

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

Einfluss des Anästhesieverfahrens auf die pharmakologische Präkonditionierung mit Levosimendan

Dissertation

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

vorgelegt von
Maximilian Falk
2023

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

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

Zweitgutachter: PD Dr. Dr. med. André Heinen

Für meine Eltern

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Bunte, S., Lill, T., **Falk, M.**, Stroethoff, M., Raupach, A., Mathes, A., Heinen, A., Hollmann, M., Huhn, R., (2019), Impact of Anesthetics on Cardioprotection Induced by Pharmacological Preconditioning, *Journal of Clinical Medicine*, 8(3), 396

Zusammenfassung

Angesichts der hohen Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen innerhalb und außerhalb der Klinik stellt die Kardioprotektion ein hochrelevantes Forschungsfeld dar. Auch im Rahmen größerer Operationen oder in der Intensivmedizin ist der Schutz des Myokards vor akuten Ischämie-Schäden - besonders bei kardial vorbelasteten Patientinnen und Patienten - eine wesentliche Aufgabe des medizinischen Personals und wird deshalb intensiv erforscht. Das Medikament Levosimendan (Lev) wird bereits klinisch zur Herzinsuffizienztherapie eingesetzt und zeigt in verschiedenen grundlagenwissenschaftlichen Studien kardioprotektive Eigenschaften. So wurde bereits im Tiermodell gezeigt, dass eine Applikation von Levosimendan unmittelbar vor einer myokardialen Ischämie den Schaden deutlich reduzieren kann und infarktgrößenreduzierend wirkt. Dieses Prinzip wird als pharmakologische Präkonditionierung bezeichnet. Angesichts der bislang erfolglosen Translation von diversen vielversprechenden infarktgrößenreduzierenden Präkonditionierungsstrategien in die klinische Praxis werden vermehrt mögliche Störfaktoren untersucht. Neben Komorbiditäten gibt es auch Hinweise darauf, dass eine Komedikation Einfluss auf Präkonditionierungseffekte nehmen kann. Im Verdacht steht hierbei unter Anderem das Anästhetikum Propofol (Pro), für das eine Aufhebung von verschiedenen kardioprotektiven Strategien im Tiermodell bereits beschrieben wurde. Die vorliegende Arbeit untersucht, ob die Anästhetika Propofol, Sevofluran (Sev) und Dexmedetomidin (Dex) den bereits gezeigten präkonditionierenden Effekt von Levosimendan auf einen myokardialen Ischämie-Reperfusionsschaden im Tiermodell beeinflussen.

Es wurden Herzen von männlichen Wistar-Ratten in acht Gruppen (7-8 Herzen/Gruppe) randomisiert und *ex vivo* im Langendorff-Modell untersucht. Bei einer retrograden Perfusion mit Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) über die Aorta bei einem Druck von 80 mmHg wurde folgendes Versuchsprotokoll durchgeführt: Auf eine 15-minütige Stabilisierungsphase und eine 15-minütige Substanzgabe (Präkonditionierung sowie Anästhetikum) folgte eine 33-minütige Ischämie und zuletzt eine 60-minütige Reperusionsphase. Für die Präkonditionierung wurde entweder 0,3 μM Levosimendan oder eine Kontrolllösung (KHP) vor der Ischämiezeit für zehn Minuten appliziert. Als Anästhetikum wurde 11 μM Propofol, 1,5 nM Dexmedetomidin, 2,5 Vol-% Sevofluran bzw. eine Kontrolllösung (KHP) für 15 Minuten vor der Ischämiezeit und während der gesamten Reperusionszeit gegeben. Die Applikation aller Substanzen (bis auf Sevofluran) erfolgte dabei mit 1 % des Koronarflusses. Im Anschluss wurden die Infarktgrößen am Myokard mittels einer Triphenyl-Tetrazoliumchlorid-Färbung bestimmt. Die statistische Auswertung der Infarktgrößen erfolgte mittels einer einfaktoriellen Varianzanalyse, gefolgt von einem Tukey post-hoc Test.

Die Infarktgröße der Kontrollgruppe ohne Levosimendan und ohne ein Anästhetikum (KHP-Kon) betrug 53 ± 9 % und konnte durch die Präkonditionierung mit Levosimendan (KHP-Lev) signifikant auf 34 ± 4 % ($p < 0,05$ vs. KHP-Kon) reduziert werden. Eine Infarktgrößenreduktion nach vorheriger Levosimendangabe konnte unter dem Einfluss von Propofol nicht beobachtet werden (Pro-Lev: 52 ± 8 %, ns vs. KHP-Kon). Unter dem Einfluss von Dexmedetomidin sowie Sevofluran blieb der infarktgrößenreduzierende Effekt von Levosimendan hingegen erhalten (Dex-Lev: 36 ± 6 %, Sev-Lev: 33 ± 7 %; $p < 0,05$ vs. KHP-Kon). Propofol, Dexmedetomidin und Sevofluran alleine beeinflussten die Infarktgröße nicht (Pro-Kon: 56 ± 9 %, Dex-Kon: 53 ± 9 %, Sev-Kon: 56 ± 8 %, ns vs. KHP-Kon).

Die Ergebnisse zeigten, dass Propofol - im Gegensatz zu Sevofluran und Dexmedetomidin - einen inhibierenden Effekt auf den kardioprotektiven Effekt von Levosimendan hatte. Wie die Inhibition durch Propofol induziert wird und ob diese Effekte auch auf eine *in vivo* Situation übertragbar sind, muss in weiteren Studien untersucht werden.

Abstract

Cardiovascular diseases are the most common cause of death worldwide. Thus, the field of cardioprotection is a relevant area of research. Intensive care medicine and surgery – especially on patients with cardiovascular risk factors – are examples of specialties where cardioprotection is crucial due to the high prevalence and complications of cardiovascular diseases.

Levosimendan, a drug being used in the context of heart failure, has shown cardioprotective properties in preclinical studies. For instance, in animal studies levosimendan lead to a reduction of infarction size if administered before myocardial ischemia. This principle is called pharmacological preconditioning. However, the transition of pharmacological preconditioning strategies from bench to bedside failed until now. It remains to be shown which interfering mechanisms are responsible. Data suggests that comedication such as the hypnotic propofol can have a negative influence on preconditioning strategies. The present study is investigating whether propofol (Pro), sevoflurane (Sev) and dexmedetomidine (Dex) are influencing the preconditioning effect of levosimendan in an ischemia/reperfusion model in rats.

Hearts from male Wistar rats were divided into eight groups (7-8 hearts per group) and were examined in an *ex vivo* Langendorff model. Krebs-Henseleit buffer (KHP) was used for retrograde perfusion of the hearts through the aorta (pressure: 80 mmHg). After a 15-minute baseline and a 15-minute drug-administration phase the hearts underwent a 33-minute ischemia and a 60-minute reperfusion phase. For preconditioning, 0.3 μ M levosimendan or a control substance (KHP) were given for a period of 10 minutes before the ischemic-period. As anesthetics either 11 μ M propofol, 1.5 nM dexmedetomidine, 2.5 Vol-% sevoflurane or a control substance (KHP) were administered for 15 minutes before ischemia as well as for the whole reperfusion-period. All substances (except sevoflurane) were administered with 1 % of the coronary flow. After the experiments, infarct sizes were measured with triphenyltetrazoliumchloride staining. The statistical analysis of the infarct size was executed by a one-way ANOVA, followed by a Tukey post-hoc test.

The infarct size of the control group (KHP-Con) was 53 ± 9 %. Levosimendan (KHP-Lev) reduced the infarct size significantly to 34 ± 4 % ($p < 0,05$ vs. KHP-Con). When levosimendan was given together with propofol (Pro-Lev), it didn't show any reduction in infarct size (52 ± 8 %, ns). On the other hand, levosimendan reduced the infarct size when combined with dexmedetomidine (Dex-Lev) (36 ± 6 %; $p < 0.05$ vs. KHP-Con) and sevoflurane (Sev-Lev) (33 ± 7 %; $p < 0,05$ vs. KHP-Con). When administered without levosimendan, propofol (56 ± 9 %), dexmedetomidine (53 ± 9 %) and sevoflurane (56 ± 8 %) did not affect the infarct size compared with the control group.

Taken together, the results showed an inhibiting effect of propofol on the cardioprotective properties of levosimendan whereas sevoflurane and dexmedetomidine didn't affect the infarct size reduction by levosimendan. The mechanisms of the effect of propofol on levosimendan-preconditioning remain unclear as well as the implication on *in vivo* scenarios. These aspects have to be addressed in future studies.

Abkürzungsverzeichnis

ACS	<i>acute coronary syndrome</i>
AKT	Serin/Threonin-Proteinkinase
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
ATP	Adenosintriphosphat
AV	Anästhesieverfahren
bpm	<i>beats per minute</i>
cm²	Quadratzentimeter
Ca₂₊	Calcium
CABG	<i>coronary artery bypass graft</i>
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CCS	<i>chronic coronary syndrome</i>
CF	<i>coronary flow</i>
Dex	Dexmedetomidin
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylen-diamintetra-Essigsäure
eNOS	<i>endothelial nitric oxid synthase</i>
ERK	<i>extracellular-signal regulated kinase</i>
ESC	<i>European Society of Cardiology</i>
g	Gramm
GPCR	G-Protein gekoppelten Rezeptoren
GSK3β	Glykogen Synthase Kinase 3 β
H⁺	Wasserstoffproton
HR	<i>heart rate</i>
IPC	<i>ischemic preconditioning</i>
IRS	Ischämie-Reperfusion-Schaden
JAK	Januskinase
K⁺	Kalium
KHP	Krebs-Henseleit-Puffer
Kon	Kontrolle
l/min	Liter pro Minute
Lev	Levosimendan
LVDP	<i>left ventricular developed pressure</i>
LVP_{max}	<i>maximal left ventricular pressure</i>

LVP_{min}	<i>minimal left ventricular pressure</i>
MINS	<i>myocardial injury after noncardiac surgery</i>
mK_{ATP}	mitochondriale ATP-abhängige Kaliumkanäle
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
Na⁺	Natrium
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
nM	Nanomolar
PCI	<i>percutaneous coronary intervention</i>
PI3K	Phosphatdylinositol 3-Kinase
PK	Präkonditionierung
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PKG	Proteinkinase G
PMI	<i>perioperative myocardial injury</i>
prä-IS	präischämische Substanzgabephase
Pro	Propofol
Rep30	frühe Reperfusionphase (30. Minute)
Rep60	späte Reperfusionphase (60. Minute)
RIPC	<i>remote ischemic preconditioning</i>
RISK	<i>reperfusion injury salvage kinase</i>
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
SAFE	<i>survival activating factor enhancement</i>
SD	Standardabweichung
Sev	Sevofluran
SP	Stabilisierungsphase
SR	sarkoplasmatisches Retikulum
STAT	<i>signal transducers and activators of transcription</i>
TTC	Tetrazoliumchlorid
Vol-%	Volumen-Prozent
ZETT	zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Akute myokardiale Ischämie	1
1.1.1	Definition, Epidemiologie	1
1.1.2	Relevanz im perioperativen Umfeld	1
1.1.3	Pathophysiologie des Ischämie- und Reperfusionsschadens.....	3
1.1.4	Therapie.....	5
1.1.5	Kardioprotektion im perioperativen Kontext.....	6
1.2	Präkonditionierungsstrategien.....	7
1.2.1	Ischämische Präkonditionierung	7
1.2.2	Mechanismen der ischämischen Konditionierung.....	8
1.2.3	Pharmakologische Präkonditionierung	10
1.3	Levosimendan.....	10
1.3.1	Wirkmechanismen	10
1.3.2	Levosimendan in der Präkonditionierung.....	11
1.4	Möglicher Einfluss von Anästhetika auf präkonditionierende Effekte.....	12
1.4.1	Anästhetika als mögliche Störfaktoren auf die Präkonditionierung..	12
1.4.2	Propofol.....	12
1.4.3	Sevofluran.....	13
1.4.4	Dexmedetomidin	14
1.5	Ziele der Arbeit.....	15
2	Material & Methoden	16
2.1	Versuchstiere	16
2.2	Genutzte Substanzen.....	16
2.2.1	Krebs-Henseleit-Puffer.....	16
2.2.2	Levosimendan.....	17
2.2.3	DMSO	18
2.2.4	Propofol.....	19
2.2.5	Dexmedetomidin	19
2.2.6	Sevofluran.....	20
2.2.7	Andere verwendete Substanzen.....	21
2.3	Langendorff-Anlage, Laborgeräte und Software	21
2.3.1	Langendorff-Anlage	21

2.3.2	Laborgeräte.....	23
2.3.3	Software.....	24
2.4	Versuchsaufbau	24
2.4.1	Versuchsprotokoll	24
2.4.2	Herzentnahme	26
2.4.3	Versuchsdurchführung.....	27
2.4.4	Hämodynamik-Auswertung.....	28
2.4.5	Färbung der Herzen.....	29
2.4.6	Auswertung der Herzbilder	31
2.4.7	Statistische Auswertung.....	31
3	Ergebnisse	32
3.1	Rattengewichte, Herzgewichte und ischämische Kontraktur	32
3.2	Infarktgrößen.....	33
3.3	Hämodynamik	34
3.3.1	Erhobene Parameter und Zeitpunkte.....	34
3.3.2	Herzfrequenz	34
3.3.3	Left ventricular developed pressure (LVDP).....	34
3.3.4	Koronarfluss.....	35
4	Diskussion	37
4.1	Levosimendan-Präkonditionierung.....	38
4.1.1	Diskussion der Infarktgrößenreduktion	38
4.1.2	Diskussion der Hämodynamik	39
4.2	Einfluss von Propofol auf Levosimendan-Präkonditionierung.....	42
4.3	Einfluss von Sevofluran auf Levosimendan-Präkonditionierung	45
4.4	Einfluss von Dexmedetomidin auf Levosimendan-Präkonditionierung ...	47
4.5	Limitationen.....	48
4.6	Schlussfolgerung und Ausblick	50
5	Literaturverzeichnis	52

1 Einleitung

1.1 Akute myokardiale Ischämie

1.1.1 Definition, Epidemiologie

Ischämien des Myokards und die damit verbundene ischämische Herzkrankheit sind der häufigste Grund für Sterbefälle weltweit [1]. Die auch als koronare Herzkrankheit bezeichnete Erkrankung verursachte im Jahr 2019 laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) 8,9 Millionen Todesfälle. Dies machte 16 % aller registrierten Todesfälle aus [1].

Die *European Society of Cardiology* (ESC) teilt die klinischen Erscheinungsformen der ischämischen Herzkrankheit in ihrer aktuellen Leitlinie in zwei Unterformen ein: Erstens das akute Koronarsyndrom (*acute coronary syndrome* [ACS]) und zweitens das chronische Koronarsyndrom (*chronic coronary syndrome* [CCS]) [2]. Während beim CCS eine in der Regel langsam zunehmende Minderperfusion der Koronararterien im Vordergrund steht, kommt es beim ACS zu einer akuten Minderperfusion und damit zu einer akuten Myokardischämie. Das ACS resultiert häufig in einer Nekrose (Infarzierung) des betroffenen Myokards [3]. Durch den resultierenden Myokardinfarkt wurden im Jahr 2019 alleine in Deutschland 44.282 Todesfälle registriert [4].

1.1.2 Relevanz im perioperativen Umfeld

Auch im Rahmen von Operationen kann es zu einer ischämischen kardialen Schädigung kommen [5]. Kardiale Komplikationen tragen maßgeblich zu verlängerten Krankenhausaufenthalten [6, 7], erhöhter perioperativer Mortalität [8] sowie zu erhöhten Gesundheitskosten [7, 9] bei.

Bei den kardialen Komplikationen ist neben der Untersuchung von perioperativ auftretenden Myokardinfarkten [10] auch die Untersuchung von anderen prognostisch relevanten Myokardschädigungen wichtig [8, 11, 12]. Ein Myokardinfarkt mit seinen Definitionskriterien stellt nämlich nur einen Teil der perioperativ auftretenden Myokardschädigungen dar [8]. Ein akuter

Myokardschaden wird durch einen Anstieg bzw. Abfall des kardialen Enzyms Troponin definiert. Hierbei muss das Troponin zu mindestens einem Erhebungszeitpunkt erhöht sein. Der Myokardschaden ist dabei sowohl eine Voraussetzung für die Definition des Myokardinfarkts als auch eine Entität für sich [13].

Die an diese Definition angelehnte Entität der perioperativen Myokardschädigungen [14] wird in der Literatur oft als *perioperative myocardial injury* (PMI) [11] oder *myocardial injury after noncardiac surgery* (MINS) [8] bezeichnet. Das Auftreten einer PMI bzw. MINS ist häufig und ein starker Risikofaktor für perioperative Letalität [8, 11].

Auch im kardiochirurgischen Umfeld spielt eine akute Myokardschädigung eine große Rolle. Die wichtigste Ursache ist hier eine myokardiale Ischämie [15], hinzu kommen einige operationstechnische Besonderheiten: Zum Beispiel wird unter dem Einsatz der Herz-Lungen-Maschine mit zeitweiser Abklemmung der Blutzufuhr zum Herzen (*cross-clamping*) ein iatrogener ischämischer Myokardschaden in Kauf genommen, um etwa eine Koronarbypass-Operation (*coronary artery bypass graft* [CABG]) durchführen zu können [15]. Ebenso kann es durch chirurgische Manipulation zu einem direkten Myokardschaden kommen [15]. Unter anderem diese kardiochirurgischen Besonderheiten führen häufig zu postoperativen Troponin-Erhöhungen [16]. Die oben genannte Troponin-Dynamik als Surrogatparameter für eine Myokardschädigung spielt hier eine Rolle für die postoperative Prognose [17-19].

Die demografische Entwicklung sowie eine Zunahme an Komorbiditäten wie Diabetes mellitus, Adipositas oder arterielle Hypertonie führt dazu, dass ein zunehmender Anteil der Operationen an Patientinnen und Patienten mit kardialen Risikofaktoren durchgeführt wird [20]. Auch die Gesamtzahl der Operationen steigt weltweit an und wurde für das Jahr 2012 auf etwa 310 Millionen beziffert [21]. Im Vergleich zum Jahr 2008 entsprach dies einem Anstieg von 33 % [21]. Da mit zunehmendem Alter und mit dem Auftreten von Komorbiditäten das Risiko für eine perioperative kardiale Myokardschädigung stark ansteigt [22], wird der Umgang hiermit voraussichtlich in Zukunft eine zunehmend wichtige Rolle für das globale Gesundheitssystem spielen.

1.1.3 Pathophysiologie des Ischämie- und Reperfusionsschadens

Auf pathophysiologischer Ebene ist in vielen Fällen eine Ischämie für die perioperative Myokardschädigung verantwortlich [12, 15, 23]. Obgleich eine definitionsgebende Troponin-Erhöhung auch durch nicht ischämische kardiale oder extra-kardiale Ursachen verursacht werden kann, ist spätestens beim Vorliegen der Kriterien für einen Myokardinfarkt von einer ursächlichen Ischämie auszugehen [13].

Die Mechanismen, die im perioperativen Kontext zu der Ischämie führen, sind noch nicht abschließend geklärt [13]. Bei der Untersuchung von perioperativen Myokardinfarkten werden vor allem zwei Mechanismen angeführt: Je nach Studienkohorte wird entweder eine Bedarfsischämie mit verstärktem Sauerstoffbedarf bei oft vorbestehender arteriosklerotischer Koronarstenosierung [24, 25] oder eine Plaqueruptur mit konsekutiver Koronarthrombose [26, 27] als häufigste Ursache angegeben. Im Spezialfall der Herzchirurgie kommt etwa bei CABG-Operationen ein Versagen der operierten Bypässe (*acute graft failure*) [28] oder die operationsbedingte Kardioplegie mit *cross-clamping* der Aorta als wichtige Ursache für einen perioperativen Myokardinfarkt bzw. Myokardschädigung hinzu [15].

Unter Laborbedingungen kommt es im Falle einer akuten myokardialen Ischämie makroskopisch zu einer Nekrosezone am Myokard, die sich bereits nach 20-40 Minuten (min) Ischämiezeit im Hundeherz zu formieren beginnt [29]. Mit Aufrechterhaltung der Ischämie breitet sie sich von subendokardial nach subepikardial aus [29]. Der hier sichtbare Zelltod ist das Ergebnis verschiedener zellulärer Mechanismen, die mit der Unterbindung der Blutzufuhr beginnen. Der zelluläre Schaden endet hierbei nicht mit der Wiederherstellung des Blutflusses, sondern wird paradoxerweise durch die Reperfusion verstärkt, wie es Jennings *et al.* im Jahr 1960 [30] erstmals zeigen konnten. Deshalb spricht man auch vom Ischämie-Reperfusionsschaden (IRS). Dies macht die Reperfusion zu einem zweischneidigen Schwert, da eine frühzeitige Aufhebung der Ischämie durch Reperfusion essentiell für die Therapie ist [31].

Die Liste der zum IRS beitragenden Faktoren ist lang und noch nicht vollständig geklärt, wichtige Bausteine aber hinreichend untersucht. Die Minderperfusion führt über im Folgenden erklärte miteinander vernetzte Mechanismen unter anderem zu vier Phänomenen: einer Azidose, einer Dysfunktion der Ionentransporter und

Ionenkanäle, einer übermäßigen Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies und einer Calcium-Überladung [31].

Die Minderperfusion und damit eine Hypoxie führt zu einer gestörten Adenosintriphosphat (ATP)-Produktion in den Mitochondrien, da der Prozess der oxidativen Phosphorylierung Sauerstoff als Substrat benötigt. Dies entzieht der Zelle die Voraussetzung für die Aufrechterhaltung der Homöostase, für die ATP die Energie aufbringt. Zur Kompensation wird die aerobe Energiegewinnung auf die anaerobe Glykolyse umgestellt und versucht den Energiemangel so teilweise zu kompensieren [32]. Die resultierende Laktat-Akkumulation, die zudem durch eine verminderte hypoperfusionsbedingte Ausschwemmung verstärkt wird, erniedrigt den intrazellulären pH-Wert. Die daraus resultierende intrazelluläre Protonen-Akkumulation führt unter anderem zu einem erhöhten Austausch von Protonen (H^+) mit Natrium (Na^+) aus dem Extrazellulärraum über Na^+/H^+ -Kanäle und somit zu einem Natriumeinstrom [33, 34]. Außerdem führt der ATP-Mangel zu einer Dysfunktion der ATP-abhängigen Transporter und somit auch der Na^+/K^+ -ATPase, die ein wesentlicher Stabilisator des Membranpotentials darstellt. Die geringere Aktivität der Na^+/K^+ -ATPase trägt zu einem weiteren intrazellulären Konzentrationsanstieg von Natrium bei. Dies führt wiederum zu einem energieunabhängigen Calciumeinstrom über Na^+/Ca^{2+} -Austauschkanäle [35]. Die konsekutiven hohen intrazellulären Calcium-Konzentrationen führen unter anderem über eine Aktivierung von Phospholipasen zu Schäden der Zellmembran und damit zur Nekrose [36, 37]. In den Mitochondrien führt eine hohe Calcium-Konzentration zur erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit der sogenannten mitochondrialen Permeabilitäts-Transitions-Pore (mPTP) [38]. Diese Pore fungiert als unspezifischer Kanal für Ionen und führt bei längerer Öffnung zum Anschwellen der Mitochondrien. Dadurch kommt es durch die Ruptur der äußeren Mitochondrienmembran zum Untergang des Mitochondriums und folglich zum Zelltod [39]. Allerdings reduziert ein niedriger pH-Wert während der Ischämiephase die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP beträchtlich [40]. Im Rahmen der Reperfusion kommt es unter anderem durch Protonen- und Laktatmetabolisierung zu einer raschen Normalisierung des pH-Wertes, was die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP begünstigt.

