinischen Studien reproduziert werden. IPC im Rahmen von aortokoronaren Bypassoperationen führte nicht nur zum Anstieg des ATP-Gehaltes im Myokard als Nachweis einer verbesserten zellulären Energieversorgung, sondern auch zu einer gesteigerten ventrikulären Pumpfunktion und reduzierten Troponin-Spiegeln (50,51). Im Gegensatz dazu konnten große multizentrische Studien zu RIPC bei herzchirurgischen Eingriffen keine positiven Effekte zeigen (82,83). Ein möglicher Aspekt könnte hierbei der Einfluss der gewählten Anästhesieverfahren sein. Wie in dieser Arbeit gezeigt bleibt die Infarktgrößenreduktion durch IPC vollständig unbeeinflusst von der Applikation verschiedener Anästhetika. Behmenburg *et al.* und Bunte *et al.* (100,107) wiesen im Gegensatz dazu einen aufgehobenen protektiven Effekt von RIPC unter Propofol-Anästhesie nach und führten dies auf eine blockierte Freisetzung von humoralen Faktoren zurück. Trotz des Vorteiles von IPC gegenüber RIPC hinsichtlich des Ausmaßes der Kardioprotektion in klinischen Studien überwiegen vermutlich die Nachteile der hohen Invasivität und möglichen schwerwiegenden Komplikationen der Methodik (wie beschrieben in Kapitel 1.2). Zudem ist das Verfahren technisch mit einem potenziell hohen Aufwand verbunden und primär praktikabel im Rahmen von perkutanen Koronarinterventionen. Neben dem Anästhesieverfahren könnten bei der Übertragbarkeit experimenteller IPC-Daten in die Klinik zudem eine Vielzahl an

weiteren Einflussfaktoren eine Rolle spielen. So konnte in verschiedenen Studien bereits gezeigt werden, dass Komorbiditäten wie Hyperglykämie und Hypercholesterinämie, aber auch das weibliche Geschlecht die IPC-vermittelte Kardioprotektion blockieren (205). Basierend auf diesen Erkenntnissen rücken die Verfahren RIPC bzw. pharmakologische Konditionierungsstrategien ins Blickfeld aktueller Forschungsarbeiten. Die Ergebnisse dieser Studie verdeutlichen, dass die verschiedenen Einflussfaktoren, wie hier das Anästhesieverfahren, bei der Durchführung klinischer Studien berücksichtigt werden sollten. Wir konnten jedoch auch zeigen, dass die myokardialen Signalkaskaden, die im Rahmen der IPC getriggert werden, vermutlich nicht durch Anästhetika beeinflusst werden. Zukünftige Ansatzpunkte für eine erfolgreiche Kardioprotektion in klinischen Studien könnten daher pharmakologische Strategien sein, welche die durch IPC vermittelten Signalwege imitieren.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Herold, Gerd, Dr. Gerd Herold. Koronare Herzerkrankung (KHK). In: Innere Medizin: eine vorlesungsorientierte Darstellung, unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung, mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. 2020. S. 237–59.
2. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, u. a. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes The Task Force for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 14. Januar 2020;41(3):407–77.
3. Global health estimates: Leading causes of death [Internet]. [zitiert 31. Juli 2021]. Verfügbar unter: <https://www.who.int/data/maternal-newborn-child-adolescent-ageing/advisory-groups/gama/gama-advisory-group-members>
4. Sterbefälle Sterbeziffern ab 1998 [Internet]. [zitiert 31. Juli 2021]. Verfügbar unter: [https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg\\_olap\\_tables.prc\\_set\\_hierlevel?p\\_uid=gast&p\\_aid=4308828&p\\_sprache=D&p\\_help=2&p\\_indnr=6&p\\_ansnr=76094420&p\\_version=3&p\\_dim=D.946&p\\_dw=14358&p\\_direction=drill](https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg_olap_tables.prc_set_hierlevel?p_uid=gast&p_aid=4308828&p_sprache=D&p_help=2&p_indnr=6&p_ansnr=76094420&p_version=3&p_dim=D.946&p_dw=14358&p_direction=drill)
5. Sterbefälle Sterbeziffer Ränge Anteile der häufigsten Todesursachen ab 1998 [Internet]. [zitiert 31. Juli 2021]. Verfügbar unter: [https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg\\_olap\\_tables.prc\\_set\\_hierlevel?p\\_uid=gast&p\\_aid=37382710&p\\_sprache=D&p\\_help=2&p\\_indnr=516&p\\_ansnr=10661147&p\\_version=2&p\\_dim=D.100&p\\_dw=10102&p\\_direction=drill](https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg_olap_tables.prc_set_hierlevel?p_uid=gast&p_aid=37382710&p_sprache=D&p_help=2&p_indnr=516&p_ansnr=10661147&p_version=2&p_dim=D.100&p_dw=10102&p_direction=drill)
6. Gößwald A, Schienkiewitz A, Nowossadeck E, Busch MA. [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. Mai 2013;56(5–6):650–5.
7. Robert Koch-Institut. 12-Monats-Prävalenz einer koronaren Herzkrankheit in Deutschland. 2017 [zitiert 30. August 2020]; Verfügbar unter: <http://edoc.rki.de/docviews/abstract.php?lang=ger&id=5019>
8. Time Trends in Cardiometabolic Risk Factors in Adults (21.10.2016) [Internet]. [zitiert 30. August 2020]. Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/int/archive/article/183039>
9. Robert Koch-Institut. Bericht Gesundheit in Deutschland 2015. 516. [zitiert 8. August 2021]. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/g/GesInDtld/gesundheit\\_in\\_deutschland\\_2015.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/g/GesInDtld/gesundheit_in_deutschland_2015.pdf?__blob=publicationFile)
10. Statistisches Bundesamt Deutschland - GENESIS-Online [Internet]. 2021 [zitiert 8. August 2021]. Verfügbar unter:

<https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?sequenz=tabelleErgebnis&selectionname=12621-0002&zeitscheiben=16&sachmerkmal=ALT577&sachschluessel=ALTVOLL000,ALTVOLL020,ALTVOLL040,ALTVOLL060,ALTVOLL065,ALTVOLL080#abreadcrumb>

