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

Mechanismen der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion: Die Bedeutung von Connexin 43 (Cx43) sowie von mitochondrialen calciumsensitiven Kaliumkanälen (mBKCa)

- eine in-vitro Studie am isolierten Rattenherz -

Dissertation

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

> vorgelegt von Eileen Pickert 2023

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker Erstgutachter: Prof. Dr. Dr. med. Ragnar Huhn-Wientgen Zweigutachter: Prof. Dr. med. Amin Polzin

Meiner Familie in Liebe.

Ergebnisse und Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Behmenburg F., Pickert E., Mathes A., Heinen A., Hollmann M. W., Huhn R., Berger M. M.: The Cardioprotective Effect of Dexmedetomidine in Rats Is Dose-Dependent and Mediated by BKCa Channels, in: *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 69,4 (2017), S. 228–235.

Zusammenfassung

Kardiovaskuläre Erkrankungen zählen zu den führenden Todesursachen weltweit [1]. Aufgrund dieser Relevanz ist es von klinischem sowie wirtschaftlichem Interesse, Strategien zu identifizieren, die das Myokard nachhaltig schützen können. Insbesondere die pharmakologische Präkonditionierung (PC) des Myokards bietet aussichtsreiche Ansätze, den Ischämie- und Reperfusionsschaden am Herzen zu senken.

Der hochselektive Alpha-2-Adrenozeptor-Agonist Dexmedetomidin (Dex) schützt vor myokardialen Ischämie-Reperfusionsschäden, ebenso wie große, mitochondriale Kalzium-abhängige Kaliumkanäle (mBKCa) an der myokardialen PC beteiligt sind. Unbekannt ist, ob mBKCa-Kanäle bei der Dex-induzierten PC eine Rolle spielen. Die vorliegende Arbeit untersuchte, ob die Dex-induzierte PC über mBKCa-Kanäle vermittelt wird.

Es wurden Versuche an männlichen Wistar-Ratten in vitro durchgeführt. Die isolierten Herzen wurden an eine Langendorff-Anlage angeschlossen und mit einem modifizierten Krebs-Henseleit Puffer (KHB) bei einem konstanten Druck von 80 mmHg perfundiert. Alle Herzen durchliefen eine globale Ischämie von 33 Minuten und eine Reperfusion von 60 Minuten. Am Versuchsende wurde die Infarktgröße mittels TTC-Färbung bestimmt. Im ersten Versuchsprotokoll wurde Dex (10 nM) für 5, 10 bzw. 25 Minuten vor der Ischämie appliziert, um einen Zeiteffekt zu untersuchen. Im zweiten Versuchsprotokoll wurde Dex in Konzentrationen zwischen 0,1-30 nM verabreicht, um einen Dosiseffekt zu untersuchen. Im dritten Versuchsprotokoll wurden die Ratten in acht Gruppen (je n=8) randomisiert. Kontrollherzen (Con) blieben unbehandelt und die PC wurde via Applikation von 3 nM Dex über 5 Minuten vor der Ischämie induziert. In den weiteren Gruppen wurden der Connexin 43-Inhibitor Gap27 (6 µM) sowie der mBKCa-Kanalinhibitor Paxilline (Pax, 1µM) mit und ohne Dex für 10 Minuten appliziert. Als Positivkontrolle wurde der mBKCa-Kanalaktivator NS1619 (10 µM) mit und ohne Gap27 für 10 Minuten appliziert. Die statistische Auswertung erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse (one-way ANOVA) und Turkey Post-hoc-Test (MW±SD, p<0,05). Die Applikation von 3 nM Dex über 5 Minuten reduzierte die Infarktgröße auf 23±4% (p<0,0001 vs. Con: 48±5%). Gap27 und Paxilline blockierten beide die Dex-induzierte Kardioprotektion (Gap27+Dex: 50±7%, p=0,99 vs. Con; Pax+Dex: 49±5%, p=0,99 vs. Con). NS1619 reduzierte die Infarktgröße im selben Ausmaß wie Dex (NS1619: 28±5%, p=0,71 vs. Dex). Gap27 hatte keinen Einfluss auf die NS1619-induzierte Kardioprotektion (Gap27+NS1619: 23±5%).