Die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) ist ein weiterer Prozess, der im Rahmen der Reperfusion und somit Reoxygenierung eine Rolle spielt. Die ROS erhöhen die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP, locken Entzündungszellen an

und stören die Funktion des sarkoplasmatischen Retikulums (SR) [41]. Dadurch verliert das SR, welches als wichtiger Calcium-Speicher fungiert, Calcium an den Intrazellulärraum und verstärkt die schädigende Calcium-Überladung [41].

Neben dem Zelltod durch Nekrose spielen auch Apoptose [31, 42], Nekroptose [31, 43] und Pyroptose beim IRS eine Rolle [31, 42]. Während bei der Apoptose die Integrität der Zellmembran erhalten bleibt, führen sowohl die Nekroptose als auch die Pyroptose über eine Porenbildung in der Zellmembran zu einer Aufhebung der zellulären Integrität [31]. Welcher Zelltodmechanismus zu welchem Anteil am IRS beteiligt ist, ist aktuell noch ungeklärt [31]. Zusammengenommen bestimmt das Ausmaß des myokardialen Zelltods die Größe des Herzinfarktes. Die Infarktgröße ist ein wesentlicher Marker für die Prognose von Herzinfarktpatientinnen und Patienten [44, 45].

Zuletzt sei neben dem myokardialen Zelltod noch auf einige andere pathophysiologische Aspekte hingewiesen, die im Rahmen eines IRS eine wichtige Rolle spielen. Diese beinhalten Arrhythmien [46, 47], potentiell reversible Störungen der Kontraktilität (*stunning*) [48, 49] und eine koronare Mikrozirkulationsstörung [50, 51].

Zusammenfassend tragen unter anderem die oben genannten Mechanismen dazu bei, dass dem Herz in Folge eines IRS eine akute Insuffizienz droht und dieses so die lebenswichtige Aufrechterhaltung des Kreislaufs nicht mehr leisten kann.

1.1.4 Therapie

Um den oft fatalen Folgen eines IRS vorzubeugen, ist eine rasche Wiederherstellung eines ausreichenden koronaren Blutflusses essentiell [31]. Eine Infarktgrößenreduktion durch Reperfusion wurde erstmals 1974 an Hunden nachgewiesen [52] und wurde zwei Jahre später erstmals mittels einer intrakoronaren Thrombolyse beim Menschen durchgeführt [53]. Die Reperfusion erfolgt heute vor allem interventionell mittels der sogenannten perkutanen transluminalen Angioplastie (*percutaneous coronary intervention* [PCI]) und in einigen Fällen mittels einer medikamentösen Thrombolyse [3, 54]. Die Kombination aus modernen medikamentösen und interventionellen Therapien haben die Letalität einer akuten Myokardischämie deutlich gesenkt [55, 56]. So sank beispielsweise die Mortalitätsrate für Herzinfarkte zwischen 1985 und 2010 jährlich durchschnittlich um 3,4 % [57].

1.1.5 Kardioprotektion im perioperativen Kontext

Trotz der erzielten Fortschritte im Bereich der Therapie bleibt die akute Myokardischämie ein hochrelevantes Krankheitsbild mit hoher Morbidität und Mortalität. Das gilt auch für den perioperativen Kontext, wobei hier die bereits genannten Entwicklungen der Demografie, der Komorbiditäten und des Operationsaufkommens eine zunehmende Herausforderung darstellen. Unter anderem diese Punkte sind Anlass für viele Forschungsgruppen weltweit weitere Methoden zu entwickeln, die das Herz vor den Folgen eines IRS schützen.

Ein bereits eingetretener Myokardinfarkt bzw. Myokardschaden kann nur noch während der Ischämie- oder Reperfusionphase beeinflusst werden. Im innerklinischen Kontext könnte man hingegen unter bestimmten Umständen zeitlich vor einem eventuell auftretenden IRS intervenieren. So bestünde etwa bei Patientinnen und Patienten mit einem ausgeprägten kardialen Risikoprofil, die sich einer geplanten Operation unterziehen, die Möglichkeit eine gegebenenfalls auftretende perioperative kardiale Ischämie bereits vor ihrem Auftreten günstig zu beeinflussen. Dies wäre insbesondere bei elektiven Operationen im Bereich der Kardio- und Gefäßchirurgie denkbar, die zum Teil eine geplante Ischämiezeit beinhalten [58, 59].

Bisher beschränken sich die präventiven kardioprotektiven Maßnahmen im perioperativen Kontext vor allem auf eine kardiovaskuläre Risikostratifizierung, eine Verringerung von intraoperativen Stressoren wie Hypotension sowie eine dem Risiko angepasste hämodynamische Überwachung [12]. Dies dient neben der Vermeidung auch der frühen Erkennung von Myokardschädigungen.

Ein Prinzip, welches dieses begrenzte Maßnahmenpaket möglicherweise ergänzen könnte, ist die im Folgenden besprochene Präkonditionierung. Diese ist seit Jahrzehnten im Fokus vieler Forschungsgruppen und liefert vor allem im Tiermodell vielversprechende Daten.

1.2 Präkonditionierungsstrategien

1.2.1 Ischämische Präkonditionierung

Im Jahr 1986 konnten Murray *et al.* eine Kardioprotektion vor IRS durch Infarktgrößenreduktion mit dem Prinzip der ischämischen Präkonditionierung (*ischemic preconditioning* [IPC]) zeigen [60]. Hierbei wurde in *in vivo* Hunderversuchen zur Induktion eines IRS der Blutfluss einer Koronararterie für 40 min unterbunden und danach wiederhergestellt. Während die Kontrollgruppe nur diesem IRS ausgesetzt war, kamen für die zweite Gruppe drei vorangehende fünfminütige Zyklen von Unterbindung und Wiederherstellung der Blutzufuhr derselben Koronararterie hinzu. Interessanterweise zeigte sich nach Bestimmung der Infarktgrößen am Ende der Versuche für die Behandlungsgruppe eine deutliche Infarktgrößenreduktion im Vergleich zur Kontrollgruppe. Demnach hatten kurze Phasen von Ischämie und Reperfusion Prozesse in Gang gesetzt, die das Myokard teilweise vor einem IRS schützten. Diese Vorbereitung bzw. Konditionierung des Myokards auf einen IRS ging unter dem Namen IPC fortan in die Literatur ein.

Nachdem dieser Effekt in vielen Versuchen unter anderem im Myokard der Ratte bestätigt wurde [61], fanden sich in einer Studie von Yellon *et al.* aus dem Jahr 1993 erstmals Hinweise auf eine erfolgreiche Übertragung auf den Menschen. Im Rahmen von CABG-Operationen wurden die Hälfte der Patientinnen und Patienten vor dem Anschließen der Bypässe einer IPC unterzogen [62]. Basierend auf einem im Gruppenvergleich erhöhten ATP-Gehalt in Myokardbiopsien der präkonditionierten Herzen nach der Ischämiephase schlossen die Autoren auf eine mögliche Kardioprotektion durch IPC beim Menschen [62]. Eine 15 Jahre später veröffentlichte Metaanalyse fasste 22 in der Zwischenzeit durchgeführte klinische Studien zur IPC im kardiochirurgischen Rahmen zusammen [63]. Dabei reduzierte eine IPC im Vergleich zur Kontrollgruppe die Notwendigkeit einer Inotropikagabe sowie das Vorkommen von ventrikulären Arrhythmien und verkürzte die Liegedauer auf der Intensivstation [63].

Aufgrund der invasiven Natur und der Gefahr von thromboembolischen Ereignissen durch die Manipulation an oft stark arteriosklerotisch veränderten Gefäßen fand die IPC jedoch nie den Weg in die reguläre klinische Anwendung [64]. Die Entdeckung der IPC war allerdings der Ausgangspunkt für die Erforschung weiterer Konditionierungsstrategien, die sich sowohl in der Art der Konditionierung als auch

in der zeitlichen Anwendung in Bezug auf die Ischämie unterscheiden. Unter anderem konnte gezeigt werden, dass eine ischämische Präkonditionierung der Extremitäten ebenfalls zu einer deutlichen Infarktgrößenreduktion am Herzen im Tiermodell führt [65]. Das beobachtete Phänomen bekam den Namen der ischämischen Fernpräkonditionierung (*remote ischemic preconditioning* [RIPC]). Allerdings zeigten auch hier große multizentrische Studien wie die RIPHeart- [66] oder ERICCA-Studie [67] aus dem Jahr 2015 keinen positiven Einfluss auf das klinische Outcome.

1.2.2 Mechanismen der ischämischen Konditionierung

Das Feld der Kardioprotektion blieb angesichts vielversprechender Daten aus der Grundlagenforschung, trotz der bislang fehlenden Translation von IPC und RIPC aus dem Labor in die Klinik, ein wichtiges Forschungsfeld. Dadurch wurden unter anderem einige Signalwege aufgedeckt, die an der Kardioprotektion durch IPC bzw. RIPC beteiligt sind. Die bisher entdeckten Signalwege bilden ein komplexes Geflecht, welches unterschiedlich klassifiziert werden kann.

Grob vereinfachend können die Signaltransduktionswege in einer zeitlichen und räumlichen Dimension unterschieden werden [68]. In der zeitlichen Dimension führt eine IPC oder RIPC zur Aktivierung von Signalwegen, die über Mediatoren auf intrazelluläre Effektoren wirken [68, 69]. Sie wirken so zeitlich über das konditionierende Ereignis hinaus kardioprotektiv [69]. In der räumlichen Dimension klassifiziert man die Bestandteile der Signalwege nach der (sub-)zellulären Lokalisation [68]. So führt ein durch IPC/RIPC hervorgerufenen extrazelluläres Signal zur Aktivierung einer Signalkaskade in der Zelle [68]. Das Signal wirkt dabei entweder über einen membranständigen Rezeptor oder rezeptorunabhängig [68]. In der Zelle werden in der Folge zytosolische Enzyme (meist Kinasen) aktiviert, die schließlich auf die intrazellulären Effektoren wirken [68].

Zu den rezeptorabhängigen Triggern bzw. Mediatoren zählen z.B. Adenosin, Bradykinin oder Opiode [68]. Die genaue Quelle sowie Entstehungsweisen der genannten Trigger bzw. Mediatoren sind aktuell noch unklar [31].

Intrazellulär lassen sich drei Signalwege unterscheiden: Erstens ist der *eNOS/PKG*-Signalweg [68, 70] beteiligt, der unter anderem von stimulierenden G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR) aktiviert wird und die Proteinkinase A (PKA), Proteinkinase C (PKC), Proteinkinase G (PKG) sowie die endotheliale Stickstoff-

monoxid-Synthase (*endothelial nitric oxide synthase* [eNOS]) beinhaltet [31]. Zweitens ist ein Signalweg beteiligt, der von inhibierenden GPCR ausgeht und auch *reperfusion injury salvage kinase (RISK) pathway* [71] genannt wird. Er umfasst unter anderem die Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K), die Serin/Threonin-Proteinkinase (AKT), *extracellular-signal regulated kinase* (ERK) sowie die Glykogen Synthase Kinase 3 β (GSK3 β) [31]. Drittens ist der *survival activating factor enhancement (SAFE) pathway* beteiligt [72]. Er wird von Zytokin-Rezeptoren aktiviert und beinhaltet Januskinasen (JAK) sowie *signal transducers and activators of transcription* (STAT)-Proteine [31].

Diese teils interagierenden Signalwege wirken intrazellulär auf membranständige Ionenkanäle, das SR, den Zellkern und vor allem die Mitochondrien [31]. So gelten die Mitochondrien als der wichtigste Effektor der durch Konditionierung vermittelten Kardioprotektion [73]. Hier spielen unter anderem mitochondriale ATP-abhängige Kaliumkanäle (mK_{ATP}-Kanäle) [73-75] und die bereits erwähnte mPTP [76, 77] eine Rolle.

Die mK_{ATP}-Kanäle befinden sich in der inneren der beiden Mitochondrienmembranen [78] und werden durch ATP inaktiviert [78]. Eine erhöhte Öffnungswahrscheinlichkeit führt unter anderem zu einem leichten Anstieg von mitochondrialen ROS, welche eine Voraussetzung für die Kardioprotektion zu sein scheinen [79]. Hierbei gibt es Hinweise, dass ROS in einer Feedbackschleife die PKC aktivieren, die wiederum die mitochondrialen K_{ATP}-Kanäle aktiviert und ferner die mPTP-Öffnungswahrscheinlichkeit reduziert [79]. Die PKC ist wiederum Bestandteil der oben beschriebenen Signaltransduktionswege.

Neben den mK_{ATP}-Kanälen gibt es Hinweise auf das Mitwirken von mitochondrialen Calcium-sensitiven Kaliumkanälen (mBK_{Ca}-Kanäle) an kardioprotektiven Signaltransduktionswegen. Diese Kalium-Kanäle führen bei pharmakologischer Blockade zu einer Aufhebung von kardioprotektiven IPC [80] und RIPC-Effekten [81], was eine Beteiligung suggeriert. Außerdem gibt es Hinweise auf eine Verbindung zwischen der PKA-Aktivierung und einer erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit von mBK_{Ca}-Kanälen [82]. Man geht davon aus, dass die kardioprotektive Wirkung von mBK_{Ca}-Kanälen durch eine Abschwächung einer mitochondrialen Calcium-Überladung [82], einer mitochondrialen ROS-Produktion [83] und reduziertem oxidativem Stress während der Reperfusion [84] vermittelt wird.

Als einer der wichtigsten Effektoren bei Konditionierungsstrategien gilt die mPTP [31]. So führen die Signalkaskaden, die durch IPC bzw. RIPC ausgelöst werden, zu einer Beeinflussung der Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP [31]. Neben der bereits beschriebenen Interaktion zwischen den mK_{ATP} -Kanälen und mPTP ist auch die bereits oben genannte GSK3 β ein wichtiger Regulator der mPTP-Öffnungswahrscheinlichkeit. So resultiert die Aktivierung einiger Signaltransduktionswege in einer Phosphorylierung und damit Inhibierung von GSK3 β [85, 86]. Dies reduziert wiederum die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP und wirkt so kardioprotektiv [85, 86].

1.2.3 Pharmakologische Präkonditionierung

Mit der Identifizierung der Bestandteile der oben genannten Signalwege ergibt sich die Möglichkeit der pharmakologischen Einflussnahme bzw. pharmakologischen (Prä-)Konditionierung. Die Liste der im Tierversuch kardioprotektiv wirkenden Pharmaka ist lang und beinhaltet für andere Indikationen klinisch eingesetzte Substanzen wie Cyclosporin A [87], Opioide [88], volatile Anästhetika [89], Propofol (Pro) [90], Dexmedetomidin (Dex) [91] oder Levosimendan (Lev) [92].

1.3 Levosimendan

1.3.1 Wirkmechanismen

Zu den Substanzen, die in grundlagenwissenschaftlichen Studien präkonditionierende Eigenschaften zeigen konnten, zählt der Calcium-Sensitizer Levosimendan (Simdax®). Die primär im Rahmen einer akut dekompensierten schweren Herzinsuffizienz eingesetzte Substanz entfaltet ihre Wirkung im Wesentlichen über drei Mechanismen: Eine Bindung an Troponin C, eine erhöhte Öffnungswahrscheinlichkeit von vaskulären K_{ATP} -Kanälen sowie eine Aktivierung von myokardialen mK_{ATP} -Kanälen.

Erstens bindet Levosimendan selektiv an Calcium-gesättigtes Troponin C [93, 94], welches neben den anderen Troponinen I und T ein wichtiges regulatorisches Protein für die Kontraktion des Herzmuskels ist. Bei einem intrazellulären Anstieg von Calcium binden die Ionen an Troponin C und führen so zur Kontraktion der Herzmuskelzellen. Levosimendan stabilisiert den Troponin C-Calcium-Komplex [93]

und erhöht so die Kontraktilität des Myokards [95, 96]. Somit wirkt die Substanz als Calcium-Sensitizer positiv inotrop. Im Gegensatz zu anderen Inotropika wird dabei der Sauerstoffverbrauch nicht wesentlich erhöht [97].

Zweitens führt Levosimendan über eine erhöhte Öffnungswahrscheinlichkeit von K_{ATP} -Kanälen in glatten Muskelzellen von Gefäßen zu einer Vasodilatation [98, 99]. Dies wurde sowohl im arteriellen [100] als auch im venösen [99] Gefäßbett gezeigt und verbessert das myokardiale Sauerstoffangebot [101].

Drittens führt Levosimendan zur erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit der mK_{ATP} -Kanäle [102] und zeigt hierdurch in grundlagenwissenschaftlichen Studien kardioprotektive Eigenschaften im Rahmen eines IRS [92, 103].

1.3.2 Levosimendan in der Präkonditionierung

Eine Präkonditionierung, die prophylaktisch vor einem IRS schützen soll, kann auch durch Levosimendan hervorgerufen werden. So wiesen Lepran *et al.* im Jahr 2006 erstmals einen infarktreduzierenden Effekt einer Levosimendan-Präkonditionierung im isolierten Kaninchen-Herz nach [92]. Die Autoren beobachteten in diesem *ex vivo* Experiment in der Kontrollgruppe eine Infarktgröße von 52 % [Standardabweichung (SD) \pm 2 %], die unter dem Einfluss von 0,1 μ M Levosimendan in der Präkonditionierung auf 45 % (SD \pm 2 %) reduziert werden konnte. Dieser Effekt konnte auch von anderen Arbeitsgruppen an Meerschweinchen sowie Ratten bestätigt [103-105] und auf beteiligte Mechanismen untersucht werden. So fanden sich Hinweise auf die Beteiligung einiger bereits genannter Bestandteile der kardioprotektiven Signalwege. Vor allem der *RISK-pathway* mit einer vermehrten ERK- [103, 106] bzw. PI3K/AKT-Aktivität [107] scheint eine Rolle zu spielen. Auf mitochondrialer Ebene scheint eine erhöhte Öffnungswahrscheinlichkeit von mK_{ATP} - [103, 104, 108] und mBK_{Ca} -Kanälen [105] sowie eine verringerte $mPTP$ -Öffnungswahrscheinlichkeit [107] beteiligt zu sein. Als Effekt der Levosimendan-Präkonditionierung wurde in Zellkulturen außerdem eine verringerte Apoptose und Nekrose nachgewiesen [107]. Einige klinische Studien zeigten zudem einen positiven Effekt einer Levosimendan-Präkonditionierung [109-111].

1.4 Möglicher Einfluss von Anästhetika auf präkonditionierende Effekte

1.4.1 Anästhetika als mögliche Störfaktoren auf die Präkonditionierung

Auf der Suche nach Gründen für die bisher gescheiterte Translation von Präkonditionierungsstrategien aus dem experimentellen Bereich in klinische Szenarien stieß man auf Hinweise, dass Alter, Komorbiditäten und Komedikation einen störenden Einfluss auf Konditionierungsstrategien nehmen können [59, 112]. Als Beispiele für mögliche Störfaktoren führen Kleinbongard *et al.* Dyslipidämien, Diabetes mellitus oder den Einsatz einer Komedikation wie Nitrate oder Statine an [112]. Im operativen Kontext würde eine Präkonditionierung zwangsläufig unter dem Einfluss des Anästhesieverfahrens und somit einer Komedikation stehen. Interessanterweise weisen dabei viele Anästhetika zumindest tierexperimentell kardioprotektive Eigenschaften auf [113]. Andererseits gibt es auch Hinweise für eine Aufhebung von Präkonditionierungseffekten durch Anästhetika [112].

1.4.2 Propofol

Eine im klinischen Alltag besonders häufig eingesetzte Substanz ist das Hypnotikum Propofol. Es moduliert die Aktivität des zentralen Nervensystems über die Interaktion mit verschiedenen Ionenkanälen und führt je nach Dosis zur Anxiolyse, Amnesie und Bewusstlosigkeit [114]. Außerdem wirkt die Substanz atemdepressiv und kann durch eine negativ inotrope und vasodilatative Wirkung zu Blutdruckabfällen führen [114]. Die Substanz wurde 1973 entdeckt und 1988 in Deutschland zugelassen [114]. Propofol wird in der ambulanten und stationären Anästhesie häufig für die Narkoseeinleitung und -aufrechterhaltung verwendet [115]. Das Hypnotikum kann außerdem zur Sedierung während ambulanter Eingriffe oder bei Patientinnen und Patienten auf der Intensivstation verwendet werden [115].

Seine Rolle in Bezug auf Kardioprotektion ist paradox. Einerseits gibt es besonders für hohe Propofoldosierungen einige Hinweise auf präkonditionierende Effekte [90, 116, 117]. So zeigten Ko *et al.*, dass eine Perfusion mit 100 μM Propofol im Langendorff-Modell zu einer Abschwächung des IRS im Vergleich zur Kontrollgruppe führte [90]. Dies machten die Autoren an einer Änderung der

Hämodynamik (verringertes linksventrikulärer enddiastolischer Druck) sowie an histologischen Begutachtungen der Herzen fest. Andererseits existieren für die These der negativen Beeinflussung von Präkonditionierungsstrategien durch Propofol einige tierexperimentelle sowie klinische Hinweise. So wurden etwa in Untersuchungen von beteiligten Signaltransduktionswegen [118], der postoperativen Troponin-Dynamik [119, 120] sowie der Mortalität [121] unter dem Einfluss einer RIPC ein störender Effekt durch Propofol angedeutet.

Im Tiermodell zeigten Lucchinetti *et al.* beispielsweise, dass ein kardioprotektiver Effekt einer Intralipid-Postkonditionierung durch eine peri-ischämische Applikation von Propofol im isolierten Herzmodell der Ratte aufgehoben werden konnte [122]. Auch in dieser Arbeit dienten hämodynamische Parameter als Endpunkt (*“recovery of left ventricular work“* [122]).

Inwiefern Propofol eine pharmakologische Präkonditionierung durch Levosimendan im Tiermodell beeinflusst, ist - soweit bekannt - unklar.

1.4.3 Sevofluran

Eine ebenfalls klinisch sehr häufig eingesetzte Substanz ist das volatile Anästhetikum Sevofluran. Es wirkt hypnotisch und schwach analgetisch [123]. Ähnlich wie bei Propofol kann es dosisabhängig zur respiratorischen sowie kardiovaskulären Depression kommen [123]. Die dahinter stehenden Wirkmechanismen sind komplex und schließen eine Modulation von inhibitorischen sowie exzitatorischen Rezeptoren im zentralen Nervensystem ein [124]. Sevofluran ist seit Mitte der 1990er Jahre in Deutschland zugelassen [125] und kann sowohl für die Narkoseeinleitung als auch die Narkoseaufrechterhaltung von Kindern und Erwachsenen verwendet werden [123].