11. Robert Koch-Institut. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Heft 48 Krankheitskosten 2009. 34. [zitiert 8. August 2021]. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsT/Krankheitskosten.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsT/Krankheitskosten.pdf?__blob=publicationFile)
12. Boehm O. Morbidität und Letalität in der Anästhesiologie. Patientensicherheit als Kernkompetenz des Anästhesisten. Boehm O: Morbidität und Letalität in der Anästhesiologie, Patientensicherheit als Kernkompetenz des Anästhesisten. 8. Oktober 2019;(10–2019):488–500.
13. International Surgical Outcomes Study group. Global patient outcomes after elective surgery: prospective cohort study in 27 low-, middle- and high-income countries. *Br J Anaesth.* 31. Oktober 2016;117(5):601–9.
14. Operationsstatistik - DRG Statistik [Internet]. [zitiert 30. August 2020]. Verfügbar unter: [http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd\\_init?gbe.isgbetol/xs\\_start\\_neu/&p\\_aid=i&p\\_aid=42319479&nummer=662&p\\_sprache=D&p\\_indsp=99999999&p\\_aid=73360175](http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd_init?gbe.isgbetol/xs_start_neu/&p_aid=i&p_aid=42319479&nummer=662&p_sprache=D&p_indsp=99999999&p_aid=73360175)
15. Mangano DT. Perioperative cardiac morbidity. *Anesthesiology.* Januar 1990;72(1):153–84.
16. Xu L, Yu C, Jiang J, Zheng H, Yao S, Pei L, u. a. Major adverse cardiac events in elderly patients with coronary artery disease undergoing noncardiac surgery: A multicenter prospective study in China. *Archives of Gerontology and Geriatrics.* 1. November 2015;61(3):503–9.
17. Osterhues (federführend) H-H, Baer FM, Kelm M, Irmer (BNK) M, Ivens K, Leschke (ALKK) M, u. a. Kommentar zu den Leitlinien zur perioperativen kardiovaskulären Evaluation bei nichtkardialer Chirurgie der ACC/AHA: Leitlinien-Update 2002. *Kardiologe.* Juli 2007;1(1):18–30.
18. Gemeinsame Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie und der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin. [Preoperative Evaluation of Adult Patients Before Elective, Non-Cardiothoracic Surgery]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* Juni 2017;52(6):446–62.
19. Striebel HW, Eyrich K. Die Anästhesie: Grundlagen und Praxis. 3. Aufl. Stuttgart: Schattauer; 2014. 110-128 S.
20. Heusch G, Gersh BJ. The pathophysiology of acute myocardial infarction and strategies of protection beyond reperfusion: a continual challenge. *Eur Heart J.* 14. März 2017;38(11):774–84.

21. Pasotti M, Prati F, Arbustini E. The pathology of myocardial infarction in the pre- and post-interventional era. *Heart*. 1. November 2006;92(11):1552–6.
22. Matsumura K, Jeremy RW, Schaper J, Becker LC. Progression of myocardial necrosis during reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation*. 3. März 1998;97(8):795–804.
23. Piper HM, Abdallah Y, Schäfer C. The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 15. Februar 2004;61(3):365–71.
24. Gross GJ, O'Rourke ST, Pelc LR, Warltier DC. Myocardial and endothelial dysfunction after multiple, brief coronary occlusions: role of oxygen radicals. *Am J Physiol*. Dezember 1992;263(6 Pt 2):H1703-1709.
25. Bolli R, Triana JF, Jeroudi MO. Prolonged impairment of coronary vasodilation after reversible ischemia. Evidence for microvascular „stunning“. *Circ Res*. August 1990;67(2):332–43.
26. Higginson LA, White F, Heggtveit HA, Sanders TM, Bloor CM, Covell JW. Determinants of myocardial hemorrhage after coronary reperfusion in the anesthetized dog. *Circulation*. Januar 1982;65(1):62–9.
27. Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest*. Januar 2013;123(1):92–100.
28. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. November 2011;301(5):H1723-1741.
29. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med*. 1991;42:225–46.
30. Schrader J. Mechanisms of ischemic injury in the heart. *Basic Res Cardiol*. 1985;80 Suppl 2:135–9.
31. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2012;298:229–317.
32. Piper HM, Kasseckert SA, Schlüter K-D, Abdallah Y. [Pathophysiology of myocardial reperfusion injury]. *Dtsch Med Wochenschr*. März 2008;133(12):586–90.
33. Kharbanda RK. Cardiac conditioning: a review of evolving strategies to reduce ischaemia-reperfusion injury. *Heart*. August 2010;96(15):1179–86.
34. Javadov S, Karmazyn M. Mitochondrial permeability transition pore opening as an endpoint to initiate cell death and as a putative target for cardioprotection. *Cell Physiol Biochem*. 2007;20(1–4):1–22.
35. Halestrap AP. What is the mitochondrial permeability transition pore? *J Mol Cell Cardiol*. Juni 2009;46(6):821–31.

36. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. November 1986;74(5):1124–36.
37. Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W. Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circ Res*. April 1990;66(4):1133–42.
38. Moolman JA, Genade S, Winterbach R, Harper IS, Williams K, Lochner A. Preconditioning with a single short episode of global ischemia in the isolated working rat heart: effect on structure, mechanical function, and energy metabolism for various durations of sustained global ischemia. *Cardiovasc Drugs Ther*. Februar 1995;9(1):103–15.
39. Liu Y, Downey JM. Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am J Physiol*. Oktober 1992;263(4 Pt 2):H1107-1112.
40. Yamakawa K, Zhou W, Ko Y, Benharash P, Takemoto M, Mahajan A. Improved cardioprotection using a novel stepwise ischemic preconditioning protocol in rabbit heart. *J Surg Res*. 15. Mai 2014;188(2):381–6.
41. Peart JN, Patel HH, Gross GJ. Delta-opioid receptor activation mimics ischemic preconditioning in the canine heart. *J Cardiovasc Pharmacol*. Juli 2003;42(1):78–81.
42. Gross GJ, Gauthier KM, Moore J, Campbell WB, Falck JR, Nithipatikom K. Evidence for role of epoxyeicosatrienoic acids in mediating ischemic preconditioning and postconditioning in dog. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. Juli 2009;297(1):H47-52.
43. Tomai F, Crea F, Chiariello L, Gioffrè PA. Ischemic preconditioning in humans: models, mediators, and clinical relevance. *Circulation*. 3. August 1999;100(5):559–63.
44. Bonventre JV. Kidney ischemic preconditioning. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. Januar 2002;11(1):43–8.
45. Alchera E, Dal Ponte C, Imarisio C, Albano E, Carini R. Molecular mechanisms of liver preconditioning. *World J Gastroenterol*. 28. Dezember 2010;16(48):6058–67.
46. Barone FC, White RF, Spera PA, Ellison J, Currie RW, Wang X, u. a. Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, and interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression. *Stroke*. September 1998;29(9):1937–50; discussion 1950-1951.
47. Soncul H, Oz E, Kalaycioglu S. Role of ischemic preconditioning on ischemia-reperfusion injury of the lung. *Chest*. Juni 1999;115(6):1672–7.
48. Pang CY, Yang RZ, Zhong A, Xu N, Boyd B, Forrest CR. Acute ischaemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig. *Cardiovasc Res*. Juni 1995;29(6):782–8.
49. Pajdo R, Brzozowski T, Konturek PC, Kwiecien S, Konturek SJ, Sliwowski Z, u. a. Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention:

- involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves. *Eur J Pharmacol.* 21. September 2001;427(3):263–76.
50. Yellon DM, Alkhulaifi AM, Pugsley WB. Preconditioning the human myocardium. *Lancet.* 31. Juli 1993;342(8866):276–7.
  51. Wu ZK, Pehkonen E, Laurikka J, Kaukinen L, Honkonen EL, Kaukinen S, u. a. The protective effects of preconditioning decline in aged patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* November 2001;122(5):972–8.
  52. Hausenloy DJ, Yellon DM. The second window of preconditioning (SWOP) where are we now? *Cardiovasc Drugs Ther.* Juni 2010;24(3):235–54.
  53. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation.* September 1993;88(3):1264–72.
  54. Yang X, Cohen MV, Downey JM. Mechanism of cardioprotection by early ischemic preconditioning. *Cardiovasc Drugs Ther.* Juni 2010;24(3):225–34.
  55. Bolli R. The late phase of preconditioning. *Circ Res.* 24. November 2000;87(11):972–83.
  56. Swyers T, Redford D, Larson DF. Volatile anesthetic-induced preconditioning. *Perfusion.* Januar 2014;29(1):10–5.
  57. Obal D, Dettwiler S, Favoccia C, Scharbatke H, Preckel B, Schlack W. The influence of mitochondrial KATP-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo. *Anesth Analg.* November 2005;101(5):1252–60.
  58. Cason BA, Gamperl AK, Slocum RE, Hickey RF. Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology.* November 1997;87(5):1182–90.
  59. Redel A, Lange M, Jazbutyte V, Lotz C, Smul TM, Roewer N, u. a. Activation of mitochondrial large-conductance calcium-activated K<sup>+</sup> channels via protein kinase A mediates desflurane-induced preconditioning. *Anesth Analg.* Februar 2008;106(2):384–91, table of contents.
  60. Heidland UE, Heintzen MP, Schwartzkopff B, Strauer BE. Preconditioning during percutaneous transluminal coronary angioplasty by endogenous and exogenous adenosine. *Am Heart J.* November 2000;140(5):813–20.
  61. Headrick JP, See Hoe LE, Du Toit EF, Peart JN. Opioid receptors and cardioprotection - „opioidergic conditioning“ of the heart. *Br J Pharmacol.* April 2015;172(8):2026–50.
  62. McPherson BC, Yao Z. Morphine mimics preconditioning via free radical signals and mitochondrial K(ATP) channels in myocytes. *Circulation.* 16. Januar 2001;103(2):290–5.

63. Tsuchida A, Liu Y, Liu GS, Cohen MV, Downey JM. alpha 1-adrenergic agonists precondition rabbit ischemic myocardium independent of adenosine by direct activation of protein kinase C. *Circ Res.* September 1994;75(3):576–85.
64. Yao Z, Gross GJ. Acetylcholine mimics ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in dogs. *Am J Physiol.* Juni 1993;264(6 Pt 2):H2221-2225.
65. Feng J, Sellke ME, Ramlawi B, Boodhwani M, Clements R, Li J, u. a. Bradykinin induces microvascular preconditioning through the opening of calcium-activated potassium channels. *Surgery.* August 2006;140(2):192–7.
66. Hausenloy DJ, Tsang A, Yellon DM. The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning. *Trends Cardiovasc Med.* Februar 2005;15(2):69–75.
67. Hausenloy DJ, Yellon DM. Reperfusion injury salvage kinase signalling: taking a RISK for cardioprotection. *Heart Fail Rev.* Dezember 2007;12(3–4):217–34.
68. Lacerda L, Somers S, Opie LH, Lecour S. Ischaemic postconditioning protects against reperfusion injury via the SAFE pathway. *Cardiovasc Res.* 1. November 2009;84(2):201–8.
69. Lecour S. Multiple protective pathways against reperfusion injury: a SAFE path without Aktion? *J Mol Cell Cardiol.* Mai 2009;46(5):607–9.
70. Cohen MV, Downey JM. Cardioprotection: spotlight on PKG. *Br J Pharmacol.* November 2007;152(6):833–4.
71. Heusch G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning. *Circ Res.* 13. Februar 2015;116(4):674–99.
72. Hausenloy DJ, Barrabes JA, Bøtker HE, Davidson SM, Di Lisa F, Downey J, u. a. Ischaemic conditioning and targeting reperfusion injury: a 30 year voyage of discovery. *Basic Res Cardiol.* 2016;111(6):70.
73. Heusch G, Bøtker HE, Przyklenk K, Redington A, Yellon D. Remote ischemic conditioning. *J Am Coll Cardiol.* 20. Januar 2015;65(2):177–95.
74. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic „preconditioning“ protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation.* März 1993;87(3):893–9.
75. Gho BC, Schoemaker RG, van den Doel MA, Duncker DJ, Verdouw PD. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation.* 1. November 1996;94(9):2193–200.
76. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschtitzky JA, u. a. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation.* 3. Dezember 2002;106(23):2881–3.

77. Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E, u. a. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet*. 18. August 2007;370(9587):575–9.
78. Thielmann M, Kottenberg E, Boengler K, Raffelsieper C, Neuhaeuser M, Peters J, u. a. Remote ischemic preconditioning reduces myocardial injury after coronary artery bypass surgery with crystalloid cardioplegic arrest. *Basic Res Cardiol*. September 2010;105(5):657–64.
79. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med*. 13. September 2007;357(11):1121–35.
80. Candilio L, Malik A, Ariti C, Barnard M, Di Salvo C, Lawrence D, u. a. Effect of remote ischaemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery: a randomised controlled clinical trial. *Heart*. Februar 2015;101(3):185–92.
81. Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, Wendt D, Gedik N, Pasa S, u. a. Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet*. 17. August 2013;382(9892):597–604.
82. Meybohm P, Kohlhaas M, Stoppe C, Gruenewald M, Renner J, Bein B, u. a. RIPHeart (Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery) Study: Myocardial Dysfunction, Postoperative Neurocognitive Dysfunction, and 1 Year Follow-Up. *J Am Heart Assoc*. 26 2018;7(7).
83. Hausenloy DJ, Candilio L, Evans R, Ariti C, Jenkins DP, Kolvekar S, u. a. Remote Ischemic Preconditioning and Outcomes of Cardiac Surgery. *N Engl J Med*. 8. Oktober 2015;373(15):1408–17.
84. Kottenberg E, Thielmann M, Bergmann L, Heine T, Jakob H, Heusch G, u. a. Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol - a clinical trial. *Acta Anaesthesiol Scand*. Januar 2012;56(1):30–8.
85. Zarbock A, Schmidt C, Van Aken H, Wempe C, Martens S, Zahn PK, u. a. Effect of remote ischemic preconditioning on kidney injury among high-risk patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2. Juni 2015;313(21):2133–41.
86. Stoppe C, Meybohm P, Goetzenich A. [Remote Ischaemic Conditioning - an overview]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*. Oktober 2016;51(10):596–603.
87. Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res*. 1. August 2008;79(3):377–86.

88. Donato M, Buchholz B, Rodríguez M, Pérez V, Inserte J, García-Dorado D, u. a. Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning. *Exp Physiol*. Februar 2013;98(2):425–34.
89. Dickson EW, Lorbar M, Porcaro WA, Fenton RA, Reinhardt CP, Gysembergh A, u. a. Rabbit heart can be „preconditioned“ via transfer of coronary effluent. *Am J Physiol*. 1999;277(6):H2451-2457.
90. Michelsen MM, Støttrup NB, Schmidt MR, Løfgren B, Jensen RV, Tropak M, u. a. Exercise-induced cardioprotection is mediated by a bloodborne, transferable factor. *Basic Res Cardiol*. Mai 2012;107(3):260.
91. Shimizu M, Tropak M, Diaz RJ, Suto F, Surendra H, Kuzmin E, u. a. Transient limb ischaemia remotely preconditions through a humoral mechanism acting directly on the myocardium: evidence suggesting cross-species protection. *Clin Sci*. 3. August 2009;117(5):191–200.
92. Karow T, Lang-Roth R. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie: vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden für Studium und Praxis* 2020. 2019.
93. Kirsch, K., Palm, J., Wedel, K. Die Tücken des „sanften Todes“, Euthanasie von Tieren. *Deutsches Tierärzteblatt*. 2016;1362–6.
94. Frey H-H, Löscher W, Althaus FR, Herausgeber. *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. 3., vollst. überarb. Aufl. Stuttgart: Enke in MVS Medizinverl. Stuttgart; 2010. 672 S.
95. Tonner PH. Wirkmechanismen von Anästhetika. *Anästh Intensivmed*. :14.
96. Campagna JA, Miller KW, Forman SA. Mechanisms of actions of inhaled anesthetics. *N Engl J Med*. 22. Mai 2003;348(21):2110–24.
97. Miller RD, Herausgeber. *Miller’s anesthesia*. Eighth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 2 S.
98. Hino H, Matsuura T, Kihara Y, Tsujikawa S, Mori T, Nishikawa K. Comparison between hemodynamic effects of propofol and thiopental during general anesthesia induction with remifentanyl infusion: a double-blind, age-stratified, randomized study. *J Anesth*. August 2019;33(4):509–15.
99. Coverdale NS, Hamilton A, Petsikas D, McClure RS, Malik P, Milne B, u. a. Remote Ischemic Preconditioning in High-risk Cardiovascular Surgery Patients: A Randomized-controlled Trial. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 2018;30(1):26–33.
100. Behmenburg F, van Caster P, Bunte S, Brandenburger T, Heinen A, Hollmann MW, u. a. Impact of Anesthetic Regimen on Remote Ischemic Preconditioning in the Rat Heart In Vivo. *Anesthesia & Analgesia*. April 2018;126(4):1377–80.
101. Westmoreland CL, Hoke JF, Sebel PS, Hug CC, Muir KT. Pharmacokinetics of remifentanyl (GI87084B) and its major metabolite (GI90291) in patients undergoing elective inpatient surgery. *Anesthesiology*. November 1993;79(5):893–903.