Der Dex-induzierte Schutz vor Ischämie-Reperfusionsschäden in männlichen Rattenherzen wird über Connexin 43 (Cx43) und mBKCa-Kanäle vermittelt.

Abstract

Cardiovascular diseases are among the leading causes of death worldwide [1]. Due to this importance, it is of clinically and economically interest to identify strategies to ensure the sustainable protection of the myocardium. Especially the pharmacological preconditioning (PC) of the myocardium offers promising approaches to reduce the ischemic-reperfusion injury of the heart.

The highly selective alpha-2 adrenoceptor agonist Dexmedetomidine (Dex) protects against myocardial ischemia-reperfusion injury, as well as mitochondrial large-conductance calcium-activated potassium channels (mBKCa) are involved in the pathway of myocardial PC. It is unknown whether mBKCa-channels play a role in Dex-induced PC. The present paper investigated if the Dex-induced PC is mediated by mBKCa-channels.

The experiments were performed on male Wistar rats in vitro. The isolated hearts were mounted on a Langendorff-Apparatus and perfused with a modified Krebs-Henseleit buffer (KHB) at a constant pressure of 80 mmHg. All hearts underwent 33 minutes of global ischemia followed by 60 minutes of reperfusion. At the end of the experiments the infarct size was determined by TTC staining. In the first set of experiments, Dex (10 nM) was administered for 5, 10 or 25 minutes before the ischemia for characterization of a time-effect relationship. In the second set of experiments, Dex was administered at different doses (0,1-30 nM) for characterization of a dose-effect relationship. In the third set of experiments, rats were randomized in 8 groups (each n=8). Control hearts (Con) were left unconditioned, and PC was induced via application of 3 nM Dex over 5 minutes. In the other groups, the Connexin 43 inhibitor peptide Gap27 (6 µM) as well as the mBKCa-channel inhibitor Paxilline (1 µM) were applied with and without 3 nM Dex for 10 minutes. As positive control, the mBKCa-channel activator NS1619 (10 µM) was applied with and without Gap27 over 10 minutes. Statistical evaluation was made with one-way analysis of variance (one-way ANOVA) and Turkey's post hoc test (MW±SD, p<0,05). The application of 3 nM Dex for 5 minutes reduced the infarct size to 23±4% (p<0,0001 vs. Con: 48±7%). Gap27 and Paxilline both blocked the Dex-induced cardioprotection (Gap27+Dex: 50±7%, p=0.99 vs. Con; Pax+Dex: 49±5%, p=0,99 vs. Con). NS1619 reduced infarct size to the same extent as Dex (NS1619: 28±5%, p=0,71 vs. Dex). Gap27 did not have an impact on NS1619-induced cardioprotection (Gap27+NS1619: 23±5%).

The Dex-induced protection against ischemia-reperfusion injury in male rat hearts is mediated via Connexin 43 (Cx43) and mBKCa-channels.

Abkürzungsverzeichnis

AAR	area at risk; Infarkt-gefährdetes Gebiet				
Abb.	Abbildung				
AKT	Proteinkinase B				
ANOVA	analysis of variance; Varianzanalyse				
AoP	aortal pressure; Aortaler Druck				
ATP	Adenosintriphosphat				
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte				
BK	big potassium				
bpm	beats per minute; Schläge pro Minute				
°C	Grad Celsius				
Ca ²⁺	Calcium				
CF	coronary flow; Koronarfluss				
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat				
Con	control; Kontrolle				
Cx43	Connexin 43				
Dex	Dexmedetomidin				
DMSO	Dimethylsulfoxid				
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure				
engl.	englisch				
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase				
EMA	European Medicines Agency; Europäische Arzneimittel-Agentur				
ERK1/2	extracellular signal-regulated protein kinase 1/2				
FDA	Food and Drug Administration				
FGF-2	fibroblast growth factor-2; Fibroblasten-Wachstumsfaktor 2				
FWOP	first window of preconditioning				
g	Gramm				
GABA	γ-Aminobuttersäure				
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung				