Die Substanz zeigt neben ihrer narkotisierenden Wirkung in grundlagenwissenschaftlichen Studien auch kardioprotektive Effekte, die beispielsweise im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung untersucht wurden [126, 127]. So konnten Riess *et al.* im Langendorff-Modell an Meerschweinchen zeigen, dass eine Sevofluran-Exposition vor einer Ischämie zu einer signifikanten Infarktgrößenreduktion führt [127]. Hier wurde in einer Sevofluran-Behandlungsgruppe eine durchschnittliche Infarktgröße von 28 % (SD \pm 9 %) beobachtet, verglichen mit 52 % (SD \pm 7 %) in der Kontrollgruppe ohne Sevofluran. Auch für Sevofluran gibt es einen Hinweis auf eine Beeinflussung von

RIPC-Effekten [128]. So übertrugen Cho *et al.* menschliches Blutplasma in einem Translationsversuch auf ein *ex vivo* Modell an Rattenherzen [128]. Das Blutplasma wurde Patientinnen und Patienten nach einer RIPC entnommen, die jeweils unter dem Einfluss eines Anästhesieverfahrens (Propofol oder Sevofluran) standen. Während Blutplasma der RIPC-Gruppe, welches nicht unter dem Einfluss eines Anästhesieverfahrens stand, zu einer Infarktgrößenreduktion im Rattenherz führte, konnte der RIPC-Effekt weder unter Propofol- noch unter Sevofluran-Einfluss reproduziert werden.

Inwiefern Sevofluran eine pharmakologische Präkonditionierung durch Levosimendan im Tiermodell beeinflusst, ist - soweit bekannt - unklar.

1.4.4 Dexmedetomidin

Ein Sedativum, welches im perioperativen Kontext an Wichtigkeit gewinnen könnte, ist Dexmedetomidin. Der hochselektive α_2 -Adrenozeptor-Agonist wirkt unter anderem sedierend, analgetisch, anxiolytisch und sympathikolytisch [129, 130]. Die seit 2011 in Europa zugelassene Substanz [131] war initial nur für die Sedierung von Intensivpatientinnen und Patienten indiziert. Nach der Empfehlung der *European Medicines Agency* von 2018 [132] ist die Substanz in Europa auch für die Sedierung vor oder während diagnostischen oder chirurgischen Maßnahmen zugelassen.

Wie viele andere Anästhetika weist auch Dexmedetomidin in verschiedenen *in vivo* sowie *ex vivo* Tiermodellen kardioprotektive Eigenschaften auf [133]. Auch im Rattenherz zeigte eine Dexmedetomidin-Präkonditionierung eine infarktgrößenreduzierende Wirkung [91]. So konnten Okada *et al.* im isolierten Rattenherzen eine signifikante Infarktgrößenreduktion von 45,3% (SD \pm 3,7 %) in der Kontrollgruppe auf 21,2 % (SD \pm 2,3 %) unter dem Einfluss von 10 nM Dexmedetomidin beobachten [91].

Inwiefern Dexmedetomidin eine pharmakologische Präkonditionierung durch Levosimendan im Tiermodell beeinflusst, ist - soweit bekannt - unklar.

1.5 Ziele der Arbeit

Vor dem Hintergrund der bisher fehlenden Translation von kardialen Konditionierungsstrategien aus dem experimentellen Bereich in den klinischen Alltag ist die Untersuchung möglicher Störfaktoren ein wichtiges Forschungsthema. Eine pharmakologische Präkonditionierung durch Levosimendan ist vor allem im perioperativen Umfeld denkbar und würde unter anderem unter dem Einfluss des Anästhesieverfahrens stehen. Da Propofol als möglicher Störfaktor bereits diskutiert wird, erscheint die Untersuchung des Effekts verschiedener Anästhetika auf eine Levosimendan-Präkonditionierung sinnvoll.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, den Einfluss mehrerer im perioperativen Kontext gebräuchlicher Anästhetika auf den bereits gezeigten präkonditionierenden Effekt von Levosimendan zu untersuchen [134]. Die zentrale Fragestellung hierbei war:

- Haben die Anästhetika Propofol, Sevofluran oder Dexmedetomidin einen Einfluss auf die Infarktgrößenreduktion durch Levosimendan nach einem Ischämie-Reperfusionsschaden?

Für die Beantwortung der Frage wurden Rattenherzen in *ex vivo* Experimenten im Langendorff-Modell untersucht und einem IRS ausgesetzt [134]. Nach den Versuchen wurden die Infarktgrößen als primärer Endpunkt bestimmt. Zudem wurden als sekundäre Endpunkte hämodynamische Parameter erhoben.

2 Material & Methoden

2.1 Versuchstiere

Die für die Organentnahme benötigten Versuchstiere stammten entweder von der Firma Janvier Labs (Le Genest Saint Isle, Frankreich) oder der internen Tierzucht der zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) der Universität Düsseldorf. Es handelte sich um durchschnittlich etwa zwei Monate alte Wistar-Ratten mit einem mittleren Gewicht von 295 g (SD \pm 17 g). Insgesamt wurden 60 Ratten für die finalen Versuchsdaten genutzt [134]. Sie wurden in der ZETT bei einer Raumtemperatur von $22 \pm 2^\circ\text{C}$, einer Luftfeuchtigkeit von $55 \pm 5\%$ und einer 22-fachen Luftumwälzrate pro Stunde gehalten. Die Raumbelichtung erfolgte mit 300-320 Lux und einem 12-stündigen Tag-Nacht-Rhythmus. Die Versuchstiere hatten freien Zugang zu Futter (Alleinfutterpellets für Ratten und Mäuse, Ssniff R/M-Haltung, 10 mm, Firma Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) und Wasser (mit Ozon behandelt und mit Salzsäure angesäuert auf einen pH-Wert zwischen 2,8 und 3). Die Käfighaltung erfolgte in Makrolon Rattenkäfigen vom Typ 4 (Fläche 1800 cm²) der Firmen Tecniplast (Hohenpeißenberg, Deutschland) oder Zoonlab (Castrop-Rauxel, Deutschland). Sie wurden mit entkeimtem Weichholzgranulat (Firma Rettenmaier & Söhne GmbH und CoKG, Rosenberg, Deutschland) ausgelegt. Die Experimente wurden nach Erhalt des Übungsscheins durch das ZETT aufgenommen, welcher eine Teilnahme an versuchstierkundlichen Einführungen bescheinigt. Das ZETT-interne Aktenzeichen für die Genehmigung der Organentnahmen lautete O27/12.

2.2 Genutzte Substanzen

2.2.1 Krebs-Henseleit-Puffer

Für die Perfusion der Herzen der Versuchstiere wurde ein modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) verwendet [134]. Die nach Hans Adolf Krebs und Kurt Henseleit benannte Lösung wurde Anfang der 1930er Jahre entwickelt und ist seit vielen Jahrzehnten eine häufig genutzte Perfusionslösung für isolierte

Organperfusionen [135]. Für das Langendorff-Modell ist es die am häufigsten eingesetzte Lösung [136]. Die für die vorliegenden Untersuchungen genutzte Zusammensetzung ist der Tabelle 1 zu entnehmen. Der Puffer wurde vor Versuchsbeginn frisch angesetzt. Die einzelnen Bestandteile wurden unter kontinuierlicher Durchmischung durch einen Rührfisch einzeln destilliertem Wasser hinzugefügt. Das Calcium wurde zur Vermeidung möglicher Calcium-Phosphat-Präzipitate erst nach Lösung aller vorherigen Bestandteile hinzugegeben. Vor Benutzung wurde die Lösung in ihrer Ionen-Zusammensetzung mittels eines Blutgas-Analysegerätes überprüft.

Name, Summenformel & Chemical Abstracts Service Nummer (CAS)	Stoffmenge [mM]	Molare Masse [g/mol]	Hersteller
Natriumchlorid (NaCl) CAS: 7647-14-5	118	58,44	VWR International bvba Geldenaaksebaan, Leuven, Belgien
Kaliumchlorid (KCl) CAS: 7447-40-7	4,7	74,56	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Magnesiumsulfat- Heptahydrat (MgSO ₂ + 7H ₂ O) CAS: 10034-99-8	1,2	246,48	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄) CAS: 7778-77-0	1,2	136,09	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃) CAS: 144-55-8	25	84,01	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
D(+)-Glukose (wasserfrei) (C ₆ H ₁₂ O ₆) CAS: 50-99-7	11	180,16	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Ethylen-diamintetra- Essigsäure (EDTA) (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈) CAS: 60-00-4	0,5	292,25	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Lactat (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈) CAS: 867-56-1	1	112,06	AppliChem GmbH, Darmstadt), Deutschland & PanReac Quimica SLU (Barcelona, Spanien)
Kalziumchlorid (CaCl ₂) CAS: 10043-52-4	2,25	110,98	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

Tabelle 1 Zusammensetzung des Krebs-Henseleit-Puffers

2.2.2 Levosimendan

Das für die Versuche verwendete Levosimendan wurde von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland) bezogen (CAS: 141505-33-1;

Produktnummer: L5545). Bei einer Summenformel von $C_{14}H_{12}N_6O$ ergibt sich eine molare Masse von 280,28 g/mol. Die Strukturformel ist Abbildung (Abb.) 1 zu entnehmen. Aus Voruntersuchungen der Arbeitsgruppe ist bekannt, dass 0,3 μ M Levosimendan im Perfusat der Rattenherzen kardioprotektiv bei einem vergleichbarem Versuchsaufbau wirken [105]. Es wurde zunächst eine Stocklösung A von 35,68 mM Lev in Dimethylsulfoxid (DMSO) angesetzt, aus der dann für den Tagesgebrauch eine Stocklösung B von 1 mM Levosimendan in KHP erstellt wurde. Für die Gabe über den Perfusor wurde aus dem Stock B eine 30 μ M Levosimendan Lösung mit einem finalen DMSO-Anteil von 0,089 % erstellt. Da die fertige Lösung mit einer Laufrate von 1 % des zuletzt gemessenen Koronarflusses appliziert wurde, ergab sich so eine Endkonzentration von 0,3 μ M Levosimendan am Herzen [134].

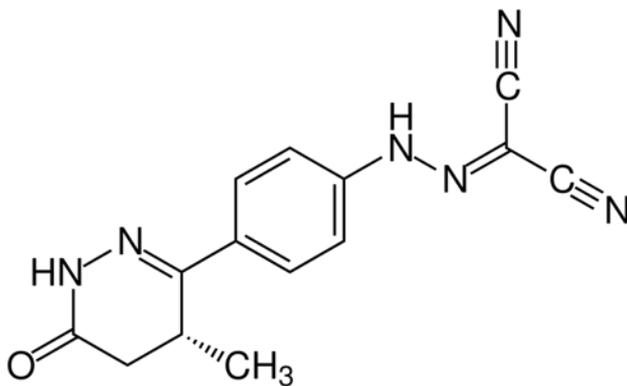


Abb. 1 Strukturformel Levosimendan

2.2.3 DMSO

Dimethylsulfoxid ist ein häufig genutztes organisches Lösungsmittel. Es wurde ebenfalls von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland) bezogen (CAS: 67-68-5; Produktnummer: D8418). Die Strukturformel ist in Abb. 2 zu sehen. Es wurde einerseits zum Lösen von Levosimendan in Stock A genutzt (siehe Abschnitt 2.2.2) und andererseits der Präkonditionierungs-Kontrolllösung (Kon) zugegeben, um einen Einfluss durch DMSO auszuschließen.

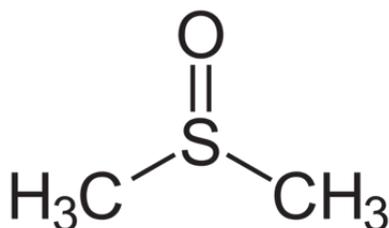


Abb. 2 Strukturformel DMSO

2.2.4 Propofol

Das Hypnotikum Propofol wurde von der Firma Fresenius Kabi Deutschland GmbH (Bad Homburg, Deutschland) bezogen (CAS: 2078-54-8; Pharmazentralnummer [PZN]: 11864821). Aus seiner Summenformel $C_{12}H_{18}O$ resultiert eine molare Masse von 178,27 g/mol. Die Strukturformel ist der Abb. 3 zu entnehmen. Es lag bei dem verwendeten Produkt als 1 %ige Öl-in-Wasser-Emulsion vor (10 mg/ml). Für die Versuche sollte eine Konzentration von 11 μ M Propofol im Perfusat der Herzen erreicht werden [134]. Hierfür wurde Propofol mit 0,9 %iger Kochsalzlösung verdünnt, um in der Spritze eine Konzentration von 1,1 mM Propofol zu erreichen. In Analogie zu Levosimendan ergab sich bei einer Laufrate von 1 % des zuletzt gemessenen Koronarflusses am Herzen eine Konzentration von 11 μ M Propofol am Myokard.

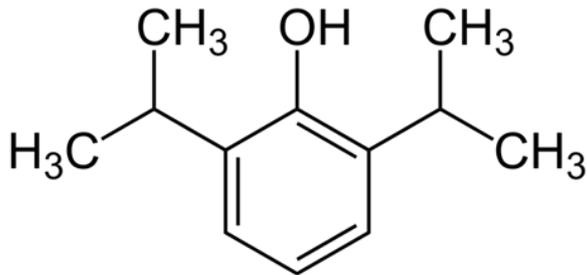


Abb. 3 Strukturformel Propofol

2.2.5 Dexmedetomidin

Dexmedetomidin wurde von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland) bezogen (CAS:145108-58-3; Produktnummer SML0956). Mit einer Summenformel von $C_{13}H_{16}N_2HCl$ ergibt sich eine molare Masse von 236,74 g/mol. Die Strukturformel ist in Abb. 4 zu sehen. Für die Versuche sollte eine Konzentration von 1,5 nM Dexmedetomidin im Perfusat der Herzen erreicht werden [134]. Dafür wurden – ähnlich wie für Levosimendan – zunächst zwei Stocklösungen (Stock A: 10 mM Dex in destilliertem Wasser und Stock B: 100 μ M Dex in destilliertem Wasser) angesetzt. In der Perfusorspritze ergab sich eine Konzentration von 150 nM Dexmedetomidin. Bei einer Laufrate von 1 % des zuletzt gemessenen Koronarflusses ergab sich am Herzen so die gewünschte Konzentration von 1,5 nM Dexmedetomidin.

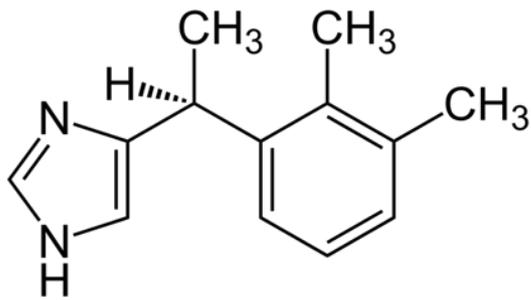


Abb. 4 Strukturformel Dexmedetomidin

2.2.6 Sevofluran

Das Sevofluran wurde von der Firma AbbVie Inc. (North Chicago, USA) bezogen (CAS: 28523-86-6). Mit einer Summenformel von $C_4H_3F_7O$ ergibt sich eine molare Masse von 200,1 g/mol. Die Strukturformel ist in Abb. 5 zu sehen. Das Sevofluran wurde mittels eines Verdampfers der Sauerstoff-Kohlenstoffdioxid-Leitung zugeführt, die im Krebs-Henseleit-Puffer mündete und diesen somit auch mit Sevofluran versetzte. Dabei wurde ein Puffergefäß nur mit Carbogen (95 % Sauerstoff + 5 % Kohlenstoffdioxid) versetzt und ein zweites mit dem Gemisch aus Sevofluran und Carbogen. So konnte nach der Stabilisierungsphase auf den mit Carbogen und Sevofluran begasten KHP gewechselt werden. Für die Versuche wurde ein Volumenanteil von 2,5 Volumen-Prozent (Vol-%) Sevofluran im Carbogen/Sevofluran-Gasgemisch angestrebt [134]. Für die Bestimmung des Narkosegasanteils wurde ein Capnomac Ultima Atemgasmonitor verwendet. Der Gasfluss für das Carbogen-Sevofluran-Gemisch wurde dabei auf 0,4 l/min eingestellt.

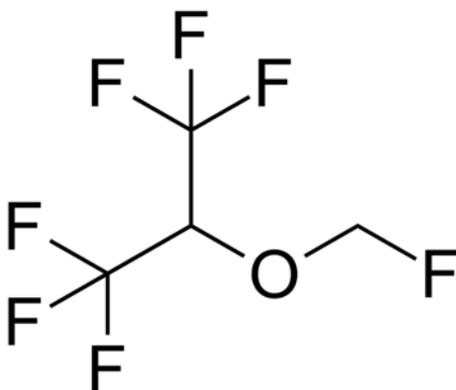


Abb. 5 Strukturformel Sevofluran

2.2.7 Andere verwendete Substanzen

Die Tabelle 2 gibt einen Überblick über weitere verwendete Medikamente, Chemikalien und Gase.

Name	Hersteller
Pentobarbital (Narcofen [®]) CAS (Chemical Abstracts Service)-Nummer: 57-33-0	Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland
Heparin (Heparin Rotexmedia 5 ml) PZN (Pharmazentralnummer): 03862340	Rotexmedica GmbH, Trittau, Deutschland
Triphenyltetrazoliumchlorid (C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄) CAS: 298-96-4	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
TRIS Pufferan [®] (C ₄ H ₁₁ NO ₃) CAS: 77-86-1	Carl Roth GmbH + Co.KG, Karlsruhe, Deutschland
Formaldehyd 37% (CH ₂ O) CAS: 50-00-0	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Salzsäure rauchend 37% (HCl) CAS: 7647-01-0	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid 0,9% Lösung (NaCl) PZN: 00809055	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland
Carbogen Gas (95% Sauerstoff, 5% Kohlenstoffdioxid)	Linde plc, Dublin, Irland
Stickstoff Gas (N ₂)	Linde plc, Dublin, Irland

Tabelle 2 Weitere verwendete Substanzen

2.3 Langendorff-Anlage, Laborgeräte und Software

2.3.1 Langendorff-Anlage

Die isolierte Herzperfusion nach Langendorff ist seit mehr als hundert Jahren ein weit verbreitetes Experimentiermodell [137]. Auch für die Untersuchung von IRS ist das Langendorff-Modell eine gut reproduzierbare Methode [137]. Die nach Oscar Langendorff benannte Methode wurde Ende des 19. Jahrhunderts etabliert [138] und seither kontinuierlich modifiziert und erweitert. Das Grundprinzip ist eine isolierte retrograde Perfusion eines Säugetierherzens über die Aorta. Hierdurch ist das Herz *ex vivo* der eingehenden Untersuchung zugänglich. Die vorliegende Anlage perfundierte die Herzen mit einem konstanten Druck von 80 mmHg [134]. Abb. 6 skizziert den schematischen Aufbau der Anlage und Tabelle 3 listet die einzelnen Bestandteile auf. Weitere Erläuterungen zur Funktionsweise des Modells sind den Abschnitten 2.4.2 und 2.4.3 zu entnehmen.

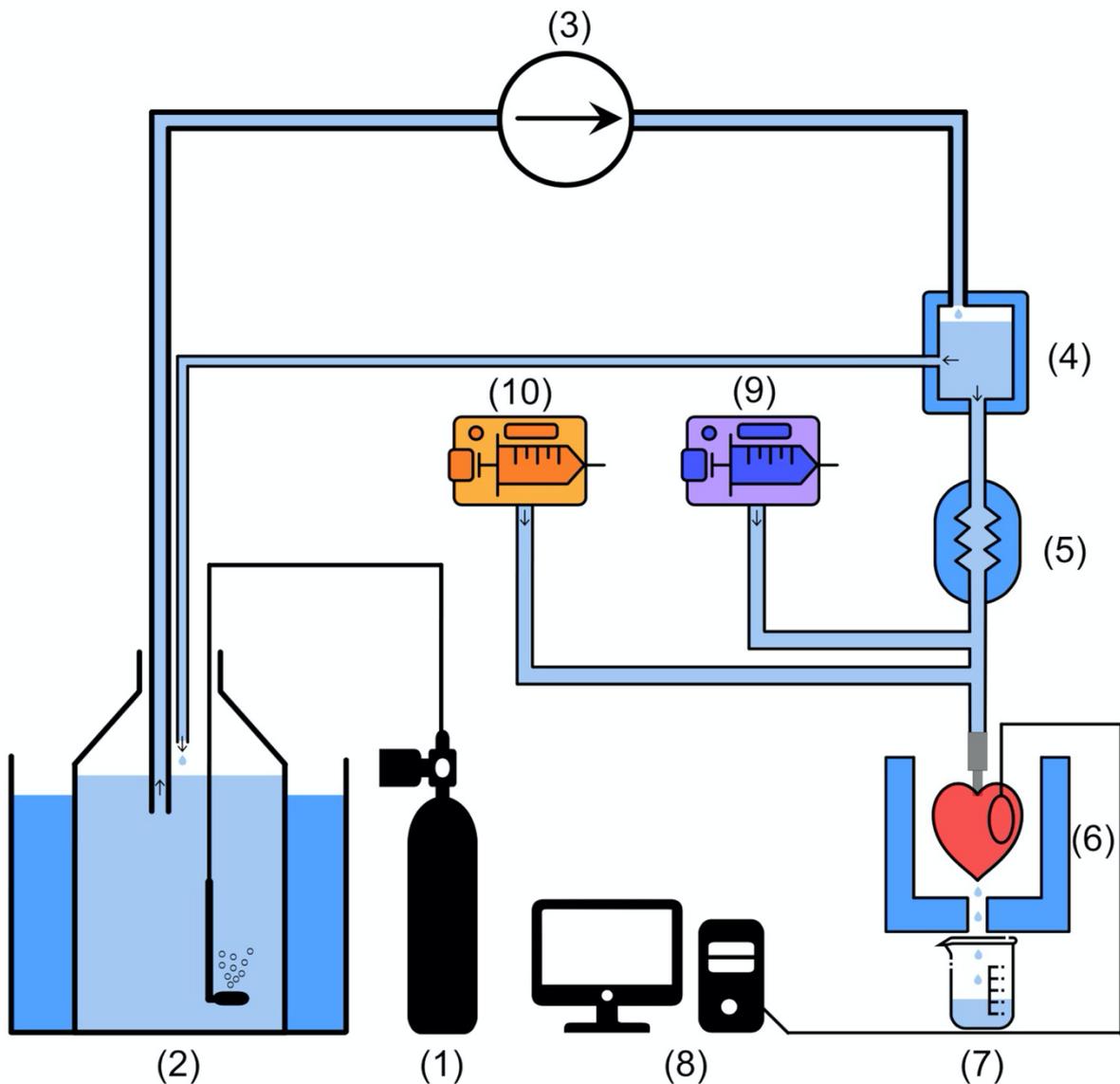


Abb. 6 Aufbau Langendorff-Anlage

Die Langendorff-Anlage setzte sich aus den folgenden Bestandteilen zusammen: Der Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) wurde kontinuierlich mit Carbogen (1) begast und befand sich in einem auf 45°C temperierten Wärmebecken (2). Mittels einer peristaltischen Rollerpumpe (3) wurde der Puffer zum Herzen transportiert und durchlief hierbei zuerst eine Luftfalle (4) und einen Wärmeaustauscher (5). Die Herzen wurden durch eine definierte Höhe der KHP-Säule mit 80 mmHg bei 37 °C perfundiert und waren an der Aortenkanüle aufgehängt (6). Nicht zum Herzen fließender KHP wurde dem Kreislauf über eine rückführende Leitung wiederzugeführt. Das Perfusat der Herzen floss über eine Wärmeglocke ab und konnte bei Bedarf zur Koronarflussbestimmung abgezweigt werden (7). Die Wärmeglocke war zusammen mit (4) und (5) Bestandteil eines weiteren Wärmekreislaufes, der einen Temperaturverlust des KHP und des Herzens vermeiden sollte. Mittels eines Druckballons in der linken Herzkammer wurden hämodynamische Daten gemessen und berechnet und an einem Rechner registriert und archiviert (8). Über Drei-Wege-Hähne waren zwei Perfusoren an die Anlage angeschlossen, über die einerseits das Anästhesieverfahren (9) und andererseits die Präkonditionierung (10) appliziert wurden. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf die Darstellung der Sevofluran-Applikation verzichtet.