102. Schultz JE, Rose E, Yao Z, Gross GJ. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol.* Mai 1995;268(5 Pt 2):H2157-2161.
103. Tomai F, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, Ghini AS, Ferri C, u. a. Effects of naloxone on myocardial ischemic preconditioning in humans. *J Am Coll Cardiol.* Juni 1999;33(7):1863–9.
104. Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ. Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. *Circ Res.* Juni 1996;78(6):1100–4.
105. Xu Z, Jin M, He W, Xia S, Zhao Y, He B, u. a. [Remifentanil preconditioning lowers cardiac troponin I levels in patients undergoing off-pump coronary artery bypass graft surgery]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* August 2009;29(8):1554–6.
106. Wong GTC, Huang Z, Ji S, Irwin MG. Remifentanil reduces the release of biochemical markers of myocardial damage after coronary artery bypass surgery: a randomized trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* Oktober 2010;24(5):790–6.
107. Bunte S, Behmenburg F, Eckelskemper F, Mohr F, Stroethoff M, Raupach A, u. a. Cardioprotection by Humoral Factors Released After Remote Ischemic Preconditioning Depends on Anesthetic Regimen: *Critical Care Medicine.* März 2019;47(3):e250–5.
108. Huhn R, Weber NC, Preckel B, Schlack W, Bauer I, Hollmann MW, u. a. Age-related loss of cardiac preconditioning: impact of protein kinase A. *Exp Gerontol.* Januar 2012;47(1):116–21.
109. Csonka C, Kupai K, Kocsis GF, Novák G, Fekete V, Bencsik P, u. a. Measurement of myocardial infarct size in preclinical studies. *J Pharmacol Toxicol Methods.* April 2010;61(2):163–70.
110. The top 10 causes of death [Internet]. [zitiert 4. Oktober 2020]. Verfügbar unter: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
111. Caricati-Neto A, Errante PR, Menezes-Rodrigues FS. Recent Advances in Pharmacological and Non-Pharmacological Strategies of Cardioprotection. *Int J Mol Sci.* 16. August 2019;20(16).
112. Hoole SP, Heck PM, Sharples L, Khan SN, Duehmke R, Densem CG, u. a. Cardiac Remote Ischemic Preconditioning in Coronary Stenting (CRISP Stent) Study: a prospective, randomized control trial. *Circulation.* 17. Februar 2009;119(6):820–7.
113. Bøtker HE, Kharbanda R, Schmidt MR, Böttcher M, Kaltoft AK, Terkelsen CJ, u. a. 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.* 27. Februar 2010;375(9716):727–34.

114. Hadebe N, Cour M, Lecour S. The SAFE pathway for cardioprotection: is this a promising target? *Basic Research in Cardiology*. 15 2018;113(2):9.
115. Suleman N, Somers S, Smith R, Opie LH, Lecour SC. Dual activation of STAT-3 and Akt is required during the trigger phase of ischaemic preconditioning. *Cardiovascular Research*. 1. Juli 2008;79(1):127–33.
116. Torregroza C, Raupach A, Feige K, Weber NC, Hollmann MW, Huhn R. Perioperative Cardioprotection: General Mechanisms and Pharmacological Approaches. *Anesth Analg*. Dezember 2020;131(6):1765–80.
117. Rosenberg JH, Werner JH, Moulton MJ, Agrawal DK. Current Modalities and Mechanisms Underlying Cardioprotection by Ischemic Conditioning. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 2018;11(4):292–307.
118. Boengler K, Lochnit G, Schulz R. Mitochondria „THE“ target of myocardial conditioning. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. 01 2018;315(5):H1215–31.
119. Lecour S. Activation of the protective Survivor Activating Factor Enhancement (SAFE) pathway against reperfusion injury: Does it go beyond the RISK pathway? *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. Juli 2009;47(1):32–40.
120. Heusch G, Musiolik J, Gedik N, Skyschally A. Mitochondrial STAT3 activation and cardioprotection by ischemic postconditioning in pigs with regional myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation Research*. 11. November 2011;109(11):1302–8.
121. Heusch G, Musiolik J, Kottenberg E, Peters J, Jakob H, Thielmann M. STAT5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning in humans: short communication. *Circulation Research*. 6. Januar 2012;110(1):111–5.
122. Smith CO, Nehrke K, Brookes PS. The Slo(w) path to identifying the mitochondrial channels responsible for ischemic protection. *The Biochemical Journal*. 09 2017;474(12):2067–94.
123. Di Lisa F, Carpi A, Giorgio V, Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore and cyclophilin D in cardioprotection. *Biochimica Et Biophysica Acta*. Juli 2011;1813(7):1316–22.
124. Di Lisa F, Canton M, Menabò R, Kaludercic N, Bernardi P. Mitochondria and cardioprotection. *Heart Failure Reviews*. Dezember 2007;12(3–4):249–60.
125. Dong D-L, Bai Y-L, Cai B-Z. Calcium-Activated Potassium Channels: Potential Target for Cardiovascular Diseases. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2016;104:233–61.
126. Paggio A, Checchetto V, Campo A, Menabò R, Di Marco G, Di Lisa F, u. a. Identification of an ATP-sensitive potassium channel in mitochondria. *Nature*. August 2019;572(7771):609–13.
127. Zorova LD, Popkov VA, Plotnikov EY, Silachev DN, Pevzner IB, Jankauskas SS, u. a. Mitochondrial membrane potential. *Anal Biochem*. 1. Juli 2018;552:50–9.