Bestandteil	Name und Hersteller
Lufftfalle und Wärmeaustauscher	Individualanfertigung durch Glasbläserei Verhees, Neuss, Deutschland
Schläuche für Langendorff-Anlage	Tygon S3 E-3603 (Artikelnummer: ACF1S1504), Saint-Gobain Performance Plastics, Charny, Frankreich
Schläuche für peristaltische Rollerpumpe	Tygon LMT-55 (Artikelnummer: SC0222T), IDEX Health & Science GmbH, Wertheim, Deutschland
Peristaltische Rollerpumpe	Gilson Minipuls 3, Gilson Inc., Middleton, USA
Thermostat für Langendorff-Anlage	MW-06, Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Deutschland
Thermostat für Krebs-Henseleit-Puffer	Julabo® heating immersion circulator (Modell: EC), Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Deutschland
Druckaufnehmer & Druckwandler	MLT 844/d Physiological Pressure Transducer, Powerlab, ADInstruments, Oxford, England
Verstärker	ADInstruments Bridge Amp (ML110), AD Instruments, Oxford, England
Datenschreiber	ADInstruments Powerlab 8/30 (ML870), ADInstruments, Oxford, England
Perfusoren	Perfusor Space (Typ 8713030), B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Sevofluran-Vapor	Sevorane ® Abbott Vapor 19.3, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck, Deutschland
Monitor für Sevoflurankonzentration	Datex Ohmeda Capnomac Ultima gas monitor, Datex-Ohmeda, GE Healthcare, Chalfont St Giles, England
Eichgerät für Druckaufnehmer	HSE Druckeichgerät (Typ 367), Hugo Sachs Elektrik, March-Hugstetten, Deutschland
Guillotine	Kleintierdekapitator, Modell 7950, Ugo Basile, Comercio, Italien
Injektionskanüle	Sterican Größe Gr. 1; 0,9 x 40mm, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Faden	Polyesterfaden (Fadenstärke- USP 4/0) Resorba Medical GmbH, Nürnberg, Deutschland
3 ml Spritze	3 ml Omnifix ® Einmalspritze, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
5 ml Spritze	5 ml Omnifix ® Einmalspritze, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
20 ml Spritze	20 ml Original Perfusor ®-Spritze, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

Tabelle 3 Bestandteile der Langendorff-Anlage

2.3.2 Laborgeräte

Die Tabelle 4 gibt einen Überblick über die verwendeten Laborgeräte und Laborutensilien.

Gerät	Typ/Modell und Hersteller
Präzisionswaage	Sartorius LA230S, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland

pH-Meter	Digital pH-Meter Typ 646 #4498, Knick Elektronische Messgeräte-GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland
Thermometer	GTH 1160 Digitalthermometer, GHM GROUP- Greisinger, Regenstauf, Deutschland
Blutgasanalysegerät	Radiometer ABL800 Flex BGA-Gerätes Radiometer GmbH, Krefeld, Deutschland
Heizplatte & Magnetrührer	MR Hei-Tex & MR 2002, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland
Wasserbad	Lauda Kompaktthermostat C6 CS, Lauda DR. R. Wobser GmbH & Co. KG, Lauda- Königshofen, Deutschland
Scanner	CanonScan LiDE 700F, Canon, Tokio, Japan

Tabelle 4 verwendete Laborgeräte

2.3.3 Software

In Tabelle 5 ist die Software, die im Vorfeld sowie für die Aufzeichnung und Nachbereitung der Daten verwendet wurde, aufgelistet.

Softwaretyp	Hersteller
Software für Gruppengrößenberechnung	GraphPad StatMate Version 1.01, GraphPad Software, San Diego, USA
Aufzeichnungssoftware	LabChart 7 Reader, v. 7.3.7 (27.11.12), AD Instruments, Oxford, England
Planimetriesoftware	Sigma Scan Pro 5, Systat Software Inc., San Jose, USA
Software für Datenspeicherung und Aufbereitung	Microsoft Excel, Microsoft Corporation, Redmond, USA
Statistiksoftware	Graph Pad Prism 6, GraphPad Software, San Diego, USA & IBM SPSS Statistics, v. 27.0, IBM Corp., Armonk, USA

Tabelle 5 verwendete Software

2.4 Versuchsaufbau

2.4.1 Versuchsprotokoll

Für die vorliegenden Versuche wurden die Rattenherzen randomisiert in acht Gruppen unterteilt (Tabelle 6). Ein Versuch gliederte sich in vier Phasen (siehe Abb. 7), die für alle Gruppen galten: Eine 15-minütige Stabilisierungsphase ohne Intervention, eine 15-minütige prä-ischämische Substanzgabephase, eine 33-minütige Ischämiephase und eine 60-minütige Reperfusionphase. Zur Präkonditionierung erfolgte die Applikation von 0,3 μ M Levosimendan oder dem Vehikel 2,5 % DMSO in KHP über 10 Minuten unmittelbar vor der Ischämie [134].

Die Anästhetikum-Applikation startete fünf Minuten vor der Präkonditionierung und endete mit dem Versuchsende. Als Anästhetikum wurden 11 µM Propofol, 2,5 Vol-% Sevofluran, 1,5 nM Dexmedetomidin oder KHP als Vehikel verwendet [134]. Alle Substanzen wurden – abgesehen von Sevofluran - kontinuierlich mit einer Laufrate von 1 % des in der Stabilisierungsphase gemessenen Koronarflusses appliziert [134].

Die Gruppen setzten sich im Einzelnen wie folgt zusammen: Die ersten Gruppen erhielten die Anästhesie-Kontrolllösung und entweder die Präkonditionierungs-Kontrolllösung (KHP-Kon) oder Levosimendan (KHP-Lev) als Präkonditionierung. Die Herzen der Propofol-Gruppen erhielten Propofol als Anästhesieverfahren und entweder die Präkonditionierungs-Kontrolllösung (Pro-Kon) oder Levosimendan (Pro-Lev) als Präkonditionierung. Die Sevofluran-Gruppen erhielten Sevofluran als Anästhesieverfahren und die Präkonditionierungs-Kontrolllösung (Sev-Kon) oder Levosimendan (Sev-Lev) als Präkonditionierung. Die letzten beiden Gruppen erhielten Dexmedetomidin als Anästhesieverfahren und analog zu den anderen Gruppen entweder die Präkonditionierungs-Kontrolllösung (Dex-Kon) oder Levosimendan (Dex-Lev) als Präkonditionierung.

Die Zuteilung der Ratten zu den einzelnen Gruppen erfolgte randomisiert. Außerdem wurde jedem Versuch eine Versuchsnummer zur Verblindung zugeteilt. Es wurden nur Herzen für die Auswertung eingeschlossen, die während der Stabilisierungsphase einen regelmäßigen Herzrhythmus mit einer durchschnittlichen Frequenz (*Heart rate* [HR]) über 250/min und einen maximalen linksventrikulären Druck (*maximal left ventricular pressure* [LVP_{max}]) von mindestens 80 mmHg entwickelt hatten.

Gruppennummer und Name	Anästhesieverfahren	Präkonditionierung
KHP-Kon	Anästhesie-Kontrolllösung (KHP)	Präkonditionierungs-Kontrolllösung (97,5 % KHP + 2,5 % DMSO)
KHP-Lev	Anästhesie-Kontrolllösung (KHP)	0,3 µM Levosimendan
Pro-Kon	11 µM Propofol	Präkonditionierungs-Kontrolllösung
Pro-Lev	11 µM Propofol	0,3 µM Levosimendan
Sev-Kon	2,5 Vol-% Sevofluran	Präkonditionierungs-Kontrolllösung
Sev-Lev	2,5 Vol-% Sevofluran	0,3 µM Levosimendan
Dex-Kon	1,5 nM Dexmedetomidin	Präkonditionierungs-Kontrolllösung
Dex-Lev	1,5 nM Dexmedetomidin	0,3 µM Levosimendan

Tabelle 6 Gruppeneinteilung

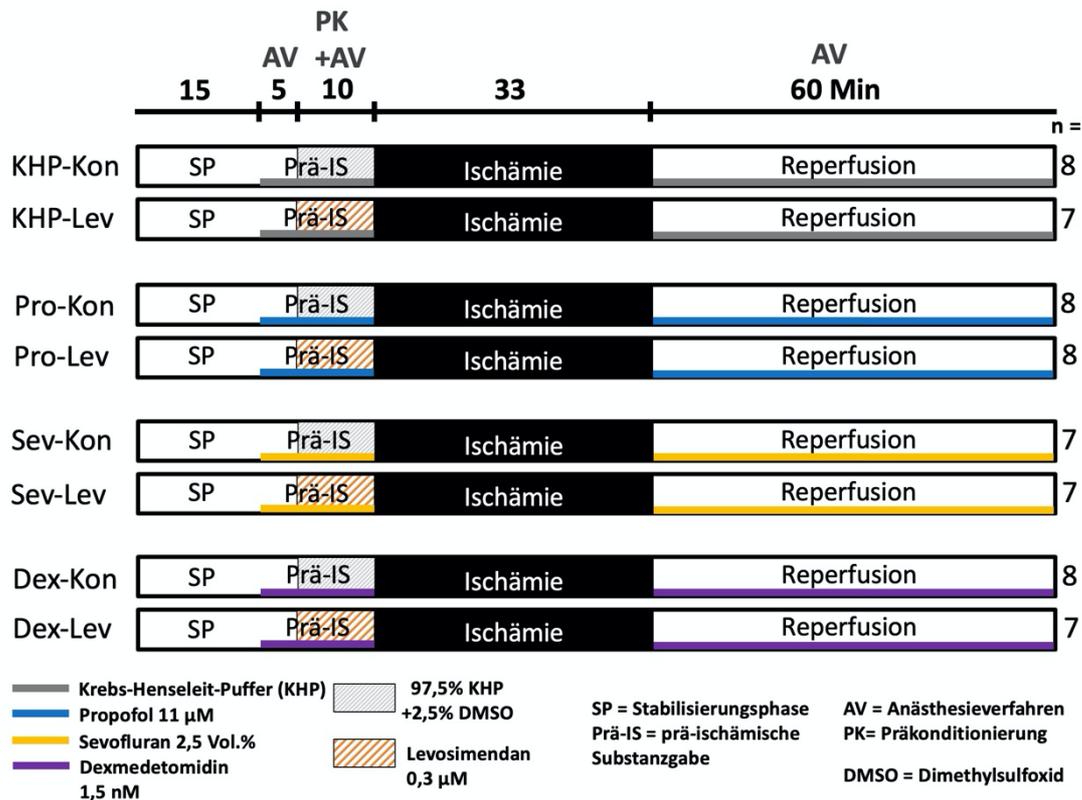


Abb. 7 Versuchsgruppen und Protokoll

Modifiziert nach Bunte *et al.* [134]

2.4.2 Herzentnahme

Am Anfang eines jeden Versuchs stand die Entnahme der Versuchsherzen. Dazu wurde der jeweiligen Ratte Pentobarbital intraperitoneal (90 mg/kg Körpergewicht [134]) - gelöst in 2 ml 0,9 %iger Natriumchlorid(NaCl)-Lösung - zur Sedierung verabreicht. Um der Bildung von Thromben vorzubeugen, wurden der Narkosespritze vor der Applikation 0,2 ml (1000 I.E.) Heparin zugegeben. Bei ausreichender Sedationstiefe wurde das Tier dekapitiert, der Brustkorb durch eine mediane Thorakotomie eröffnet und das Herz durch Entfernung des Perikards und des Thymus freigelegt. Die Aorta wurde etwa 1 cm distal des Herzabgangs abgesetzt, das Herz anschließend vorsichtig entnommen und zur Überbrückung in eine raumtemperierte 0,9 %ige NaCl-Lösung überführt. Nach der Überstülperung der stetig-tropfenden Aortenkanüle an der Langendorff-Anlage durch die Aorta und der Sicherung durch eine kleine Bulldog-Klemme wurde das Herz mit einem mehrfach geknoteten Polyesterfaden an der Aortenkanüle fixiert. Dabei kam das Ende der Kanüle wenige Millimeter vor der Aortenklappe zu liegen. Nach der Anbringung des Herzens wurde es fortan druckkonstant mit KHP perfundiert. Bei stets geschlossener Aortenklappe gelangte der Puffer dabei zuerst in die Koronargefäße,

gefolgt von dem Myokard. Schließlich floss der Puffer über den *Sinus coronarius*, den rechten Vorhof, die eröffnete untere Hohlvene und schließlich in ein Auffanggefäß. Die Zeitspanne zwischen Dekapitation und Perfusion der Herzen lag stets unter drei Minuten. Zur Messung des linksventrikulären Drucks wurde nun das linke Vorhofrohr aufgesucht und mittels einer kleinen chirurgischen Schere entfernt, um den entleerten Druckballon über den linken Vorhof in den linken Ventrikel einzuführen. Die Ballonplatzierungszeit (Zeitpunkt von Dekapitation bis zur Platzierung des Ballons im linken Ventrikel) lag hierbei stets unter fünf Minuten. Zur Druckmessung wurde der Ballon schließlich mit 0,1-0,2 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung befüllt, um das Lumen der linken Herzkammer auszufüllen und den entwickelten Druck des Herzens bestmöglich zu registrieren [134]. Der minimale (diastolische) linksventrikuläre Druck (*minimal left ventricular pressure* [LVP_{\min}]) wurde über eine Anpassung der Füllung des Ballons gesteuert und bewegte sich über die gesamte Stabilisierungsphase zwischen 4-7 mmHg [134]. Das Betätigen der Start-Taste in der aufzeichnenden Lab-Chart Software - unmittelbar nach der Füllung des Ballons - markierte den Start des Versuchs.

2.4.3 Versuchsdurchführung

Während der Versuchsdurchführung wurden die Herzen retrograd über die Aorta mit KHP bei einer konstanten Temperatur von 37°C perfundiert [134]. Dabei wurden der pH-Wert, die Partialdrücke von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid und die Elektrolytzusammensetzung mittels eines Blutgasanalyse-Gerätes vor und während des jeweiligen Versuchs mehrfach kontrolliert. Während der Versuche wurde der Puffer in einem Wärmebad auf 45°C temperiert und mit Carbogen (95% O₂ / 5% CO₂) über eine Glasfritte begast. Letzteres diente zur Aufrechterhaltung von stabilen Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidkonzentrationen sowie einem stabilen pH von 7,4 [136]. Der erwärmte Puffer wurde mittels einer Rollerpumpe kontinuierlich der Langendorff-Anlage zugeführt und durchlief zuerst eine Luftfalle, ehe er mit dem Herzen in Kontakt treten konnte. Somit wurde – neben einer gründlichen Spülung der Anlage am Versuchstagbeginn – sichergestellt, dass keine Luftembolien die Versuchsergebnisse beeinflussen würden. Die Herzen wurden mit einem konstanten Druck von 80 mmHg perfundiert. Dies wurde vor Beginn der Versuche festgehalten und dokumentiert sowie während der Versuchsreihe in zusätzlichen Versuchen mehrfach nachkontrolliert. Der Druckaufnehmer für den

Ballon im linken Ventrikel wurde täglich geeicht. Der Koronarfluss wurde zu vier Zeitpunkten manuell gemessen (siehe Abb. 8): Während der Stabilisierungsphase (Minute 11-12), unmittelbar vor der Ischämie (Minute 29-30) und während der Reperfusion (Minute 29-30 und Minute 59-60 der Reperfusion). Aus dem Koronarfluss der Stabilisierungsphase errechnete sich die Perfusorlaufrate für das Anästhesieverfahren bzw. die Präkonditionierung. So wurden die Laufraten der Perfusoren auf 1 % des in der Stabilisierungsphase gemessenen Koronarflusses eingestellt. Mit Start der Ischämie nach 30 Minuten wurden beide Perfusoren sowie die Perfusion der Herzen gestoppt. Um eine Oxygenierung über die Raumluft zu verhindern, wurden die Herzen für die Dauer der Ischämie außerdem mit 37°C-temperiertem KHP in der Wärmeglocke umgeben, der im Vorfeld mit Stickstoff gesättigt und weiter kontinuierlich mit Stickstoff begast wurde. Mit dem Ende der Ischämiezeit wurde die Perfusion der Herzen wiederaufgenommen. Traten während der Reperfusion Episoden von Kammerflimmern auf, wurden die Herzen ohne Verzug durch einen kurzen gezielten manuellen Impuls durch einen Finger des Untersuchers in den Sinusrhythmus versetzt. Nach 60 Minuten Reperfusion endete der jeweilige Versuch.

Nach dem Ablauf der Versuchszeit wurden die Herzen abgehängt, mit einer Kompresse vorsichtig abgetrocknet und zur Bestimmung des Herznassgewichts gewogen. Nach der Messung wurden die Herzen vorsichtig in eine 3 ml Spritze eingesogen und sofort bei -20°C eingefroren, um die spätere Färbung zu ermöglichen.

2.4.4 Hämodynamik-Auswertung

Aus der Aufzeichnung des linksventrikulären Drucks wurden folgende Parameter bestimmt: Die Herzfrequenz (*Heart rate* [HR]) und der minimale bzw. maximale linksventrikuläre Druck (LVP_{max} ; LVP_{min}) [134]. Zudem wurde der linksventrikulär entwickelte Druck (*left ventricular developed pressure* [LVDP]) aus der Differenz des LVP_{max} und LVP_{min} berechnet [134]. Ebenfalls wurde der Zeitpunkt und die Höhe des maximalen LVP_{min} während der Ischämiephase bestimmt [134]. Dieser wird auch als *maximal ischemic contracture* bezeichnet und ist Ausdruck des steigenden enddiastolischen Druckes in Folge der Ischämie [139]. Außerdem wurde

der Koronarfluss durch das Auffangen und Wiegen des Koronareffluents zu den Bestimmungszeitpunkten indirekt gemessen [134].

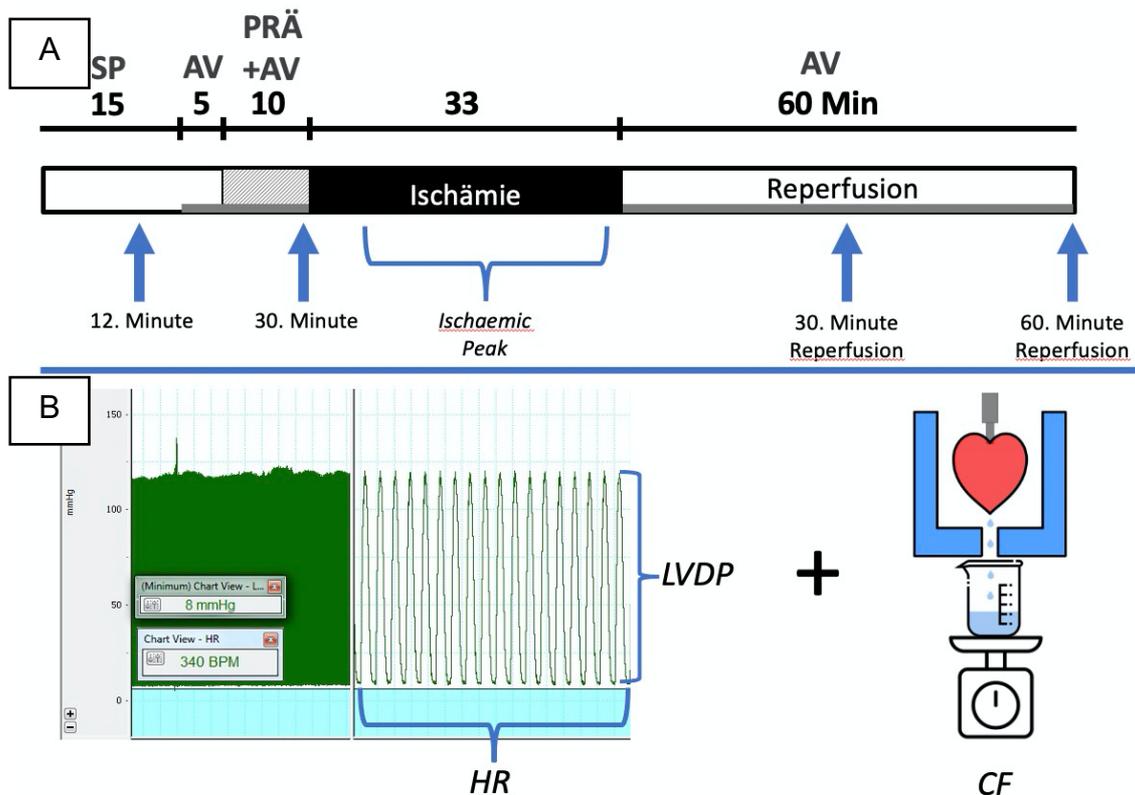


Abb. 8 Erhebungszeitpunkte und Parameter der Hämodynamik

A) Dargestellt sind die vier Zeitpunkte (blaue Pfeile), für die folgende Parameter berechnet bzw. bestimmt wurden: Die Herzfrequenz (HR), der *left ventricular developed pressure* (LVDP) sowie der *coronary flow* (CF). HR und LVDP wurden dabei den Rohdaten der Software entnommen (siehe Teil B), der CF mittels einer Abwiegung des abfließenden Koronareffluents über den Zeitraum von einer Minute (siehe Teil B). Außerdem wurde die Höhe und der Zeitpunkt des *ischaemic peaks* erfasst. AV = Anästhesieverfahren, PK = Präkonditionierung

2.4.5 Färbung der Herzen

Zur Infarktgrößenbestimmung wurde eine 0,75 %ige Tetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung durchgeführt [134]. Bei der Färbung wird die Eigenschaft des Farbstoffes Tetrazolium genutzt, im oxidierten Zustand farblos und im reduzierten Zustand (Formazan) rot zu erscheinen. Hierbei wird der Farbstoff nur in vitalem Myokardgewebe durch Dehydrogenasen und Cofaktoren wie Nicotinamidadenindinukleotid (NADH) reduziert und somit als Formazan rot gefärbt [140]. Damit kann vitales Myokardgewebe von avitalem Gewebe abgegrenzt werden und mittels planimetrischer Verarbeitung ein Verhältnis von vitalen

Myokardanteilen an der Gesamtmyokardfläche des linken Ventrikels bestimmt werden.

Für die Herstellung der Färbelösung wurden pro 100 ml 0,9 %ige NaCl-Lösung jeweils 0,75 g TTC und 1,41 g Trishydroxymethylaminomethan(TRIS)-Puffer hinzugegeben. Unter kontinuierlicher Durchmischung, Abdeckung des Lösungsgefäßes durch Alufolie zum Schutz vor Lichteinfall und Erwärmung auf 37°C wurde der pH-Wert der Lösung mittels Salzsäure auf 7,42 titriert.

Unterdessen wurden die Herzen noch im gefrorenen Zustand mit einem Skalpell in ca. 1-2 mm dicke axiale Scheiben geschnitten, sodass ein Herz in sieben bis acht Scheiben zerteilt wurde. Anschließend wurden die Scheiben mit der Schnittfläche nach unten einzeln in eine 24-Lochplatte gelegt, mit 1 ml der TTC-Lösung bedeckt und schließlich für 15 Minuten in einem 37°C temperierten Wasserbad inkubiert. Zur Fixierung wurden die gefärbten Herzscheiben für 24 Stunden in einer 4 %igen Formaldehydlösung inkubiert. Dafür wurden die Herzscheiben in eine neue leere 24-Lochplatte überführt und pro Scheibe mit 1 ml der Formaldehyd-Lösung bedeckt. Am Folgetag wurden die Herzen mit Papiertüchern abgetrocknet, mit der Schnittfläche nach unten zwischen zwei transparente DIN A4 Folien gelegt und mit der verblindeten Versuchsnummer beschriftet. Diese Folien wurden nun zum Archivieren auf einen Flachbrettscanner gelegt und zur besseren Kontrastierung mit einer dunkelgrünen Folie abgedeckt. Nach dem Einscannen der einzelnen Herzen wurden die Herzscheiben nach vollständiger Trocknung für die Bestimmung der Herztrockengewichte gewogen.

2.4.6 Auswertung der Herzbilder

Die planimetrische Auswertung der Herzbilder (Abb.9) erfolgte mittels der Software Sigma Scan Pro ® durch einen verblindeten Untersucher. Die Aufsummierung aller markierten Infarktareale im linken Ventrikel geteilt durch die Gesamtfläche des linken Ventrikels ergab die prozentuale Infarktgröße.



Abb. 9 Beispiel für eingescanntes Herzscheiben nach TTC Färbung

Die Herzen wurden in 7-8 Herzscheiben vom Apex (links) zur Basis (rechts) sortiert und eingescannt. Deutlich zu sehen sind die Unterschiede zwischen dunkelrosa/rötlich angefärbtem vitalem Myokard und weißem avialem infarziertem Gewebe.

TTC = Tetrazolium-Chlorid

2.4.7 Statistische Auswertung

Im Vorfeld der Versuche wurde eine Poweranalyse mit der Software GraphPad StatMate ® durchgeführt [134]. Für die Analyse der Infarktgrößen wurde angenommen, dass ein minimaler Unterschied von 25 % zwischen den Mittelwerten bei einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt von einem *Tukey post-hoc* Test detektiert werden muss. Die Gruppengrößenanalyse gab mit einer Power von 80% ($\alpha < 0,05$) und einer Standardabweichung von 11% eine Gruppengröße von $n=8$ an [134].

Für die Daten wurde zunächst das Vorliegen einer Normalverteilung mittels eines Kolmogorow-Smirnov-Tests bestätigt [134]. Für die Hämodynamikdaten wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse verwendet, ebenfalls gefolgt von einem *Tukey post-hoc* Test, um unterschiedliche Zeitpunkte und Gruppen miteinander zu vergleichen [134].

3 Ergebnisse

3.1 Rattengewichte, Herzgewichte und ischämische Kontraktur

Um eine Vergleichbarkeit zwischen den Gruppen sicherzustellen, wurden die Gewichte der Ratten und der Herzen betrachtet (Tabelle 7). In der Kontrollgruppe (KHP-Kon) wurde ein Körpergewicht von 301 g (SD \pm 10 g) und ein Herznassgewicht von 1,47 g (SD \pm 0,12 g) gewogen, hierbei gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen [134]. Gleiches galt für das Herztrockengewicht. In der Kontrollgruppe (KHP-Kon) wurde ein Herztrockengewicht von 0,14 g (SD \pm 0,02 g) gemessen, wobei sich keine Gruppe hiervon signifikant unterschied [134].

Neben den Gewichten wurden der Zeitpunkt und die Größe der maximalen ischämischen Kontraktur erfasst. In der Kontrollgruppe (KHP-Kon) wurde nach durchschnittlich 15:46 min (SD \pm 1:42 min) eine maximale Kontraktur von 54 mmHg (SD \pm 7 mmHg) erreicht [134]. Wie auch bei den Gewichten konnte zwischen den Interventionsgruppen und der jeweiligen Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied beobachtet werden [134].

Gruppe	n	Rattengewicht [g]	Herznassgewicht [g]	Herztrockengewicht [g]	Zeitpunkt der maximalen ischämischen Kontraktur [min]	Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur [mmHg]
1. KHP-Kon	8	301 \pm 10	1,47 \pm 0,12	0,14 \pm 0,02	15:46 \pm 1:42	54 \pm 7
2. KHP-Lev	7	291 \pm 21	1,32 \pm 0,14	0,14 \pm 0,01	15:39 \pm 0:39	56 \pm 12
3. Pro-Kon	8	286 \pm 17	1,44 \pm 0,11	0,13 \pm 0,02	16:17 \pm 1:05	59 \pm 12
4. Pro-Lev	8	299 \pm 26	1,47 \pm 0,11	0,15 \pm 0,01	16:26 \pm 1:59	61 \pm 11
5. Sev-Kon	7	300 \pm 08	1,34 \pm 0,06	0,12 \pm 0,01	14:26 \pm 0:23	82 \pm 13
6. Sev-Lev	7	297 \pm 11	1,29 \pm 0,07	0,13 \pm 0,01	14:40 \pm 1:07	81 \pm 11
7. Dex-Kon	8	293 \pm 18	1,42 \pm 0,09	0,14 \pm 0,03	15:21 \pm 2:10	67 \pm 17
8. Dex-Lev	7	296 \pm 11	1,42 \pm 0,09	0,15 \pm 0,02	16:14 \pm 1:23	55 \pm 10

Tabelle 7 Rattengewichte, Herzgewichte und maximale ischämische Kontraktur

Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung. Kon = Kontrolle, Lev = Levosimendan, Pro = Propofol, Sev = Sevofluran, Dex = Dexmedetomidin, n = Gruppengröße, g = Gramm, min = Minute nach Ischämiebeginn, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule. Modifiziert nach Bunte *et al.* [134].

3.2 Infarktgrößen

Um den Einfluss des Anästhesieverfahrens auf den kardioprotektiven Effekt von Levosimendan zu untersuchen, wurde das Ausmaß des myokardialen Schadens in Form der Infarktgrößen verglichen (Abb. 10).

Hierbei zeigte sich unter Kontrollbedingungen ohne Präkonditionierung und ohne Anästhesieverfahren (KHP-Kon) eine durchschnittliche Infarktgröße von 53 % (SD \pm 9 %) [134]. Unter der Gabe von Levosimendan konnte die Infarktgröße signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe reduziert werden (KHP-Lev: 34 %, SD \pm 4 %; $p < 0,05$ versus (vs.) KHP-Kon) [134]. Die alleinige Gabe der Anästhetika Propofol, Sevofluran und Dexmedetomidin führte zu vergleichbaren Infarktgrößen wie unter Kontrollbedingungen, somit beeinflussten sie die Infarktgröße nicht (Pro-Kon: 56 %, SD \pm 9 %; Sev-Kon: 56 %, SD \pm 8 %; Dex-Kon: 53 %, SD \pm 9 %; nicht signifikant (ns) vs. KHP-Kon [134]). In der Gruppe Pro-Lev konnte der infarktgrößenreduzierende Effekt von Levosimendan nicht beobachtet werden (Pro-Lev: 52 %, SD \pm 8 %; ns vs. Pro-Kon und KHP-Kon [134]). In der Sev-Lev und Dex-Lev Gruppe blieb der infarktgrößenreduzierende Effekt von Levosimendan hingegen erhalten (Sev-Lev: 33 %, SD \pm 7 %; $p < 0,05$ vs. Sev-Kon und KHP-Kon; Dex-Lev: 35 %, SD \pm 5 %; $p < 0,05$ vs. Dex-Kon und KHP-Kon [134]). Folglich wurde der infarktgrößenreduzierende Effekt von Levosimendan nur durch Propofol beeinflusst und blieb unter Sevofluran- und Dexmedetomidin-Gabe in den applizierten Dosierungen unverändert.

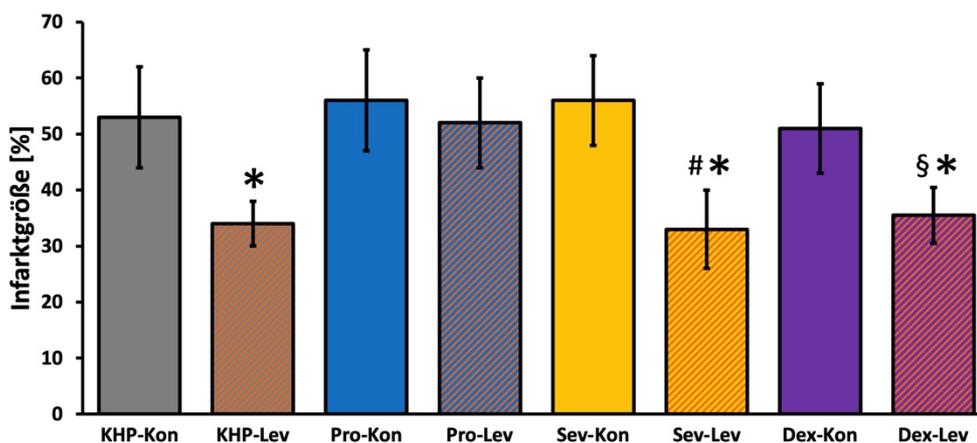


Abb.10 Einfluss von Levosimendan und Anästhesieverfahren auf die Infarktgröße

Randomisierte Rattenherzen wurden vor einer 33-minütigen Ischämiephase entweder mit Lev präkonditioniert oder mit einer Präkonditionierungskontrolllösung (Kon) behandelt. Außerdem wurde vor der Ischämie sowie während der einstündigen Reperfusion ein Anästhesieverfahren (Pro, Sev, Dex) oder eine Anästhesiekontrolllösung (KHP) appliziert. Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung (n jeweils 7 oder 8). (* $p < 0,05$ versus KHP-Kon; # $p < 0,05$ versus Sev-Kon; § $p < 0,05$ versus Dex-Kon). KHP = Krebs-Henseleit-Puffer, Lev = Levosimendan, Pro = Propofol, Sev = Sevofluran, Dex = Dexmedetomidin. Modifiziert nach Bunte *et al.* [134]

3.3 Hämodynamik

3.3.1 Erhobene Parameter und Zeitpunkte

Es wurde auch der Einfluss des Anästhesieverfahrens und der Präkonditionierung auf hämodynamische und somit funktionelle Variablen untersucht (Tabelle 8). Im Fokus standen hierbei erstens die Herzfrequenz, zweitens der LVDP und drittens der Koronarfluss. Untersucht wurden diese Parameter zu vier Zeitpunkten: Während der Stabilisierungsphase (SP), der präischämischen Substanzgabephase (Prä-IS) sowie zu zwei Zeitpunkten während der Reperfusionphase (Rep30 & Rep60) [134].

3.3.2 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz nahm innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen im Laufe des Versuchsprotokolls besonders nach der Ischämie tendenziell ab (Tabelle 8). So lag die durchschnittliche Herzfrequenz der Kontrollgruppe (KHP-Kon) während der Stabilisierungsphase bei 333 Schlägen pro Minute [*beats per minute* (bpm)] (SD \pm 30 bpm). Die Herzfrequenz beim letzten Erhebungszeitpunkt der Reperfusion (Rep 60) lag bei 275 bpm (SD \pm 62 bpm, ns vs. SP) [134]. Statistisch signifikant war die Herzfrequenzreduktion allerdings nur in der Gruppe Pro-Kon. So war zu den Zeitpunkten Rep30 und Rep60 eine Herzfrequenzreduktion gegenüber der Stabilisierungsphase zu beobachten ($p < 0,05$ vs. SP) [134]. Während der präischämischen Substanzgabephase kam es zu keiner signifikanten Änderung der Herzfrequenz.

Im Vergleich zwischen der jeweiligen Interventionsgruppe und Präkonditionierungs-Kontrollgruppe konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede beobachtet werden.

3.3.3 Left ventricular developed pressure (LVDP)

Der LVDP (Tabelle 8) lag bei der Kontrollgruppe (KHP-Kon) während der Stabilisierungsphase bei 117 mmHg (SD \pm 16 mmHg) und veränderte sich in allen Gruppen vor der Ischämie weder durch die Gabe von Levosimendan noch durch ein Anästhesieverfahren signifikant [134]. Nach der Ischämie kam es in jeder Gruppe zu einer erwarteten signifikanten Reduktion des entwickelten Drucks ($p <$

0,05 vs. SP), so reduzierte sich der LVDP in der Gruppe KHP-Kon postischämisch auf 17 mmHg (SD \pm 8 mmHg) zum Zeitpunkt Rep 30 bzw. auf 22 mmHg (SD \pm 7 mmHg) zum Zeitpunkt Rep 60 [134].

Im Vergleich zwischen den jeweiligen Interventionsgruppen und Kontrollgruppen war kein Unterschied zu verzeichnen.

3.3.4 Koronarfluss

In der Kontrollgruppe (KHP-Kon) lag der Koronarfluss zum Zeitpunkt der Stabilisierungsphase bei 17 ml/min (SD \pm 3 ml/min) (Tabelle 8) [134]. Nach der Ischämie kam es in jeder Gruppe zu einer signifikanten Reduktion des Koronarflusses im Vergleich zur Stabilisierungsphase ($p < 0,05$ vs. SP). So reduzierte sich der Koronarfluss in der Kontrollgruppe (KHP-Kon) auf 10 ml/min (SD \pm 1 ml/min) in der frühen Reperfusionphase (Rep 30) bzw. auf 8 ml/min (SD \pm 1 ml/min) in der späten Reperfusionphase (Rep 60) [134]. Im Vergleich zwischen den jeweiligen Interventionsgruppen und Kontrollgruppen war kein Unterschied zu verzeichnen.

Gruppe	SP	Prä-IS	Rep 30	Rep 60
Herzfrequenz (HR) [bpm]				
1.KHP-Kon	333 ± 40	314 ± 42	279 ± 92	275 ± 62
2.KHP-Lev	318 ± 39	312 ± 33	274 ± 34	258 ± 36
3.Pro-Kon	308 ± 32	294 ± 32	183 ± 69*	180 ± 67*
4.Pro-Lev	316 ± 50	300 ± 51	208 ± 77	212 ± 74
5.Sev-Kon	296 ± 23	271 ± 28	246 ± 20	215 ± 45
6.Sev-Lev	304 ± 37	300 ± 27	271 ± 37	253 ± 32
7.Dex-Kon	308 ± 27	286 ± 15	248 ± 53	247 ± 28
8.Dex-Lev	331 ± 54	328 ± 36	304 ± 36	265 ± 54
linksventrikulär entwickelter Druck (LVDP) [mmHg]				
1.KHP-Kon	117 ± 16	122 ± 10	17 ± 8*	22 ± 7*
2.KHP-Lev	109 ± 17	116 ± 17	25 ± 15*	25 ± 11*
3.Pro-Kon	132 ± 20	126 ± 20	17 ± 8*	28 ± 14*
4.Pro-Lev	130 ± 12	131 ± 13	20 ± 9*	27 ± 6*
5.Sev-Kon	144 ± 17	145 ± 23	25 ± 14*	32 ± 10*
6.Sev-Lev	136 ± 24	139 ± 11	27 ± 12*	35 ± 10*
7.Dex-Kon	124 ± 16	113 ± 20	21 ± 10*	29 ± 12*
8.Dex-Lev	126 ± 11	127 ± 10	24 ± 14*	24 ± 10*
Koronarfluss (CF) [ml/min]				
1.KHP-Kon	17 ± 3	15 ± 4	10 ± 1*	8 ± 1*
2.KHP-Lev	15 ± 2	17 ± 2	7 ± 2*	5 ± 2*
3.Pro-Kon	17 ± 1	16 ± 1	9 ± 1*	7 ± 1*
4.Pro-Lev	16 ± 1	19 ± 2	10 ± 2*	8 ± 2*
5.Sev-Kon	15 ± 3	14 ± 3	9 ± 2*	7 ± 2*
6.Sev-Lev	14 ± 3	17 ± 2	8 ± 3*	7 ± 3*
7.Dex-Kon	16 ± 3	14 ± 4	8 ± 1*	6 ± 1*
8.Dex-Lev	19 ± 2	18 ± 3	9 ± 2*	7 ± 2*

Tabelle 8 Hämodynamische Variablen

Die Herzfrequenz, der linksventrikulär entwickelte Druck und der Koronarfluss wurden zu vier Zeitpunkten verglichen. Es waren vereinzelte signifikante Gruppenunterschiede zu beobachten. Alle Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung (n jeweils 7 oder 8). (* $p < 0,05$ versus SP). Kon = Kontrolle, Lev = Levosimendan, Pro = Propofol, Sev = Sevofluran, Dex = Dexmedetomidin, SP = Stabilisierungsphase, prä-IS = präischämische Substanzgabephase, Rep 30 = Reperfusion (30. Minute), Rep 60 = Reperfusion (60. Minute), bpm = *beats per minute* (Schläge pro Minute), mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, ml/min = Milliliter pro Minute. Modifiziert nach Bunte *et al.* [134]

4 Diskussion

Ischämie-Reperfusionsschäden und daraus resultierende Myokardschädigungen bzw. Myokardinfarkte sind klinisch hochrelevante Ereignisse und beeinflussen auch im perioperativen Kontext wesentlich die Prognose der Patientinnen und Patienten [5, 141]. Aus einer anästhesiologischen Perspektive gehören eine kardiale Risikostratifizierung, eine Vermeidung von intraoperativen Stressoren (z.B. Hypotonie) sowie eine intensive hämodynamische Überwachung zu den Präventions- und Detektionsstrategien eines perioperativen IRS [12]. Das Konzept der pharmakologischen Präkonditionierung stellt eine mögliche Ergänzung dieses begrenzten Instrumentariums dar und könnte einen IRS vor seinem Auftreten günstig beeinflussen [58]. Der klinisch bereits für eine akute Herzinsuffizienz eingesetzte Calcium-Sensitizer Levosimendan zeigte in einer pharmakologischen Präkonditionierung im Tiermodell infarktgrößenreduzierende Wirkungen [92, 103] und wäre somit ein potentieller Kandidat für eine pharmakologische Präkonditionierung in der klinischen Anwendung. Angesichts der bisher gescheiterten klinischen Etablierung von sämtlichen Präkonditionierungsstrategien ist die Untersuchung von möglichen Störfaktoren ein wichtiges Forschungsgebiet [142]. Im perioperativen Kontext spielt hierbei die Beeinflussung durch das Anästhesieverfahren möglicherweise eine wichtige Rolle [112, 113]. So liegen für das Hypnotikum Propofol sowohl grundlagenwissenschaftliche als auch klinische Hinweise für einen störenden Effekt auf verschiedene Konditionierungsstrategien vor [112].

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass eine Levosimendan-Präkonditionierung des isolierten Rattenherzens im Langendorff-Modell infarktgrößenreduzierend wirkt. Unter Propofolgabe konnte keine Infarktgrößenreduktion durch Levosimendan beobachtet werden. Sevofluran und Dexmedetomidin beeinflussten die Infarktgrößenreduktion durch Levosimendan hingegen nicht. Die alleinige Gabe von Propofol, Sevofluran oder Dexmedetomidin führte zu keiner Beeinflussung der Infarktgröße. Somit inhibierte Propofol die kardioprotektive Wirkung der Levosimendan-Präkonditionierung, während Dexmedetomidin und Sevofluran keinen Einfluss auf die Infarktgrößenreduktion von Levosimendan hatten.

4.1 Levosimendan-Präkonditionierung

4.1.1 Diskussion der Infarktgrößenreduktion

In der vorliegenden Arbeit konnte durch Levosimendan eine deutliche Infarktgrößenreduktion um etwa 35 % gezeigt werden. Dieses Ergebnis wird durch Studien gestützt, die aus *ex vivo* sowie *in vivo* Tierstudien stammen. Eine *ex vivo* Studie von Lepran *et al.* zeigte im Jahr 2006 erstmals eine signifikante Infarktgrößenreduktion durch Levosimendan an Kanninchenherzen im Langendorff-Modell um etwa 15 % gegenüber der Kontrollgruppe (52 ± 2 % Kontrolle; 45 ± 2 % Levosimendan) [92]. Hierbei wurden in zwei fünfminütigen Zyklen $0,1 \mu\text{M}$ Levosimendan vor der Ischämie appliziert. Zwischen dem Ende der Levosimendan-Gabe und dem Beginn der Ischämie gab es eine fünf-minütige Auswasch-Phase, in der das verbleibende Levosimendan aus dem Koronarsystem ausgewaschen werden sollte. Zwei Jahre später verglichen du Toit *et al.* in einer *ex vivo* Studie an Meerschweinchen unter anderem eine zyklische Levosimendan-Gabe inklusive Auswasch-Phase mit einer kontinuierlichen zehnminütigen Gabe ohne Auswasch-Phase [103]. Die Autoren zeigten hier eine deutliche Überlegenheit der kontinuierlichen Gabe ohne Auswasch-Phase mit einer um etwa 90 % reduzierten Infarktgröße. Die zyklische Gabe führte zu einer Infarktgrößenreduktion um etwa 50 %. Die gewählte Dosis lag in beiden Fällen ebenfalls bei $0,1 \mu\text{M}$ Levosimendan [92, 103]. Eine Dosisabhängigkeit von Levosimendan auf den Infarktgrößenreduzierenden Effekt zeigten später Bunte *et al.* mit ihrer Langendorff-Studie an Rattenherzen [105]. Wie auch bei du Toit *et al.* wurde in der Studie von Bunte *et al.* eine zehnminütige kontinuierliche Gabe ohne Auswasch-Phase gewählt. Eine Dosierung von $0,1 \mu\text{M}$ Levosimendan führte zu einer Infarktgrößenreduktion um etwa 20 %, während die maximale Infarktgrößenreduktion um etwa 50 % unter einer Dosierung von $0,3 \mu\text{M}$ Levosimendan beobachtet wurde [105]. Da gezeigt werden konnte, dass der Verzicht auf eine Auswasch-Phase zu einer stärkeren Infarktgrößenreduktion führt, wurde in der vorliegenden Arbeit Levosimendan ohne Auswaschphase appliziert. Die verwendeten Levosimendan-Konzentrationen liegen in einem vergleichbaren Konzentrationsbereich wie in den oben erwähnten Studien [103, 105].