128. Heinen A, Camara AKS, Aldakkak M, Rhodes SS, Riess ML, Stowe DF. Mitochondrial Ca<sup>2+</sup>-induced K<sup>+</sup> influx increases respiration and enhances ROS production while maintaining membrane potential. *Am J Physiol Cell Physiol*. Januar 2007;292(1):C148-156.
129. Kleinbongard P, Skyschally A, Heusch G. Cardioprotection by remote ischemic conditioning and its signal transduction. *Pflugers Arch*. Februar 2017;469(2):159–81.
130. Cho YJ, Kim WH. Perioperative Cardioprotection by Remote Ischemic Conditioning. *Int J Mol Sci*. 29. September 2019;20(19):E4839.
131. Totzeck M, Hendgen-Cotta U, Rassaf T. Concepts of hypoxic NO signaling in remote ischemic preconditioning. *World J Cardiol*. 26. Oktober 2015;7(10):645–51.
132. Basalay MV, Mastitskaya S, Mrochek A, Ackland GL, Del Arroyo AG, Sanchez J, u. a. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) mediates cardioprotection by remote ischaemic conditioning. *Cardiovasc Res*. Dezember 2016;112(3):669–76.
133. Surendra H, Diaz RJ, Harvey K, Tropak M, Callahan J, Hinek A, u. a. Interaction of  $\delta$  and  $\kappa$  opioid receptors with adenosine A1 receptors mediates cardioprotection by remote ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol*. Juli 2013;60:142–50.
134. Randhawa PK, Jaggi AS. Opioids in Remote Ischemic Preconditioning-Induced Cardioprotection. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. März 2017;22(2):112–21.
135. Heusch G. The Coronary Circulation as a Target of Cardioprotection. *Circ Res*. 13. Mai 2016;118(10):1643–58.
136. Huhn R, Heinen A, Hollmann MW, Schlack W, Preckel B, Weber NC. Cyclosporine A administered during reperfusion fails to restore cardioprotection in prediabetic Zucker obese rats in vivo. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. Dezember 2010;20(10):706–12.
137. Heinen A, Huhn R, Smeele KMA, Zuurbier CJ, Schlack W, Preckel B, u. a. Helium-induced preconditioning in young and old rat heart: impact of mitochondrial Ca<sup>2+</sup> -sensitive potassium channel activation. *Anesthesiology*. November 2008;109(5):830–6.
138. Heinen A, Ströthoff M, Schmidt A, Stracke N, Behmenburg F, Bauer I, u. a. Pharmacological options to protect the aged heart from ischemia and reperfusion injury by targeting the PKA-BK(Ca) signaling pathway. *Exp Gerontol*. August 2014;56:99–105.
139. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM. Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. Oktober 1987;21(10):737–46.

140. Sandhu R, Diaz RJ, Mao GD, Wilson GJ. Ischemic preconditioning: differences in protection and susceptibility to blockade with single-cycle versus multicycle transient ischemia. *Circulation*. 5. August 1997;96(3):984–95.
141. Vanhaecke J, Xhonneux R, Flameng W. A comparison of two methods for estimating the area at risk in experimental myocardial infarction. *Basic Res Cardiol*. Juni 1986;81(3):231–7.
142. Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ. Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am J Pathol*. Dezember 1985;121(3):522–30.
143. Yunoki M, Nishio S, Ukita N, Anzivino MJ, Lee KS. Hypothermic preconditioning induces rapid tolerance to focal ischemic injury in the rat. *Exp Neurol*. Juni 2003;181(2):291–300.
144. Kohlhauer M, Berdeaux A, Ghaleh B, Tissier R. Therapeutic hypothermia to protect the heart against acute myocardial infarction. *Arch Cardiovasc Dis*. Dezember 2016;109(12):716–22.
145. Cohen MV, Yang X-M, Downey JM. Acidosis, oxygen, and interference with mitochondrial permeability transition pore formation in the early minutes of reperfusion are critical to postconditioning's success. *Basic Res Cardiol*. September 2008;103(5):464–71.
146. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC. Differential effects of anesthetics on mitochondrial K(ATP) channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology*. Juli 2002;97(1):15–23.
147. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Schaub MC. Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K(ATP) channels via multiple signaling pathways. *Anesthesiology*. Juli 2002;97(1):4–14.
148. Zhong C, Zhou Y, Liu H. Nuclear factor kappaB and anesthetic preconditioning during myocardial ischemia-reperfusion. *Anesthesiology*. März 2004;100(3):540–6.
149. Lange M, Smul TM, Blomeyer CA, Redel A, Klotz K-N, Roewer N, u. a. Role of the beta1-adrenergic pathway in anesthetic and ischemic preconditioning against myocardial infarction in the rabbit heart in vivo. *Anesthesiology*. September 2006;105(3):503–10.
150. Zhao J, Wang F, Zhang Y, Jiao L, Lau WB, Wang L, u. a. Sevoflurane preconditioning attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury via caveolin-3-dependent cyclooxygenase-2 inhibition. *Circulation*. 10. September 2013;128(11 Suppl 1):S121-129.
151. Novalija E, Stowe DF. Prior preconditioning by ischemia or sevoflurane improves cardiac work per oxygen use in isolated guinea pig hearts after global ischemia. *Adv Exp Med Biol*. 1998;454:533–42.
152. Julier K, da Silva R, Garcia C, Bestmann L, Frascarolo P, Zollinger A, u. a. 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*. Juni 2003;98(6):1315–27.
153. De Hert SG, Van der Linden PJ, Cromheecke S, Meeus R, Nelis A, Van Reeth V, u. a. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing coronary surgery with cardiopulmonary bypass are related to the modalities of its administration. *Anesthesiology*. August 2004;101(2):299–310.
  154. Garcia C, Julier K, Bestmann L, Zollinger A, von Segesser LK, Pasch T, u. a. Preconditioning with sevoflurane decreases PECAM-1 expression and improves one-year cardiovascular outcome in coronary artery bypass graft surgery. *Br J Anaesth*. Februar 2005;94(2):159–65.
  155. Bein B, Renner J, Caliebe D, Hanss R, Bauer M, Fraund S, u. a. The effects of interrupted or continuous administration of sevoflurane on preconditioning before cardio-pulmonary bypass in coronary artery surgery: comparison with continuous propofol. *Anaesthesia*. Oktober 2008;63(10):1046–55.
  156. Piriou V, Mantz J, Goldfarb G, Kitakaze M, Chiari P, Paquin S, u. a. Sevoflurane preconditioning at 1 MAC only provides limited protection in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a randomized bi-centre trial. *Br J Anaesth*. November 2007;99(5):624–31.
  157. Frässdorf J, Borowski A, Ebel D, Feindt P, Hermes M, Meemann T, u. a. Impact of preconditioning protocol on anesthetic-induced cardioprotection in patients having coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. Juni 2009;137(6):1436–42, 1442.e1-2.
  158. Lu Y, Wang L, Liu N, Dong T, Li R. Sevoflurane preconditioning in on-pump coronary artery bypass grafting: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Anesth*. 2016;30(6):977–86.
  159. Berger MM, Huhn R, Oei GT, Heinen A, Winzer A, Bauer I, u. a. Hypoxia induces late preconditioning in the rat heart in vivo. *Anesthesiology*. Dezember 2010;113(6):1351–60.
  160. Zhang Y, Irwin MG, Wong TM. Remifentanyl Preconditioning Protects against Ischemic Injury in the Intact Rat Heart. *Anesthesiology*. 1. Oktober 2004;101(4):918–23.
  161. Yu CK, Li Y-H, Wong GTC, Wong TM, Irwin MG. Remifentanyl preconditioning confers delayed cardioprotection in the rat. *Br J Anaesth*. November 2007;99(5):632–8.
  162. Javadov SA, Lim KH, Kerr PM, Suleiman MS, Angelini GD, Halestrap AP. Protection of hearts from reperfusion injury by propofol is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc Res*. 14. Januar 2000;45(2):360–9.
  163. Ko SH, Yu CW, Lee SK, Choe H, Chung MJ, Kwak YG, u. a. Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Anesth Analg*. Oktober 1997;85(4):719–24.