Auch *in vivo* Studien zeigten mehrfach infarktgrößenreduzierende Effekte durch Levosimendan. Die Autoren Kersten *et al.* wiesen im Jahr 2000 erstmals eine Infarktgrößenreduktion durch eine Levosimendan-Präkonditionierung *in vivo* nach [108]. In dieser Studie an Hunden wurde die Levosimendan-Gabe 15 Minuten vor einer regionalen Ischämie gestartet und mit dem Beginn der Reperfusion beendet. Damit handelte es sich nicht um eine reine Präkonditionierung, sondern um eine Perkonditionierung. Der Terminus Perkonditionierung bezieht sich hierbei auf eine Anwendung von Konditionierungsstrategien während der Ischämiephase. Einige Jahre später konnte der infarktgrößenreduzierende Effekt einer Levosimendan-Präkonditionierung in einem weiterem *in vivo* IRS-Modell an Hasen bestätigt werden [104].

In einer *in vivo* Studie an Schweinen von Busk *et al.* wurde hingegen kein infarktgrößenreduzierender Effekt nachgewiesen [143]. In der Studie wurde ein regionaler IRS durch Obstruktion eines Koronarstromgebiets gesetzt. Als möglichen Grund für den fehlenden infarktgrößenreduzierenden Effekt diskutierten die Autoren die geringe Kollateralisierung der Koronargefäße des Schweins [143]. Ähnlich wie beim Menschen weist die Blutversorgung des Schweineherzens im Gegensatz zu Hunden kaum Kollateralen auf [144]. Sie sahen eine durch Levosimendan hervorgerufene Vasodilatation von Kollateralgefäßen im Hund mit Mehrdurchblutung des ischämischen Myokards als eine Erklärung für die positiven Ergebnisse von Kersten *et al.* an [143]. Gegen diese Theorie spricht, dass Hasenherzen ebenfalls eine geringe Kollateralisierung aufweisen [145] und die später durchgeführte Studie an Hasen von Das *et al.* eine Infarktgrößenreduktion zeigen konnte [104]. Hinzu kommen viele Hinweise aus der Grundlagenforschung bezüglich der Infarktgrößenreduzierenden Wirkung einer Levosimendan-Präkonditionierung in den oben genannten *ex vivo* Herzversuchen, die meist den Effekt eines globalen IRS untersucht haben.

4.1.2 Diskussion der Hämodynamik

Für die Auswertung der Hämodynamik wurden die Herzfrequenz, der Koronarfluss und der linksventrikulär entwickelte Druck herangezogen.

Erwartungsgemäß kam es zu einer postischämischen Verringerung von Koronarfluss und LVDP als Ausdruck des stattgehabten IRS. Allerdings gab es postischämisch zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede der

erhobenen Hämodynamik-Parameter, obwohl Levosimendan infarktgrößenreduzierend wirkte. So wäre beispielsweise ein erhöhter postischämischer LVDP als Parameter für eine verbesserte Kontraktilität angesichts der starken Infarktgrößenreduktion durch Levosimendan im Rahmen des Erwartbaren gewesen. Zieht man *ex vivo* Voruntersuchungen für eine Levosimendan-Präkonditionierung zum Vergleich zu Rate, zeigt sich hier kein eindeutiges Bild.

Einerseits zeigte die Vorstudie von Bunte *et al.* [105] bei vergleichbaren Untersuchungsbedingungen keine Änderung der postischämischen Hämodynamikparameter durch Levosimendan. Andererseits zeigten Lepran *et al.* einen erhöhten postischämischen LVDP [92] unter dem Einfluss einer Levosimendan-Präkonditionierung. Allerdings bezog sich dies auf eine LVDP-Messung 90 Minuten nach dem Ende der Ischämie. Damit war die Reperfusionzeit 50 % länger als die der vorliegenden Arbeit sowie die der Arbeit von Bunte *et al.* [105], die beide mit einer 60-minütigen Reperusionsphase arbeiteten. Die fehlenden Verbesserung der Hämodynamik ist möglicherweise durch eine postischämische Kontraktilitätsstörung (*stunning*) zu erklären [48], die sich gegen Ende der 60-minütigen Reperfusion noch nicht zurückgebildet hat. So können selbst kurze ischämische Episoden zu einer tagelangen teils schweren Beeinträchtigung der Hämodynamik führen [48], weswegen eine kurze Betrachtung der Reperfusion im Langendorff-Modell möglicherweise unzureichend ist. So kann es zu einer Kardioprotektion im Sinne einer Infarktgrößenreduktion kommen, ohne dass sich dies in einer Verbesserung der Hämodynamik widerspiegelt [145]. Dementsprechend würde selbst eine 90-minütige Reperusionszeit möglicherweise noch nicht das Ausmaß der funktionellen Erholung durch Levosimendan ausreichend widerspiegeln. Auch wenn für Levosimendan *anti-stunning* Effekte beschrieben sind [146], scheint dies im Rahmen einer Levosimendan-Präkonditionierung zumindest im Beobachtungszeitraum der vorliegenden Arbeit nicht präsent zu sein. Da Untersuchungen zeigten, dass eine 60-minütige Reperusionsphase für die Beurteilung der Infarktgrößenreduktion ausreicht [147], wurde für die vorliegende Arbeit auf eine längere Reperusionszeit verzichtet. Eine neue Versuchsreihe mit längeren Reperusionszeiten wäre zur Beobachtung der postischämischen Erholung der Hämodynamik unter dem Einfluss von Levosimendan sinnvoll.

Interessanterweise beeinflusste Levosimendan auch während der prä-ischämischen Applikation die untersuchten hämodynamischen Variablen nicht. So zeigte sich weder vor noch nach der Ischämie ein signifikanter Unterschied zwischen Levosimendan und der Präkonditionierungskontrolle. Vor dem Hintergrund der vasodilatierenden und positiv inotropen Wirkung von Levosimendan (siehe Abschnitt 1.3.1) wäre eine Beeinflussung der gemessenen Parameter (z.B. CF- und LVDP-Steigerung) während und/oder nach der Levosimendangabe durchaus zu erwarten gewesen. Zieht man *ex vivo* Studien für eine Levosimendan-Präkonditionierung zu Rate, zeigen sich auch hier widersprüchliche Ergebnisse.

Für die prä-ischämische Phase deckten sich die Beobachtungen von du Toit *et al.* [103] sowie Bunte *et al.* [105] größtenteils mit denen der vorliegenden Arbeit. So zeigten beide Studien keine Steigerung des Koronarflusses unter dem Einfluss von Levosimendan. Auch eine präischämische Steigerung des LVDP durch Levosimendan konnte in der Voruntersuchung von Bunte *et al.* nicht beobachtet werden [105]. Ähnliches gilt für die Studie von du Toit *et al.*, die zwar keine LVDP-Daten anführt, aber keine signifikante Steigerung des *aortic outputs* (ml/min) zeigen konnte [103]. Andere Studien kamen hier zu einem gegensätzlichen Ergebnis: In einem IRS-Modell an einer modifizierten Langendorff-Anlage zeigten Meyer *et al.* in einer *ex vivo* Studie an Kaninchen-Herzen eine signifikante Steigerung der Herzfrequenz sowie des Koronarflusses nach einer Levosimendan-Gabe [148]. Auch die Studie von Toller *et al.* zeigten an isolierten Meerschweinchen-Herzen am Langendorff-Modell eine Steigerung der Herzfrequenz sowie des LVDP durch Levosimendan [149]. Eine weitere Langendorff-Studie an isolierten Meerschweinchen-Herzen von Kaheinen *et al.* zeigte ebenfalls eine Herzfrequenzsteigerung sowie erhöhte LVP_{max} -Werte bei gleichbleibenden LVP_{min} -Werten [150]. Der Parameter LVDP wurde weder in der Studie von Meyer *et al.* noch bei Kaheinen *et al.* erhoben. Ein Vergleich der gezeigten Studien mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zeigt, dass eine Änderung der Hämodynamik unter dem Einfluss von Levosimendan oft unter einem anderen Dosierungsschema beobachtet wurde. So applizierten Meyer *et al.* [148] sowie Toller *et al.* [149] Levosimendan als Bolus und Kaheinen *et al.* applizierten Levosimendan kontinuierlich unter schrittweiser Konzentrationssteigerung in 15-minütigen Intervallen [150]. Damit ist es vorstellbar, dass der Versuchsaufbau der

vorliegenden Arbeit mit einer zehnminütigen Levosimendangabe ohne eine sogenannte *loading dose* mitursächlich für die fehlende präischämische Hämodynamikänderung ist. Somit wäre es möglich, dass die zehnminütige Gabe für einen infarktgrößenreduzierenden Effekt ausgereicht hat, während eine präischämische Änderung der Hämodynamikparameter noch nicht sichtbar war. Als weiterer möglicher Grund für eine fehlende LVDP-Steigerung kommen methodische Überlegungen hinzu. So sind isolierte Herzen am Langendorff-Modell unter anderem vom Einfluss des Sympathikus entkoppelt, der durch Katecholamin-Ausschüttung wesentlich an der Inotropie-Regulierung beteiligt ist. Eine stark synergistische Wirkung vom Katecholamin Adrenalin und Levosimendan zeigten Toller *et al.* Hier führte eine niedrig-dosierte Hinzugabe von 100 nM Adrenalin zu einer Steigerung der Wirksamkeit von Levosimendan auf den LVDP etwa um den Faktor zwölf [149].

4.2 Einfluss von Propofol auf Levosimendan-Präkonditionierung

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass weder Sevofluran noch Dexmedetomidin den präkonditionierenden Effekt von Levosimendan beeinträchtigen, während Propofol diesen blockiert. Damit wurde – soweit bekannt – erstmals eine Inhibition eines kardioprotektiven Effektes mittels einer Levosimendan-Präkonditionierung durch Propofol im Tiermodell gezeigt.

Auch andere grundlagenwissenschaftlichen Studien haben Hinweise auf eine Inhibition von Konditionierungsstrategien durch Propofol geliefert und stützen damit die vorliegenden Befunde. So wurde der Effekt von Propofol auf RIPC-Effekte in einer *in vitro* Translationsstudie von Cho *et al.* untersucht [128]. Hier wurde menschliches Blutplasma, welches kardiochirurgischen Patientinnen und Patienten während der Narkose mit Propofol nach einer RIPC entnommen wurde, auf ein *ex vivo* Langendorff IRS-Modell an Rattenherzen übertragen. Während das RIPC-Plasma von Patientinnen und Patienten ohne Narkoseeinfluss zu einer Infarktgrößenreduktion im Rattenherz führte, konnte dieser Effekt unter Propofol nicht reproduziert werden [128].

Auch mehrere *in vivo* Studien zeigten einen inhibierenden Effekt von Propofol auf Konditionierungsstrategien. So konnten Behmenburg *et al.* in einem *in vivo* Rattenmodell für IRS zeigen, dass eine RIPC vermittelte Infarktgrößenreduktion unter dem Einfluss einer Narkose mit Propofol und Remifentanyl inhibiert wurde

[151]. Eine RIPC unter der Narkose mit Pentobarbital oder Sevofluran in Kombination mit Remifentanyl führte hingegen zu einer Infarktgrößenreduktion [151]. Auch Abseits von RIPC-Studien konnten Smul *et al.* für eine Desfluran-Präkonditionierung in einem *in vivo* Hasenmodell für IRS eine Beeinflussung durch Propofol zeigen [152]. So führte eine halbstündige Desfluran-Applikation vor einer regionalen Ischämie zu einer Infarktgrößenreduktion um etwa 20 % im Vergleich zur Kontrollgruppe. Unter einer gleichzeitigen Gabe von Propofol und Desfluran konnte hingegen keine Infarktgrößenreduktion beobachtet werden.

In der vorliegenden Arbeit führte eine alleinige Gabe von Propofol (Pro-Kon) zu keiner Änderung der Infarktgröße. Dies steht im Kontrast zu einer Arbeit von Kobayashi *et al.*, die eine Infarktgrößenreduktion durch Propofol für ein *in vivo* IRS-Modell an Ratten zeigte [153]. Als möglichen Grund für die kardioprotektiven Eigenschaften führen die Autoren die antioxidativen Eigenschaften von Propofol an. Außerdem konnte in einer *ex vivo* Studie etwa eine verbesserte funktionelle Erholung der Kontraktilität anhand des LVDP durch Propofol gezeigt werden [90]. Dies konnte in der Studie allerdings nur bei wesentlich höheren Dosierungen von 30 μM bzw. 100 μM Propofol gezeigt werden. In der vorliegenden Arbeit lag die Konzentration bei 11 μM Propofol. Somit sind Folgestudien notwendig, um eine Dosisabhängigkeit von Propofol auf die Beeinflussung bzw. eigenständige Vermittlung von konditionierenden Effekten zu untersuchen.

Die Konzentration von Propofol (11 μM) wurde in der aktuellen Studie in Anlehnung an die klinische Narkose-Situation gewählt. Andere *ex vivo* Studien wählten mit 10 μM Propofol eine ähnliche Konzentration [122, 154].

Am Rande sei zudem bemerkt, dass eine infarktgrößenreduzierende Kardioprotektion durch Propofol auch über ihre Trägerlösung vermittelt werden kann [155, 156]. Propofol ist wasserunlöslich und daher in einer Lipid-Emulsion gelöst. Das als Trägerlösung verwendete Intralipid besteht unter anderem aus Sojaöl, Glycerol und Eilecithin [157]. Deshalb kann Propofol hier nicht isoliert betrachtet werden, sondern nur in Zusammenschau mit dessen kardioprotektiver Trägerlösung, welche mehrfach kardioprotektive Eigenschaften zeigen konnte. So ist es zumindest bemerkenswert, dass Propofol sowohl die infarktgrößenreduzierende Wirkung von Levosimendan sowie ggf. die ihrer Trägerlösung aufheben konnte. Eine Folgestudie zur Untersuchung des Effekts von

Intralipid auf den infarktgrößenreduzierenden Effekt von Levosimendan im Langendorff-Modell wäre sinnvoll.

Ebenfalls unklar sind die Mechanismen hinter der Beeinflussung der Levosimendan-Präkonditionierung durch Propofol und müssen in zukünftigen Studien untersucht werden. Als möglicher Grund für die Inhibition von präkonditionierenden Effekten von Levosimendan sei am Rande die antioxidative Eigenschaft von Propofol erwähnt, die auch in den Arbeiten von Cho *et al.* [128] und Smul *et al.* [152] diskutiert wird. Propofol ist ein starker Radikalfänger [158] und greift so möglicherweise durch eine Verringerung von ROS in den ROS-Stoffwechsel ein. Wie bereits erwähnt, kann die Produktion von ROS sowohl schädigend im Rahmen eines IRS (siehe Abschnitt 1.1.3) als auch protektiv als Teil von kardioprotektiven Signaltransduktionswegen (siehe Abschnitt 1.2.2) sein. Dies ist womöglich ein Grund für die paradoxe Wirkung von Propofol in Bezug auf Kardioprotektion. Wie oben beschrieben, hat Propofol für sich genommen (vor allem in hohen Dosierungen) teils kardioprotektive Eigenschaften gezeigt [90, 153]. Auf der anderen Seite gibt es deutliche Hinweise auf eine Inhibition von anderen kardioprotektiven Strategien [128, 151, 152]. Ob Propofol über eine Modulation der ROS-Konzentrationen die Levosimendan-Präkonditionierung inhibiert oder ob ein anderer Mechanismus verantwortlich ist, müssen zukünftige Studien zeigen.

Auch im Hinblick auf klinische Szenarien ist die Beeinflussung von Konditionierungsstrategien durch Propofol nicht abschließend geklärt. Die Autoren der bereits genannten ERRICA-Studie geben zu bedenken, dass der Einsatz von Propofol eine Gemeinsamkeit von vielen klinischen Studien sei, die keinen signifikanten kardioprotektiven Effekt von RIPC nachweisen konnten [67]. Ob Propofol ein möglicher Störfaktor ist, wird auch gezielt in klinischen Studien untersucht. Exemplarisch seien zwei kardiochirurgische RIPC-Studien angeführt, in denen unter anderem der Einfluss der Präkonditionierung auf postoperative Troponin I Konzentrationen als Surrogatparameter für myokardiale Schädigungen untersucht wurden [119, 120]. In beiden Studien zeigte sich eine Abhängigkeit der Troponin-Werte vom Anästhesieverfahren. In den RIPC-Gruppen mit Isofluran- [119] bzw. Sevofluran- [120] Anästhesie beobachtete man im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne RIPC signifikant verringerte postoperative Troponin-Werte, was als kardioprotektiver Effekt angesehen wurde. In den Propofol-Gruppen

hingegen konnte in beiden Studien kein signifikanter Effekt durch RIPC auf die Troponin-Konzentration beobachtet werden [119, 120].

Zusammenfassend reiht sich die vorliegende Arbeit in grundlagenwissenschaftliche sowie klinische Arbeiten ein, die einen negativen Einfluss von Propofol auf verschiedene Konditionierungsstrategien gezeigt haben [134]. Dabei ist die Beeinflussung von Levosimendan nicht nur aus einer streng perioperativen Perspektive interessant. Propofol und Levosimendan können beide zur Behandlung von intensivmedizinischen Patientinnen und Patienten eingesetzt werden. Ein Einsatz von Levosimendan zur Therapie einer Herzinsuffizienz kann hierbei unter dem Einfluss einer Sedierung durch Propofol vorkommen, weshalb auch in diesem Bereich eine mögliche Interaktion von Relevanz sein könnte.

4.3 Einfluss von Sevofluran auf Levosimendan-Präkonditionierung

Während die Propofol-Gabe zu einer Aufhebung der Infarktgrößenreduktion durch Levosimendan führte, blieb der kardioprotektive Effekt der Präkonditionierung unter dem Einfluss von Sevofluran erhalten. Soweit bekannt, wurde hierbei erstmalig der Einfluss einer Sevofluran-Applikation auf eine pharmakologische Präkonditionierung mit Levosimendan im Tiermodell untersucht.

Eine fehlende Inhibition von kardioprotektiven Strategien durch Sevofluran zeigte sich auch in grundlagenwissenschaftlichen RIPC-Experimenten. Als Beispiel sei die bereits zitierte Studie von Behmenburg *et al.* angeführt, die den Effekt von Anästhetika auf RIPC-Effekte in einem *in vivo* Rattenmodell untersucht hat [151]. Im Gegensatz zu Propofol konnte unter dem Einfluss von Sevofluran und Remifentanyl eine Infarktgrößenreduktion durch RIPC beobachtet werden.

Allerdings gibt es auch widersprüchliche Hinweise aus einer ebenfalls bereits genannten Translationsstudie: So nahm in den Versuchen von Cho *et al.* nicht nur Propofol sondern auch Sevofluran einen störenden Einfluss auf den kardioprotektiven Effekt von RIPC [128]. Hier konnte Blutplasma, welches Patientinnen und Patienten nach einer RIPC unter einer Narkose mit Sevofluran entnommen wurde, im Rattenherz keinen infarktgrößenreduzierenden Effekt hervorrufen [128]. In der Gruppe, in der während der RIPC kein Anästhesieverfahren angewendet wurde, wirkte das Blutplasma hingegen kardioprotektiv [128]. Als mögliche Gründe hierfür führten die Autoren antioxidative Eigenschaften

von Sevofluran sowie eine mögliche Beeinflussung von neuronalen RIPC-Signalwegen durch eine Vollnarkose an. Im Vergleich zur vorliegenden Arbeit ist neben der unterschiedlichen Konditionierungsstrategie (Levosimendan vs. RIPC) auch der translationale Ansatz anzuführen, der eine direkte Gegenüberstellung erschwert.

In einem rein tierexperimentellen Ansatz gab es andererseits Hinweise auf eine positive Beeinflussung von Konditionierungsstrategien durch Sevofluran [122]: In einem *ex vivo* IRS-Modell an Ratten zeigten die Autoren einen additiven Effekt einer peri-ischämischen kontinuierlichen Sevoflurangabe und einer postischämischen Intralipidgabe auf die postischämische hämodynamische Erholung [122]. Eine Infarktgrößenbestimmung war allerdings nicht Teil der Studie. Der gezeigte additive Effekt passt zu der Beobachtung, dass Sevofluran selbst in vielen tierexperimentellen Studien kardioprotektive Eigenschaften zeigte. So wurden im Rahmen einer Sevofluran-Präkonditionierung mehrfach infarktgrößenreduzierende Effekte beschrieben [127, 159-161]. Auch in einer der vorliegenden Arbeit ähnlichen Versuchsanordnung (*ex vivo* Langendorff-Studie an Ratten mit dem Versuchprotokoll: 30 min Ischämie, 120 min Reperfusion) wurde eine Infarktgrößenreduktion durch 2,5 Vol-% Sevofluran um etwa 50 % beobachtet [161]. In der vorliegenden Arbeit führte eine Sevofluran-Applikation in der gleichen Konzentration weder zu einem additiven kardioprotektiven Effekt (Sev-Lev) noch zu einem infarktgrößenreduzierenden Effekt bei alleiniger Anwendung (Sev-Kon). Ein möglicher Grund für diese Differenz besteht in der unterschiedlichen Applikationsart. So folgte in den Studien, die eine Protektion zeigten, eine 15-minütige Auswasch-Phase auf eine 15-minütige Sevofluran-Applikation [160, 161]. Ferner konnten Riess *et al.* aufzeigen, dass eine mehrfache zyklische Sevofluran-Gabe im Vergleich zu einer einmaligen Gabe eine zusätzliche Infarktgrößenreduktion aufwies [127]. In der vorliegenden Arbeit wurde Sevofluran abseits der Ischämiephase kontinuierlich ohne eine Auswasch-Phase angewendet. Dazu passend konnten auch Berger *et al.* zeigen, dass eine kontinuierliche Gabe von Sevofluran vor und nach der Ischämiephase zu keiner Infarktgrößenreduktion führte [162]. Die vorliegende Arbeit stützt somit die Beobachtung von Berger *et al.*, dass eine kontinuierliche Applikation von Sevofluran, die den klinischen Regelfall widerspiegelt, keine infarktgrößenreduzierende Effekte besitzt.

Auch in klinischen Studien wurde eine mögliche Beeinflussung von Konditionierungsstrategien durch Sevofluran untersucht, wobei auch hier Sevofluran weniger inhibierende Effekte zu haben schien als Propofol. So konnte in der bereits genannten RIPC-Studie eine verminderte postoperative Troponin I-Ausschüttung unter dem Einfluss einer Sevofluran-Narkose beobachtet werden [120]. Hinzu kommt, dass der Einsatz von volatilen Anästhetika gerade im kardiochirurgischen Kontext im Vergleich zu Propofol von Vorteil zu sein scheint. So zeigte eine kürzlich hochrangig publizierte Metaanalyse einen Vorteil der volatilen Anästhetika in Bezug auf wichtige Endpunkte wie die Mortalität oder die Myokardinfarktrate [163].

Vor dem Hintergrund der genannten Studien und der vorliegenden Arbeit scheint Sevofluran als Teil des Anästhesieverfahrens keinen Einfluss auf Konditionierungsstrategien zu nehmen und ist auch unabhängig davon besonders im kardiochirurgischen Kontext der Alternativsubstanz Propofol möglicherweise vorzuziehen.

4.4 Einfluss von Dexmedetomidin auf Levosimendan-Präkonditionierung

In der vorliegenden Arbeit konnte Levosimendan nicht nur unter Sevofluran-Gabe, sondern auch unter Dexmedetomidin-Einfluss eine Infarktgrößenreduktion hervorrufen. Ein additiver oder störender Effekt konnte durch Dexmedetomidin in Bezug auf die Infarktgröße nicht gezeigt werden. Hiermit wurde – soweit bekannt – erstmals gezeigt, dass eine pharmakologische Präkonditionierung durch Levosimendan im Tiermodell nicht durch Dexmedetomidin beeinflusst wird. Außerdem existieren nach bestem Wissen noch keine Studien zur Beeinflussung von anderen Konditionierungsstrategien durch dieses Anästhetikum.

Auf der anderen Seite gibt es eine Vielzahl von Studien, die einen kardioprotektiven Effekt von Dexmedetomidin zeigten. Auch im Rahmen von *in vivo* und *ex vivo* IRS-Modellen an Ratten wurden vielfach infarktgrößenreduzierende Effekte für eine Dexmedetomidin-Präkonditionierung [91, 164-167] bzw. Postkonditionierung [168-170] gezeigt. Dementsprechend stellt sich die Frage, warum Dexmedetomidin in der vorliegenden Arbeit bei alleiniger Gabe zu keiner Infarktgrößenreduktion geführt hat. Eine mögliche Ursache ist in der Dosierung von 1,5 nM Dexmedetomidin zu finden. Andere Studien nutzten Dosierungen von 3 nM [169] oder 10 nM

Dexmedetomidin [166, 167] und lagen somit teilweise um ein Mehrfaches höher. Sowohl die Studie von Okada *et al.* [91] als auch Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe [165, 168] zeigten eine Dosisabhängigkeit von Dexmedetomidin in Bezug auf eine Infarktgrößenreduktion. Allerdings führte auch eine Dosierung von 1 nM Dexmedetomidin in diesen Dosisfindungs-Studien zu einer Infarktgrößenreduktion, auch wenn der Effekt schwächer ausfiel [91, 165, 168]. Somit ist eine alleinige Begründung über die gewählte Dosierung wahrscheinlich unzureichend. Ein weiterer möglicher Grund für die fehlende Infarktgrößenreduktion besteht in der Applikationsweise. Während andere Studien entweder eine Gabe von Dexmedetomidin vor [91, 165-167] oder nach [168, 169] einer Ischämie untersuchten, wurde Dexmedetomidin in der vorliegenden Studie vorher und nachher kontinuierlich appliziert analog zur klinischen Anwendung.

In Analogie zu den paradoxen Eigenschaften von Propofol existieren auch widersprüchliche Daten zu der Kardioprotektivität von Dexmedetomidin. So zeigten Mimuro *et al.* für eine Dexmedetomidin-Postkonditionierung am isolierten Rattenherz sogar eine IRS-verstärkende Wirkung. So führte eine 25-minütige Dexmedetomidin-Applikation in den Dosierungen 1 nM bzw. 10 nM zu einer Infarktgrößensteigerung [171].

In Anbetracht einer großen Anzahl an Publikationen, die das Gegenteil zeigten, bleibt Dexmedetomidin jedoch eine in Bezug auf die Kardioprotektion höchst interessante Substanz. Auch wenn ein Einsatz von Dexmedetomidin im Operationssaal möglich ist, wird es vor allem im intensivmedizinischen Kontext zur Sedierung verwendet. Kommt es in diesem Szenario zu einer akuten Herzinsuffizienz, wird möglicherweise Levosimendan angewandt. Eine Interaktion der beiden Substanzen ist also auch hier von Relevanz und ein interessanter Ausgangspunkt für weitere grundlagenwissenschaftliche und klinische Studien. Die vorliegende Arbeit zeigte zwar in der gewählten Dosierung keine kardioprotektive Wirkung von Dexmedetomidin, aber auch keine Inhibition der infarktgrößenreduzierenden Wirkung einer Levosimendan-Präkonditionierung.

4.5 Limitationen

Die vorliegenden Ergebnisse wurden in *ex vivo* Untersuchungen am Langendorff-Modell erhoben. Die Vorteile liegen in der einfachen Reproduktion sowie in der Möglichkeit der isolierten Betrachtung des Herzens ohne äußere Einflussfaktoren

[137]. Besonders durch die kontrollierten Untersuchungsbedingungen inklusive einer gut steuerbaren Induktion von Ischämie und Reperfusion ist das Modell sehr nützlich für die Untersuchung von IRS [137] und unter anderem deshalb noch heute ein häufig genutzter methodischer Ansatz.

Dennoch geht das Langendorff-Modell mit einigen Nachteilen einher. So ist das isolierte Herz von der humoralen und neuronalen Steuerung entkoppelt [137] und spiegelt somit nicht die physiologischen Bedingungen wider. Ein möglicher Einfluss von Levosimendan bzw. der Anästhetika auf diese extrinsische Steuerung des Herzens lässt sich entsprechend nicht abbilden. Die gewählte *ex vivo* Versuchsanordnung kann außerdem diverse wichtige pharmakokinetische Aspekte nicht abbilden. Als Beispiel seien hier eine hepatische Metabolisierung, eine Plasmaproteinbindung sowie eine Umverteilung zwischen verschiedenen Kompartimenten angeführt. Unter anderem diese Faktoren beeinflussen die Wirkweise der gewählten Substanzen *in vivo* und erlauben daher keinen direkten Vergleich.

Ebenfalls unphysiologisch ist die Art der Herzperfusion, die retrograd mit einem Puffer erfolgt, der sich in einigen wesentlichen Eigenschaften von dem des Blutes unterscheidet. So hat der zell- und proteinfreie KHP im Vergleich zum Blut eine stark reduzierte Viskosität, was zu unphysiologisch hohen Koronarflüssen mit veränderten Scherkräften führt [137]. Ein fehlender onkotischer Druck aufgrund der kristalloiden Zusammensetzung kann ferner bei zunehmender Versuchsdauer zu einer Ödembildung des Herzens führen [137].

Die Experimente wurden an jungen gesunden Ratten durchgeführt, was die Übertragung der Ergebnisse auf die Klinik, abgesehen von dem rein grundlagenwissenschaftlichen Charakter der Studie, zusätzlich einschränkt. So ermöglicht eine Untersuchung an gesunden Ratten zwar eine isolierte Betrachtung der Einflussnahme durch die gewählten Medikamente, spiegelt aber in der Regel nicht den üblichen Patienten bzw. Patientin im perioperativen Kontext wider. Gerade für kardiochirurgische Patientinnen und Patienten ist ein fortgeschrittenes Alter und das Vorliegen von Komorbiditäten sowie einer Komedikation charakteristisch [142]. Auch auf grundlagenwissenschaftlicher Ebene existieren Hinweise auf eine Einflussnahme dieser Faktoren auf Präkonditionierungsstrategien. Exemplarisch angeführt seien an dieser Stelle ein hohes Alter, das Vorliegen eines Diabetes mellitus oder eine Hyperlipidämie, die im Tiermodell zu einer abgeschwächten bzw.

aufgehobenen Kardioprotektion führten [142]. Einen ähnlichen Effekt hatten häufig eingesetzte Medikamente wie Betablocker, Statine sowie einige Antidiabetika [142]. Dementsprechend ist eine direkte Übertragung der Befunde der vorliegenden Arbeit auf klinische Szenarien auch deshalb nicht möglich. Allerdings dürfte es auch unter einer Berücksichtigung diverser klinischer Einflussfaktoren nur sehr eingeschränkt möglich sein, grundlagenwissenschaftliche Erkenntnisse direkt auf die Klinik zu übertragen. Dafür bedarf es einer schrittweisen Annäherung an klinische Szenarien mit weiteren *ex vivo* sowie *in vivo* Studien, gefolgt von klinischen Studien (siehe Abschnitt 4.6)

4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass Propofol den infarktgrößenreduzierenden Effekt einer Levosimendan-Präkonditionierung aufheben kann. Sevofluran und Dexmedetomidin beeinflussten die Infarktgrößenreduktion hingegen nicht. Damit wird die These einer negativen Beeinflussung von Konditionierungsstrategien durch Propofol unterstützt, für die sowohl grundlagenwissenschaftliche als auch klinische Hinweise vorliegen. Eine mögliche Störung von kardioprotektiven Strategien durch eine Komedikation aber auch durch das Alter und Komorbiditäten gelten als ein Grund für die bisher gescheiterte Translation vom Labor in die Klinik [112]. Um möglichen Störfaktoren Rechnung zu tragen schlagen die Autoren Rosello *et al.* vor, einen zusätzlichen Schritt zwischen ersten Tierstudien und klinischen Studien einzubauen [172]. Anstatt Substanzen nur an gesunden und jungen Versuchstieren auf Kardioprotektion zu testen, sollten in einem nächsten Schritt die kardioprotektiven Substanzen unter dem Einfluss von Komorbiditäten und/oder klinischen Interventionen untersucht werden. Die vorliegende Arbeit greift diesen Gedanken auf, indem es die Kardioprotektivität einer Levosimendan-Präkonditionierung unter dem Einfluss von Anästhetika untersucht. Nach der schrittweisen Annäherung an klinische Szenarien über verschiedene *ex vivo* und *in vivo* Studien ist auch ein gutes Studiendesign in späteren klinischen Folgestudien für einen Translationserfolg essentiell. In einem Übersichtsartikel zu den Problemen der Translation von kardioprotektiven Strategien benennt der Autor Gerd Heusch ein weitgehendes Fehlen von adäquaten klinischen Phase-II-Studien als größtes Problem [173]. In diesen Studien müsste die optimale Dosierung und zeitliche Anwendung der

kardioprotektiven Strategie ermittelt werden, bevor größere klinische *Outcome* Studien durchgeführt werden könnten [173]. Dieser Schritt werde häufig übergangen und trage so möglicherweise zur gescheiterten Translation bei. Dies trifft auch für die mögliche Translation der vorliegenden Arbeit sowie die der zahlreichen Vorarbeiten zu Levosimendan zu. Auch wenn einige klinische Studien zu einer Levosimendan-Präkonditionierung vorliegen, die einen positiven Effekt suggerieren [110, 111, 174], existieren noch keine solcher Phase-II-Studien.

Eine aktuelle Metaanalyse von verfügbaren Studien zu Levosimendan im perioperativen Kontext [175] zeigt bereits heute, dass der Einsatz von Levosimendan (bei Patientinnen und Patienten mit einem hohen kardialen Risiko) mit einem verringerten Auftreten von Nierenschädigungen sowie eines *low cardiac output syndroms* und einer verringerten Mortalität einhergeht. Ein hier diskutierter früher bzw. prophylaktischer Einsatz von Levosimendan würde einer Präkonditionierung ggf. ähneln. Passend hierzu betiteln die Autoren Jiménez-Rivera *et al.* eine aktuelle randomisiert kontrollierte Studie mit den Worten „*Preconditioning with levosimendan reduces postoperative low cardiac output in moderate-severe systolic dysfunction patients who will undergo elective coronary artery bypass graft surgery: a cost-effective strategy*“ [110]. Diese Daten, sowie die der vorliegenden Arbeit, lassen hoffen, dass eine Levosimendan-Präkonditionierung auch unter klinischen Bedingungen wirksam sein könnte. Die vorliegende Arbeit suggeriert zudem, dass bei der weiteren grundlagenwissenschaftlichen sowie klinischen Erprobung von kardioprotektiven Strategien der Gebrauch von Propofol kritisch zu beleuchten ist.

5 Literaturverzeichnis

1. World Health Organization. *Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019*. [Internet] 2020 [Zugriffsdatum 14.09.2022]; Verfügbar auf: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>
2. Knuuti, J., et al., *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)*. *European Heart Journal*, 2019. **41**(3): p. 407-477.
3. Collet, J.-P., et al., *2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)*. *European Heart Journal*, 2020.
4. Statistisches Bundesamt. *Die 10 häufigsten Todesfälle durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen*. [Internet] 2020 [Zugriffsdatum 14.09.2022]; Verfügbar auf: <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/sterbefaelle-herz-kreislauf-erkrankungen-insgesamt.html>
5. Devereaux, P.J. and D.I. Sessler, *Cardiac Complications in Patients Undergoing Major Noncardiac Surgery*. *N Engl J Med*, 2015. **373**(23): p. 2258-69.
6. van Waes, J.A., et al., *Myocardial injury after noncardiac surgery and its association with short-term mortality*. *Circulation*, 2013. **127**(23): p. 2264-71.
7. Mackey, W.C., et al., *Perioperative myocardial ischemic injury in high-risk vascular surgery patients: incidence and clinical significance in a prospective clinical trial*. *J Vasc Surg*, 2006. **43**(3): p. 533-8.
8. The Vascular events In noncardiac Surgery patients cohort evaluation (VISION) Writing Group, *Myocardial Injury after Noncardiac Surgery: A Large, International, Prospective Cohort Study Establishing Diagnostic Criteria, Characteristics, Predictors, and 30-day Outcomes*. *Anesthesiology*, 2014. **120**(3): p. 564-578.
9. Udeh, B.L., et al., *Economic Trends from 2003 to 2010 for Perioperative Myocardial Infarction: A Retrospective, Cohort Study*. *Anesthesiology*, 2014. **121**(1): p. 36-45.
10. Smilowitz, N.R., et al., *Perioperative Major Adverse Cardiovascular and Cerebrovascular Events Associated With Noncardiac Surgery*. *JAMA Cardiol*, 2017. **2**(2): p. 181-187.
11. Puelacher, C., et al., *Perioperative Myocardial Injury After Noncardiac Surgery*. *Circulation*, 2018. **137**(12): p. 1221-1232.
12. Bein, B., R. Schiewe, and J. Renner, *Perioperative myocardial ischemia : Current aspects and concepts*. *Anaesthesist*, 2019. **68**(8): p. 497-508.
13. Thygesen, K., et al., *Fourth universal definition of myocardial infarction (2018)*. *European Heart Journal*, 2018. **40**(3): p. 237-269.
14. Ekeloef, S., et al., *Troponin elevations after non-cardiac, non-vascular surgery are predictive of major adverse cardiac events and mortality: a systematic review and meta-analysis*. *Br J Anaesth*, 2016. **117**(5): p. 559-568.
15. Venugopal, V., et al., *'Conditioning' the heart during surgery*. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2009. **35**(6): p. 977-87.
16. Mair, J., et al., *Use of cardiac troponin I to diagnose perioperative myocardial infarction in coronary artery bypass grafting*. *Clin Chem*, 1994. **40**(11 Pt 1): p. 2066-70.
17. Kathiresan, S., et al., *Cardiac troponin T elevation after coronary artery bypass grafting is associated with increased one-year mortality*. *Am J Cardiol*, 2004. **94**(7): p. 879-81.
18. Croal, B.L., et al., *Relationship between postoperative cardiac troponin I levels and outcome of cardiac surgery*. *Circulation*, 2006. **114**(14): p. 1468-75.
19. Lasocki, S., et al., *Cardiac troponin I is an independent predictor of in-hospital death after adult cardiac surgery*. *Anesthesiology*, 2002. **97**(2): p. 405-11.
20. Head, S.J., et al., *The European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) database: an introduction*. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2013. **44**(3): p. e175-80.
21. Weiser, T.G., et al., *Estimate of the global volume of surgery in 2012: an assessment supporting improved health outcomes*. *Lancet*, 2015. **385** Suppl 2: p. S11.
22. Kristensen, S.D., et al., *2014 ESC/ESA Guidelines on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management: The Joint Task Force on non-cardiac surgery: cardiovascular*

- assessment and management of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Anaesthesiology (ESA). *European Heart Journal*, 2014. **35**(35): p. 2383-2431.
23. Writing Committee for the VISION Study Investigators, *Association of Postoperative High-Sensitivity Troponin Levels With Myocardial Injury and 30-Day Mortality Among Patients Undergoing Noncardiac Surgery*. *JAMA*, 2017. **317**(16): p. 1642-1651.
 24. Helwani, M.A., et al., *Etiology of Acute Coronary Syndrome after Noncardiac Surgery*. *Anesthesiology*, 2018. **128**(6): p. 1084-1091.
 25. Duvall, W.L., et al., *Angiographic investigation of the pathophysiology of perioperative myocardial infarction*. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2012. **80**(5): p. 768-76.
 26. Hanson, I., et al., *Angiographic and clinical characteristics of type 1 versus type 2 perioperative myocardial infarction*. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2013. **82**(4): p. 622-8.
 27. Gualandro, D.M., et al., *Coronary plaque rupture in patients with myocardial infarction after noncardiac surgery: frequent and dangerous*. *Atherosclerosis*, 2012. **222**(1): p. 191-5.
 28. Biancari, F., et al., *Control angiography for perioperative myocardial ischemia after coronary surgery: meta-analysis*. *J Cardiothorac Surg*, 2018. **13**(1): p. 24.
 29. Reimer, K.A., et al., *The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs*. *Circulation*, 1977. **56**(5): p. 786-94.
 30. Jennings, R.B., et al., *Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog*. *Arch Pathol*, 1960. **70**: p. 68-78.
 31. Heusch, G., *Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective*. *Nat Rev Cardiol*, 2020. **17**(12): p. 773-789.
 32. Jennings, R.B. and K.A. Reimer, *The cell biology of acute myocardial ischemia*. *Annu Rev Med*, 1991. **42**: p. 225-46.
 33. Pike, M.M., et al., *NMR measurements of Na⁺ and cellular energy in ischemic rat heart: role of Na⁺-H⁺ exchange*. *Am J Physiol*, 1993. **265**(6 Pt 2): p. H2017-26.
 34. Tani, M. and J.R. Neely, *Role of intracellular Na⁺ in Ca²⁺ overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts. Possible involvement of H⁺-Na⁺ and Na⁺-Ca²⁺ exchange*. *Circ Res*, 1989. **65**(4): p. 1045-56.
 35. Ladilov, Y., et al., *Cardioprotective effects of KB-R7943: a novel inhibitor of the reverse mode of Na⁺/Ca²⁺ exchanger*. *Am J Physiol*, 1999. **276**(6): p. H1868-76.
 36. Basalay, M., D. Yellon, and S. Davidson, *Targeting myocardial ischaemic injury in the absence of reperfusion*. *Basic Research in Cardiology*, 2020. **115**: p. 63.
 37. Wang, R., et al., *Targeting Calcium Homeostasis in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: An Overview of Regulatory Mechanisms and Therapeutic Reagents*. *Front Pharmacol*, 2020. **11**: p. 872.
 38. Crompton, M. and A. Costi, *Kinetic evidence for a heart mitochondrial pore activated by Ca²⁺, inorganic phosphate and oxidative stress. A potential mechanism for mitochondrial dysfunction during cellular Ca²⁺ overload*. *Eur J Biochem*, 1988. **178**(2): p. 489-501.
 39. Bernardi, P., et al., *The Mitochondrial Permeability Transition Pore: Channel Formation by F-ATP Synthase, Integration in Signal Transduction, and Role in Pathophysiology*. *Physiol Rev*, 2015. **95**(4): p. 1111-55.
 40. Nicolli, A., V. Petronilli, and P. Bernardi, *Modulation of the mitochondrial cyclosporin A-sensitive permeability transition pore by matrix pH. Evidence that the pore open-closed probability is regulated by reversible histidine protonation*. *Biochemistry*, 1993. **32**(16): p. 4461-5.
 41. Hausenloy, D.J. and D.M. Yellon, *Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target*. *J Clin Invest*, 2013. **123**(1): p. 92-100.
 42. Mishra, P.K., et al., *Guidelines for evaluating myocardial cell death*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019. **317**(5): p. H891-h922.
 43. Adameova, A., et al., *Evidence of necroptosis in hearts subjected to various forms of ischemic insults*. *Can J Physiol Pharmacol*, 2017. **95**(10): p. 1163-1169.
 44. Stone, G.W., et al., *Relationship Between Infarct Size and Outcomes Following Primary PCI: Patient-Level Analysis From 10 Randomized Trials*. *J Am Coll Cardiol*, 2016. **67**(14): p. 1674-83.
 45. Burns, R.J., et al., *The relationships of left ventricular ejection fraction, end-systolic volume index and infarct size to six-month mortality after hospital discharge following myocardial infarction treated by thrombolysis*. *J Am Coll Cardiol*, 2002. **39**(1): p. 30-6.
 46. Tennant, R. and C.J. Wiggers, *The effect of coronary occlusion on myocardial contraction*. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 1935. **112**(2): p. 351-361.
 47. Di Diego, J.M. and C. Antzelevitch, *Ischemic ventricular arrhythmias: Experimental models and their clinical relevance*. *Heart Rhythm*, 2011. **8**(12): p. 1963-1968.

48. Braunwald, E. and R.A. Kloner, *The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction*. *Circulation*, 1982. **66**(6): p. 1146-9.
49. Kloner, R.A., et al., *Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop*. *Circulation*, 1998. **97**(18): p. 1848-67.
50. Krug, A., R. Du Mesnil de, and G. Korb, *Blood supply of the myocardium after temporary coronary occlusion*. *Circ Res*, 1966. **19**(1): p. 57-62.
51. Wu, K.C., et al., *Prognostic significance of microvascular obstruction by magnetic resonance imaging in patients with acute myocardial infarction*. *Circulation*, 1998. **97**(8): p. 765-72.
52. Ginks, W.R., et al., *Coronary artery reperfusion. II. Reduction of myocardial infarct size at 1 week after the coronary occlusion*. *J Clin Invest*, 1972. **51**(10): p. 2717-23.
53. Chazov, E.I., et al., *Intracoronary administration of fibrinolysin in acute myocardial infarct*. *Ter Arkh*, 1976. **48**(4): p. 8-19.
54. Ibanez, B., et al., *2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)*. *European Heart Journal*, 2017. **39**(2): p. 119-177.
55. Puymirat, E., et al., *Association of changes in clinical characteristics and management with improvement in survival among patients with ST-elevation myocardial infarction*. *Jama*, 2012. **308**(10): p. 998-1006.
56. Townsend, N., et al., *Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016*. *Eur Heart J*, 2016. **37**(42): p. 3232-3245.
57. Dégano, I.R., et al., *Twenty-five-year trends in myocardial infarction attack and mortality rates, and case-fatality, in six European populations*. *Heart*, 2015. **101**(17): p. 1413-1421.
58. Roth, S., et al., *Perioperative Cardioprotection: Clinical Implications*. *Anesthesia & Analgesia*, 2020. **131**(6): p. 1751-1764.
59. Heusch, G., *Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic*. *Lancet*, 2013. **381**(9861): p. 166-75.
60. Murry, C.E., R.B. Jennings, and K.A. Reimer, *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium*. *Circulation*, 1986. **74**(5): p. 1124-36.
61. Li, Y.W., P. Whittaker, and R.A. Kloner, *The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular arrhythmia*. *Am Heart J*, 1992. **123**(2): p. 346-53.
62. Yellon, D.M., A.M. Alkhulaifi, and W.B. Pugsley, *Preconditioning the human myocardium*. *Lancet*, 1993. **342**(8866): p. 276-7.
63. Walsh, S.R., et al., *Ischaemic preconditioning during cardiac surgery: systematic review and meta-analysis of perioperative outcomes in randomised clinical trials*. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2008. **34**(5): p. 985-94.
64. Candilio, L. and D. Hausenloy, *Is there a role for ischaemic conditioning in cardiac surgery?* *F1000Res*, 2017. **6**: p. 563.
65. Przyklenk, K., et al., *Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion*. *Circulation*, 1993. **87**(3): p. 893-899.
66. Meybohm, P., et al., *A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery*. *N Engl J Med*, 2015. **373**(15): p. 1397-1407.
67. Hausenloy, D.J., et al., *Remote Ischemic Preconditioning and Outcomes of Cardiac Surgery*. *N Engl J Med*, 2015. **373**(15): p. 1408-17.
68. Kleinbongard, P. and G. Heusch, *Extracellular signalling molecules in the ischaemic/reperfused heart - druggable and translatable for cardioprotection?* *Br J Pharmacol*, 2015. **172**(8): p. 2010-25.
69. Downey, J.M., T. Krieg, and M.V. Cohen, *Mapping preconditioning's signaling pathways: an engineering approach*. *Ann N Y Acad Sci*, 2008. **1123**: p. 187-96.
70. Burley, D.S., P. Ferdinandy, and G.F. Baxter, *Cyclic GMP and protein kinase-G in myocardial ischaemia-reperfusion: opportunities and obstacles for survival signaling*. *Br J Pharmacol*, 2007. **152**(6): p. 855-69.
71. Hausenloy, D.J. and D.M. Yellon, *New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway*. *Cardiovasc Res*, 2004. **61**(3): p. 448-60.
72. Lecour, S., *Multiple protective pathways against reperfusion injury: a SAFE path without Aktion?* *J Mol Cell Cardiol*, 2009. **46**(5): p. 607-9.
73. Heusch, G., *Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning*. *Circ Res*, 2015. **116**(4): p. 674-99.