164. Kamada N, Kanaya N, Hirata N, Kimura S, Namiki A. Cardioprotective effects of propofol in isolated ischemia-reperfused guinea pig hearts: role of KATP channels and GSK-3 $\beta$ . *Can J Anaesth*. September 2008;55(9):595–605.
165. Hanouz J-L, Yvon A, Flais F, Rouet R, Ducouret P, Bricard H, u. a. Propofol decreases reperfusion-induced arrhythmias in a model of „border zone“ between normal and ischemic-reperfused guinea pig myocardium. *Anesth Analg*. November 2003;97(5):1230–8.
166. Kobayashi I, Kokita N, Namiki A. Propofol attenuates ischaemia-reperfusion injury in the rat heart in vivo. *Eur J Anaesthesiol*. Februar 2008;25(2):144–51.
167. De Hert SG, Cromheecke S, ten Broecke PW, Mertens E, De Blier IG, Stockman BA, u. a. Effects of propofol, desflurane, and sevoflurane on recovery of myocardial function after coronary surgery in elderly high-risk patients. *Anesthesiology*. August 2003;99(2):314–23.
168. Lindholm EE, Aune E, Norén CB, Seljeflot I, Hayes T, Otterstad JE, u. a. The anesthesia in abdominal aortic surgery (ABSENT) study: a prospective, randomized, controlled trial comparing troponin T release with fentanyl-sevoflurane and propofol-remifentanyl anesthesia in major vascular surgery. *Anesthesiology*. Oktober 2013;119(4):802–12.
169. Lurati Buse GAL, Schumacher P, Seeberger E, Studer W, Schuman RM, Fassl J, u. a. Randomized comparison of sevoflurane versus propofol to reduce perioperative myocardial ischemia in patients undergoing noncardiac surgery. *Circulation*. 4. Dezember 2012;126(23):2696–704.
170. Lou P-H, Lucchinetti E, Zhang L, Affolter A, Schaub MC, Gandhi M, u. a. The mechanism of Intralipid®-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):e87205.
171. Zaugg M, Lou P-H, Lucchinetti E, Gandhi M, Clanachan AS. Postconditioning with Intralipid emulsion protects against reperfusion injury in post-infarct remodeled rat hearts by activation of ROS-Akt/Erk signaling. *Transl Res*. 2017;186:36-51.e2.
172. Rahman S, Li J, Bopassa JC, Umar S, Iorga A, Partownavid P, u. a. Phosphorylation of GSK-3 $\beta$  mediates intralipid-induced cardioprotection against ischemia/reperfusion injury. *Anesthesiology*. August 2011;115(2):242–53.
173. Lucchinetti E, Lou P-H, Gandhi M, Clanachan AS, Zaugg M. Differential Effects of Anesthetics and Opioid Receptor Activation on Cardioprotection Elicited by Reactive Oxygen Species-Mediated Postconditioning in Sprague-Dawley Rat Hearts. *Anesth Analg*. 2018;126(5):1739–46.
174. Rossouw JE. Hormones, genetic factors, and gender differences in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 15. Februar 2002;53(3):550–7.
175. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*. 10. Juni 1999;340(23):1801–11.

176. Bae S, Zhang L. Gender differences in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in adult rat hearts: focus on Akt and protein kinase C signaling. *J Pharmacol Exp Ther.* Dezember 2005;315(3):1125–35.
177. Cavasin MA, Tao Z, Menon S, Yang X-P. Gender differences in cardiac function during early remodeling after acute myocardial infarction in mice. *Life Sci.* 17. September 2004;75(18):2181–92.
178. Wang M, Crisostomo P, Wairiuko GM, Meldrum DR. Estrogen receptor-alpha mediates acute myocardial protection in females. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* Juni 2006;290(6):H2204-2209.
179. Song X, Li G, Vaage J, Valen G. Effects of sex, gonadectomy, and oestrogen substitution on ischaemic preconditioning and ischaemia-reperfusion injury in mice. *Acta Physiol Scand.* April 2003;177(4):459–66.
180. Turcato S, Turnbull L, Wang G-Y, Honbo N, Simpson PC, Karliner JS, u. a. Ischemic preconditioning depends on age and gender. *Basic Res Cardiol.* Mai 2006;101(3):235–43.
181. Lieder HR, Irmert A, Kamler M, Heusch G, Kleinbongard P. Sex is no determinant of cardioprotection by ischemic preconditioning in rats, but ischemic/reperfused tissue mass is for remote ischemic preconditioning. *Physiol Rep.* 2019;7(12):e14146.
182. Kersten JR, Gross GJ, Pagel PS, Wartier DC. Activation of adenosine triphosphate-regulated potassium channels: mediation of cellular and organ protection. *Anesthesiology.* Februar 1998;88(2):495–513.
183. Kersten JR, Toller WG, Gross ER, Pagel PS, Wartier DC. Diabetes abolishes ischemic preconditioning: role of glucose, insulin, and osmolality. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* April 2000;278(4):H1218-1224.
184. Lejay A, Fang F, John R, Van JAD, Barr M, Thaveau F, u. a. Ischemia reperfusion injury, ischemic conditioning and diabetes mellitus. *J Mol Cell Cardiol.* Februar 2016;91:11–22.
185. Kristiansen SB, Løfgren B, Støttrup NB, Khatir D, Nielsen-Kudsk JE, Nielsen TT, u. a. Ischaemic preconditioning does not protect the heart in obese and lean animal models of type 2 diabetes. *Diabetologia.* Oktober 2004;47(10):1716–21.
186. Miki T, Miura T, Ura N, Ogawa T, Suzuki K, Shimamoto K, u. a. Captopril potentiates the myocardial infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning through bradykinin B2 receptor activation. *J Am Coll Cardiol.* 15. November 1996;28(6):1616–22.
187. Kocsis GF, Pipis J, Fekete V, Kovács-Simon A, Odendaal L, Molnár E, u. a. Lovastatin interferes with the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning and postconditioning in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* Mai 2008;294(5):H2406-2409.