74. Tomai, F., et al., *Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamide, a selective ATP-sensitive K⁺ channel blocker*. *Circulation*, 1994. **90**(2): p. 700-5.
75. Schulz, R., J. Rose, and G. Heusch, *Involvement of activation of ATP-dependent potassium channels in ischemic preconditioning in swine*. *Am J Physiol*, 1994. **267**(4 Pt 2): p. H1341-52.
76. Hausenloy, D.J., et al., *Preconditioning protects by inhibiting the mitochondrial permeability transition*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004. **287**(2): p. H841-9.
77. Hausenloy, D.J., et al., *Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning?* *Cardiovasc Res*, 2002. **55**(3): p. 534-43.
78. Inoue, I., et al., *ATP-sensitive K⁺ channel in the mitochondrial inner membrane*. *Nature*, 1991. **352**(6332): p. 244-7.
79. Costa, A.D.T., et al., *The mechanism by which the mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel opening and H₂O₂ inhibit the mitochondrial permeability transition*. *J Biol Chem*, 2006. **281**(30): p. 20801-20808.
80. Shintani, Y., et al., *Opening of Ca²⁺-activated K⁺ channels is involved in ischemic preconditioning in canine hearts*. *J Mol Cell Cardiol*, 2004. **37**(6): p. 1213-8.
81. Cao, Y., et al., *The mitochondrial Ca(2+)-activated K(+) channel contributes to cardioprotection by limb remote ischemic preconditioning in rat*. *Life Sci*, 2011. **88**(23-24): p. 1026-30.
82. Sato, T., et al., *Mitochondrial Ca²⁺-activated K⁺ channels in cardiac myocytes: a mechanism of the cardioprotective effect and modulation by protein kinase A*. *Circulation*, 2005. **111**(2): p. 198-203.
83. Stowe, D.F., et al., *Cardiac mitochondrial preconditioning by Big Ca²⁺-sensitive K⁺ channel opening requires superoxide radical generation*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006. **290**(1): p. H434-40.
84. Goswami, S.K., et al., *Expression and Activation of BK(Ca) Channels in Mice Protects Against Ischemia-Reperfusion Injury of Isolated Hearts by Modulating Mitochondrial Function*. *Front Cardiovasc Med*, 2018. **5**: p. 194.
85. Juhaszova, M., et al., *Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore*. *J Clin Invest*, 2004. **113**(11): p. 1535-49.
86. Juhaszova, M., et al., *Role of glycogen synthase kinase-3beta in cardioprotection*. *Circ Res*, 2009. **104**(11): p. 1240-52.
87. Nazareth, W., N. Yafei, and M. Crompton, *Inhibition of anoxia-induced injury in heart myocytes by cyclosporin A*. *J Mol Cell Cardiol*, 1991. **23**(12): p. 1351-4.
88. Schultz, J.E., A.K. Hsu, and G.J. Gross, *Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart*. *Circ Res*, 1996. **78**(6): p. 1100-4.
89. Warltier, D.C., et al., *Recovery of contractile function of stunned myocardium in chronically instrumented dogs is enhanced by halothane or isoflurane*. *Anesthesiology*, 1988. **69**(4): p. 552-65.
90. Ko, S.H., et al., *Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart*. *Anesth Analg*, 1997. **85**(4): p. 719-24.
91. Okada, H., et al., *The cardioprotective effect of dexmedetomidine on global ischaemia in isolated rat hearts*. *Resuscitation*, 2007. **74**(3): p. 538-45.
92. Lepran, I., et al., *Preconditioning effects of levosimendan in a rabbit cardiac ischemia-reperfusion model*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006. **48**(4): p. 148-152.
93. Pollesello, P., et al., *Binding of a new Ca²⁺ sensitizer, levosimendan, to recombinant human cardiac troponin C. A molecular modelling, fluorescence probe, and proton nuclear magnetic resonance study*. *J Biol Chem*, 1994. **269**(46): p. 28584-90.
94. Sorsa, T., et al., *Interaction of levosimendan with cardiac troponin C in the presence of cardiac troponin I peptides*. *J Mol Cell Cardiol*, 2003. **35**(9): p. 1055-61.
95. Haikala, H., J. Levijoki, and I.B. Lindén, *Troponin C-mediated calcium sensitization by levosimendan accelerates the proportional development of isometric tension*. *J Mol Cell Cardiol*, 1995. **27**(10): p. 2155-65.
96. Edes, I., et al., *Effects of Levosimendan, a cardiotonic agent targeted to troponin C, on cardiac function and on phosphorylation and Ca²⁺ sensitivity of cardiac myofibrils and sarcoplasmic reticulum in guinea pig heart*. *Circ Res*, 1995. **77**(1): p. 107-13.
97. Lilleberg, J., et al., *Effects of a new calcium sensitizer, levosimendan, on haemodynamics, coronary blood flow and myocardial substrate utilization early after coronary artery bypass grafting*. *Eur Heart J*, 1998. **19**(4): p. 660-8.

98. Yokoshiki, H., et al., *Levosimendan, a novel Ca²⁺ sensitizer, activates the glibenclamide-sensitive K⁺ channel in rat arterial myocytes*. Eur J Pharmacol, 1997. **333**(2-3): p. 249-59.
99. Pataricza, J., et al., *Comparison of the vasorelaxing effect of cromakalim and the new inodilator, levosimendan, in human isolated portal vein*. J Pharm Pharmacol, 2000. **52**(2): p. 213-7.
100. Ozdem, S.S., et al., *The role of potassium channels in relaxant effect of levosimendan in rat small mesenteric arteries*. Cardiovasc Drugs Ther, 2006. **20**(2): p. 123-7.
101. Michaels, A.D., et al., *Effects of intravenous levosimendan on human coronary vasomotor regulation, left ventricular wall stress, and myocardial oxygen uptake*. Circulation, 2005. **111**(12): p. 1504-9.
102. Kopustinskiene, D.M., P. Pollesello, and N.E. Saris, *Potassium-specific effects of levosimendan on heart mitochondria*. Biochem Pharmacol, 2004. **68**(5): p. 807-12.
103. du Toit, E.F., et al., *A role for the RISK pathway and K(ATP) channels in pre- and post-conditioning induced by levosimendan in the isolated guinea pig heart*. Br J Pharmacol, 2008. **154**(1): p. 41-50.
104. Das, B. and C. Sarkar, *Pharmacological preconditioning by levosimendan is mediated by inducible nitric oxide synthase and mitochondrial KATP channel activation in the in vivo anesthetized rabbit heart model*. Vascul Pharmacol, 2007. **47**(4): p. 248-56.
105. Bunte, S., et al., *Preconditioning by Levosimendan is Mediated by Activation of Mitochondrial Ca(2+)-Sensitive Potassium (mBKCa) Channels*. Cardiovasc Drugs Ther, 2018. **32**(5): p. 427-434.
106. Soeding, P.F., et al., *Levosimendan preserves the contractile responsiveness of hypoxic human myocardium via mitochondrial K(ATP) channel and potential pERK 1/2 activation*. Eur J Pharmacol, 2011. **655**(1-3): p. 59-66.
107. Schauer, A., et al., *Pharmacological Pre- and Postconditioning With Levosimendan Protect H9c2 Cardiomyoblasts From Anoxia/Reoxygenation-induced Cell Death via PI3K/Akt Signaling*. J Cardiovasc Pharmacol, 2021. **77**(3): p. 378-385.
108. Kersten, J.R., et al., *Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of K(ATP) channels*. Anesth Analg, 2000. **90**(1): p. 5-11.
109. Eris, C., et al., *Preoperative usages of levosimendan in patients undergoing coronary artery bypass grafting*. Int J Clin Exp Med, 2014. **7**(1): p. 219-29.
110. Jiménez-Rivera, J.J., et al., *Preconditioning with levosimendan reduces postoperative low cardiac output in moderate-severe systolic dysfunction patients who will undergo elective coronary artery bypass graft surgery: a cost-effective strategy*. J Cardiothorac Surg, 2020. **15**(1): p. 108.
111. Tritapepe, L., et al., *Preconditioning effects of levosimendan in coronary artery bypass grafting—a pilot study*. Br J Anaesth, 2006. **96**(6): p. 694-700.
112. Kleinbongard, P., et al., *Co-morbidities and co-medications as confounders of cardioprotection-Does it matter in the clinical setting?* Br J Pharmacol, 2020. **177**(23): p. 5252-5269.
113. Zaugg, M., et al., *Anesthetic cardioprotection in clinical practice from proof-of-concept to clinical applications*. Curr Pharm Des, 2014. **20**(36): p. 5706-26.
114. Bolkenius, D., C. Dumps, and E. Halbeck, *Drugs for intravenous induction of anesthesia: propofol*. Anaesthesist, 2018. **67**(2): p. 147-162.
115. Ratiopharm GmbH. *Fachinformation Propofol-ratiopharm® MCT 10 mg/ml Emulsion zur Injektion und Infusion*. [Internet] 2016 [Zugriffsdatum 14.09.2022]; Verfügbar auf: <https://www.ratiopharm.de/index.php?elD=dumpFile&t=f&f=73709&g=-1&r=1894%2C1894&token=f727a4d130b2802b5e9ee03d9381563e235f9eed>
116. Sun, H.Y., et al., *Propofol improves cardiac functional recovery after ischemia-reperfusion by upregulating nitric oxide synthase activity in the isolated rat hearts*. Chin Med J (Engl), 2009. **122**(24): p. 3048-54.
117. Xia, Z., Z. Huang, and D.M. Ansley, *Large-dose propofol during cardiopulmonary bypass decreases biochemical markers of myocardial injury in coronary surgery patients: a comparison with isoflurane*. Anesth Analg, 2006. **103**(3): p. 527-32.
118. Kottenberg, E., et al., *Interference of propofol with signal transducer and activator of transcription 5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass grafting*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2014. **147**(1): p. 376-82.
119. Kottenberg, E., et al., *Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol - a clinical trial*. Acta Anaesthesiol Scand, 2012. **56**(1): p. 30-38.
120. Bautin, A.E., et al., *[Effects of remote ischemic preconditioning on perioperative period in elective aortic valve replacement]*. Anesteziol Reanimatol, 2014(3): p. 11-7.

121. Zangrillo, A., et al., *Additive Effect on Survival of Anaesthetic Cardiac Protection and Remote Ischemic Preconditioning in Cardiac Surgery: A Bayesian Network Meta-Analysis of Randomized Trials*. PLoS One, 2015. **10**(7): p. e0134264.
122. Lucchinetti, E., et al., *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): p. 1739-1746.
123. Baxter Deutschland GmbH. *Fachinformation Sevofluran Baxter*. [Internet] 2018 [Zugriffsdatum 17.09.2022]; Verfügbar auf: https://www.baxter.de/sites/g/files/ebysai1301/files/2019-01/isofluran_baxter_fs.pdf
124. Jedlicka, J., et al., *Inhalational anesthetics*. Anaesthesist, 2021. **70**(4): p. 343-355.
125. Loscar, M. and P. Conzen, *Volatile anesthetics*. Anaesthesist, 2004. **53**(2): p. 183-98.
126. Novalija, E., et al., *Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts*. Anesthesiology, 1999. **91**(3): p. 701-12.
127. Riess, M.L., et al., *Dual exposure to sevoflurane improves anesthetic preconditioning in intact hearts*. Anesthesiology, 2004. **100**(3): p. 569-574.
128. Cho, Y.J., et al., *Sevoflurane, Propofol and Carvedilol Block Myocardial Protection by Limb Remote Ischemic Preconditioning*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(2): p. 269.
129. Kaur, M. and P.M. Singh, *Current role of dexmedetomidine in clinical anesthesia and intensive care*. Anesth Essays Res, 2011. **5**(2): p. 128-33.
130. Bhana, N., K.L. Goa, and K.J. McClellan, *Dexmedetomidine*. Drugs, 2000. **59**(2): p. 263-8; discussion 269-70.
131. European Medicines Agency. *Dexdor: EPAR - Medicine overview*. [Internet] 2018 [Zugriffsdatum 14.09.2022]; Verfügbar auf: https://www.ema.europa.eu/documents/overview/dexdor-epar-medicine-overview_en.pdf
132. European Medicines Agency. *CHMP Summary of opinion (post authorisation) Dexdor*. [Internet] 2018 [Zugriffsdatum 14.09.2022]; Verfügbar auf: www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion/human/002268/WC500251164.pdf
133. Castillo, R.L., et al., *Dexmedetomidine Improves Cardiovascular and Ventilatory Outcomes in Critically Ill Patients: Basic and Clinical Approaches*. Front Pharmacol, 2019. **10**: p. 1641.
134. Bunte, S., et al., *Impact of Anesthetics on Cardioprotection Induced by Pharmacological Preconditioning*. Journal of Clinical Medicine, 2019. **8**(3): p. 396.
135. Bailey, L.E. and S.D. Ong, *Krebs-Henseleit solution as a physiological buffer in perfused and superfused preparations*. Journal of Pharmacological Methods, 1978. **1**(2): p. 171-175.
136. Sutherland, F.J. and D.J. Hearse, *The isolated blood and perfusion fluid perfused heart*. Pharmacological Research, 2000. **41**(6): p. 613-627.
137. Skrzypiec-Spring, M., et al., *Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium*. J Pharmacol Toxicol Methods, 2007. **55**(2): p. 113-26.
138. Langendorff, O., *Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen*. Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, 1895. **61**(6): p. 291-332.
139. Allen, D.G. and C.H. Orchard, *Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia*. Circ Res, 1987. **60**(2): p. 153-68.
140. Klein, H.H., et al., *The mechanism of the tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction*. Virchows Archiv A, 1981. **393**(3): p. 287-297.
141. Torregroza, C., et al., *Perioperative Kardioprotektion – „From bench to bedside“*. Der Anaesthesist, 2021: p. 401-41.
142. Ferdinandy, P., et al., *Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning*. Pharmacol Rev, 2014. **66**(4): p. 1142-74.
143. Busk, M., et al., *Effects of levosimendan on myocardial infarct size and hemodynamics in a closed-chest porcine ischemia-reperfusion model*. Cardiovasc Drugs Ther, 2006. **20**(5): p. 335-42.
144. Lindsey, M.L., et al., *Guidelines for experimental models of myocardial ischemia and infarction*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2018. **314**(4): p. H812-H838.
145. Bötter, H.E., et al., *Practical guidelines for rigor and reproducibility in preclinical and clinical studies on cardioprotection*. Basic Res Cardiol, 2018. **113**(5): p. 39.
146. Jamali, I.N., et al., *Intracoronary levosimendan enhances contractile function of stunned myocardium*. Anesth Analg, 1997. **85**(1): p. 23-9.
147. Ferrera, R., et al., *One hour reperfusion is enough to assess function and infarct size with TTC staining in Langendorff rat model*. Cardiovasc Drugs Ther, 2009. **23**(4): p. 327-31.

148. Meyer, K., et al., *Inotropic, vasodilating and preconditioning actions of levosimendan in the heart*. Thorac Cardiovasc Surg, 2008. **56**(7): p. 379-85.
149. Toller, W., et al., *Contractile action of levosimendan and epinephrine during acidosis*. Eur J Pharmacol, 2005. **507**(1-3): p. 199-209.
150. Kaheinen, P., et al., *Effects of levosimendan and milrinone on oxygen consumption in isolated guinea-pig heart*. J Cardiovasc Pharmacol, 2004. **43**(4): p. 555-61.
151. Behmenburg, F., et al., *Impact of Anesthetic Regimen on Remote Ischemic Preconditioning in the Rat Heart In Vivo*. Anesth Analg, 2018. **126**(4): p. 1377-1380.
152. Smul, T.M., et al., *Propofol inhibits desflurane-induced preconditioning in rabbits*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2011. **25**(2): p. 276-81.
153. Kobayashi, I., N. Kokita, and A. Namiki, *Propofol attenuates ischaemia-reperfusion injury in the rat heart in vivo*. Eur J Anaesthesiol, 2008. **25**(2): p. 144-51.
154. Zaugg, M., et al., *Choice of anesthetic combination determines Ca²⁺ leak after ischemia-reperfusion injury in the working rat heart: favorable versus adverse combinations*. Anesthesiology, 2012. **116**(3): p. 648-57.
155. Rahman, S., et al., *Phosphorylation of GSK-3 β mediates intralipid-induced cardioprotection against ischemia/reperfusion injury*. Anesthesiology, 2011. **115**(2): p. 242-53.
156. Liu, S.L., et al., *Protective effect of intralipid on myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart*. Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue, 2008. **20**(4): p. 227-30.
157. Sahinovic, M.M., M. Struys, and A.R. Absalom, *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Propofol*. Clin Pharmacokinet, 2018. **57**(12): p. 1539-1558.
158. Murphy, P.G., et al., *The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol)*. Br J Anaesth, 1992. **68**(6): p. 613-8.
159. An, J., et al., *Ischemic and anesthetic preconditioning reduces cytosolic [Ca²⁺] and improves Ca(2+) responses in intact hearts*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **281**(4): p. H1508-23.
160. Redel, A., et al., *Comparison of isoflurane-, sevoflurane-, and desflurane-induced pre- and postconditioning against myocardial infarction in mice in vivo*. Exp Biol Med (Maywood), 2009. **234**(10): p. 1186-91.
161. Qian, B., et al., *Upregulation of vascular endothelial growth factor receptor-1 contributes to sevoflurane preconditioning-mediated cardioprotection*. Drug Des Devel Ther, 2018. **12**: p. 769-776.
162. Berger, M.M., et al., *Hypoxia induces late preconditioning in the rat heart in vivo*. Anesthesiology, 2010. **113**(6): p. 1351-60.
163. Bonanni, A., et al., *Volatile Anesthetics versus Propofol for Cardiac Surgery with Cardiopulmonary Bypass: Meta-analysis of Randomized Trials*. Anesthesiology, 2020. **132**(6): p. 1429-1446.
164. Kocoglu, H., et al., *Preconditionin effects of dexmedetomidine on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats*. Curr Ther Res Clin Exp, 2008. **69**(2): p. 150-8.
165. Behmenburg, F., et al., *The Cardioprotective Effect of Dexmedetomidine in Rats Is Dose-Dependent and Mediated by BKCa Channels*. J Cardiovasc Pharmacol, 2017. **69**(4): p. 228-235.
166. Ibacache, M., et al., *Dexmedetomidine preconditioning activates pro-survival kinases and attenuates regional ischemia/reperfusion injury in rat heart*. Biochim Biophys Acta, 2012. **1822**(4): p. 537-45.
167. Riquelme, J.A., et al., *Dexmedetomidine protects the heart against ischemia-reperfusion injury by an endothelial eNOS/NO dependent mechanism*. Pharmacol Res, 2016. **103**: p. 318-27.
168. Bunte, S., et al., *Characteristics of Dexmedetomidine Postconditioning in the Field of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury*. Anesth Analg, 2020. **130**(1): p. 90-98.
169. Raupach, A., et al., *Dexmedetomidine Provides Cardioprotection During Early or Late Reperfusion Mediated by Different Mitochondrial K⁺-Channels*. Anesth Analg, 2021. **132**(1): p. 253-260.
170. Cheng, X.Y., et al., *Effects of dexmedetomidine postconditioning on myocardial ischemia and the role of the PI3K/Akt-dependent signaling pathway in reperfusion injury*. Mol Med Rep, 2016. **14**(1): p. 797-803.
171. Mimuro, S., et al., *Deterioration of myocardial injury due to dexmedetomidine administration after myocardial ischaemia*. Resuscitation, 2010. **81**(12): p. 1714-7.
172. Rossello, X. and D.M. Yellon, *Cardioprotection: The Disconnect Between Bench and Bedside*. Circulation, 2016. **134**(8): p. 574-5.
173. Heusch, G., *Critical Issues for the Translation of Cardioprotection*. Circ Res, 2017. **120**(9): p. 1477-1486.

174. Theiss, H.D., et al., *Preconditioning with levosimendan before implantation of left ventricular assist devices*. *Artif Organs*, 2014. **38**(3): p. 231-4.
175. Weber, C., et al., *Levosimendan Reduces Mortality and Low Cardiac Output Syndrome in Cardiac Surgery*. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2020. **68**(5): p. 401-409.

Danksagung

Zuvorderst möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Dr. Ragnar Huhn-Wientgen für die Überlassung des Themas und die gute Betreuung während der Erstellung dieser Arbeit bedanken.

Für die Korrektur der Arbeit und das produktive Feedback sowie die zahlreichen Hilfestellungen während der Versuchsdurchführungen möchte ich mich besonders bei Frau Privatdozentin Dr. Annika Raupach bedanken.

Für die Unterstützung während der Versuchsdurchführungen bedanke ich mich herzlich bei Frau Professorin Dr. Inge Bauer, Frau Claudia Dohle, Frau Birgitt Berke, Herrn Tobias Lill, Herrn Dr. Martin Ströthoff sowie Herrn Dr. Sebastian Bunte

Mein außerordentlicher Dank gilt meiner Familie und meiner Freundin Miriam Dodegge sowie meinem Freundeskreis ohne deren Unterstützung all das nicht möglich gewesen wäre.

Zuletzt danke ich Herrn Dr. Nikolaos Evagelopoulos, ohne den ich diesen Weg wahrscheinlich nicht eingeschlagen hätte.