188. Wu G, Wang L, Li J, Zhu W. Effects of glibenclamide, glimepiride, and gliclazide on ischemic preconditioning in rat heart. *Chin Med Sci J*. September 2007;22(3):162–8.
189. Hausenloy DJ, Whittington HJ, Wynne AM, Begum SS, Theodorou L, Riksen N, u. a. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and GLP-1 reduce myocardial infarct size in a glucose-dependent manner. *Cardiovasc Diabetol*. 22. Oktober 2013;12:154.
190. Ye Y, Perez-Polo JR, Aguilar D, Birnbaum Y. The potential effects of anti-diabetic medications on myocardial ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. November 2011;106(6):925–52.
191. Ferdinandy P, Hausenloy DJ, Heusch G, Baxter GF, Schulz R. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning. *Pharmacol Rev*. Oktober 2014;66(4):1142–74.
192. Suematsu Y, Anttila V, Takamoto S, del Nido P. Cardioprotection afforded by ischemic preconditioning interferes with chronic beta-blocker treatment. *Scand Cardiovasc J*. Oktober 2004;38(5):293–9.
193. Boengler K, Schulz R, Heusch G. Loss of cardioprotection with ageing. *Cardiovasc Res*. 15. Juli 2009;83(2):247–61.
194. Schulman D, Latchman DS, Yellon DM. Effect of aging on the ability of preconditioning to protect rat hearts from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. Oktober 2001;281(4):H1630-1636.
195. Boengler K, Konietzka I, Buechert A, Heinen Y, Garcia-Dorado D, Heusch G, u. a. Loss of ischemic preconditioning's cardioprotection in aged mouse hearts is associated with reduced gap junctional and mitochondrial levels of connexin 43. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. April 2007;292(4):H1764-1769.
196. Abete P, Ferrara N, Cioppa A, Ferrara P, Bianco S, Calabrese C, u. a. Preconditioning does not prevent postischemic dysfunction in aging heart. *J Am Coll Cardiol*. Juni 1996;27(7):1777–86.
197. Abete P, Ferrara N, Cacciatore F, Madrid A, Bianco S, Calabrese C, u. a. Angina-induced protection against myocardial infarction in adult and elderly patients: a loss of preconditioning mechanism in the aging heart? *J Am Coll Cardiol*. Oktober 1997;30(4):947–54.
198. Lee T-M, Su S-F, Chou T-F, Lee Y-T, Tsai C-H. Loss of preconditioning by attenuated activation of myocardial ATP-sensitive potassium channels in elderly patients undergoing coronary angioplasty. *Circulation*. 22. Januar 2002;105(3):334–40.
199. Watanabe M, Okada T. Langendorff Perfusion Method as an Ex Vivo Model to Evaluate Heart Function in Rats. *Methods Mol Biol*. 2018;1816:107–16.

200. Lindsey ML, Bolli R, Canty JM, Du X-J, Frangogiannis NG, Frantz S, u. a. Guidelines for experimental models of myocardial ischemia and infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1. April 2018;314(4):H812–38.
201. Rossello X, Hall AR, Bell RM, Yellon DM. Characterization of the Langendorff Perfused Isolated Mouse Heart Model of Global Ischemia-Reperfusion Injury: Impact of Ischemia and Reperfusion Length on Infarct Size and LDH Release. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. Mai 2016;21(3):286–95.
202. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation*. Dezember 1982;66(6):1146–9.
203. Kloner RA, Bolli R, Marban E, Reinlib L, Braunwald E. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. *Circulation*. 12. Mai 1998;97(18):1848–67.
204. Ferrera R, Benhabbouche S, Bopassa JC, Li B, Ovize M. One hour reperfusion is enough to assess function and infarct size with TTC staining in Langendorff rat model. *Cardiovasc Drugs Ther*. August 2009;23(4):327–31.
205. Goyal A, Agrawal N. Ischemic preconditioning: Interruption of various disorders. *J Saudi Heart Assoc*. April 2017;29(2):116–27.

## Danksagungen

Ich möchte mich bei nachstehenden Personen, ohne deren Unterstützung ich diese Promotionsschrift nicht hätte anfertigen können, von ganzem Herzen bedanken.

Mein außerordentlicher Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. med. Ragnar Huhn-Wientgen für die freundliche Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung, die immer gewährte Hilfe bei Fragen und Problemen sowie seine Geduld.

Ich möchte mich bei den Mitgliedern der Arbeitsgruppe, im Besonderen bei Frau Dr. med. Carolin Torregroza und Frau Dr. med. Katharina Feige, und darüber hinaus bei Frau Dr. med. Lilli vom Bruch für ihre Hilfsbereitschaft und die konstruktiven Diskussionen bedanken.

Meiner Familie und vor allem meinem Mann möchte ich für den uneingeschränkten Rückhalt in jeder Lebenssituation danken.