GSK3ß	Glykogensynthase-Kinase 3				
\mathbf{H}^{+}	Wasserstoff				
HCL	Chlorwasserstoffsäure ("Salzsäure")				
HDL	High Density Lipoprotein				
HR	heart rate; Herzfrequenz				
IPC	Ischemic Preconditioning; Ischämische Präkonditionierung				
\mathbf{K}^{+}	Kalium				
kDA	Kilodalton				
KG	Körpergewicht				
КНВ	Krebs-Henseleit buffer; Krebs-Henseleit-Puffer				
КНК	Koronare Herzkrankheit				
LDL	Low Density Lipoprotein				
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck				
LVSP	linksventrikulärer systolischer Druck				
max.	maximal				
mBKCa	mitochondrialer calciumsensitiver Kaliumkanal mit hoher Leitfähigkeit				
min	Minute				
ml	Milliliter				
mМ	Millimolar				
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule				
mPTP	<i>mitochondrial permeability transition pore</i> ; mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore				
MW	Mittelwert				
Na^+	Natrium				
NaCl	Natriumchlorid				
NO	Stickstoffmonoxid				
Pax	Paxilline				
PC	preconditioning; Präkonditionierung				
PCI	percutaneous coronary intervention; perkutane Koronarintervention				
рН	potentia Hydrogenii, Potential des Wasserstoffs				
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase				

РКС	Proteinkinase C
PKG	Proteinkinase G
RISK	Reperfusion Injury Salvage Kinase
RPP	rate pressure product
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SAFE	Survivor Activation Factor Enhancement
SD	Standardabweichung
sGC	lösliche Guanylatcyklase
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
SWOP	second window of preconditioning
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
USA	United States of America; Vereinigte Staaten von Amerika
VS.	versus
WHO	World Health Organization; Weltgesundheitsorganisation
ZETT	Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitur	ng	1
1	.1 Isch	ämische Herzerkrankungen	2
	1.1.1	Hibernation, Stunning und akuter Myokardinfarkt	2
	1.1.2	Ischämie-Reperfusionsschaden	4
1	.2 Präl	konditionierung als Möglichkeit der Kardioprotektion	8
	1.2.1	Ischämische Präkonditionierung	8
	1.2.2	Pharmakologische Präkonditionierung	10
	1.2.3	Mechanismen der Präkonditionierung	11
1	.3 Dex	medetomidin	12
	1.3.1	Pharmakodynamische sowie pharmakokinetische Eigenschaften	13
	1.3.2	Klinische Bedeutung	14
	1.3.3	Dexmedetomidin-induzierte Präkonditionierung	15
1	.4 Ziel	e der Arbeit	16
2.	Material	und Methode	18
2	.1 Mat	erial	18
	2.1.1	Versuchstiere	18
	2.1.2	Krebs-Henseleit-Puffer	18
	2.1.3	Die genutzten Substanzen	19
	2.1.4	Verwendete Geräte, Materialien, Gase und Chemikalien	23
2	.2 Met	hode	26
	2.2.1	Die Langendorff-Anlage	26
	2.2.2	Herstellung des Krebs-Henseleit-Puffers	29
	2.2.3	Vorbereitung der Langendorff-Anlage	30
	2.2.4	Präparation und Organentnahme	30
	2.2.5	Vorbereitung des Herzens an der Langendorff-Anlage	31
	2.2.6	Versuchsprotokolle	31
	2.2.6.1	Zeitfindungsstudie	32
	2.2.6.2	Dosisfindungsstudie	32
	2.2.6.3	Signaltransduktionsweg	33
	2.2.7	TTC-Färbung der Rattenherzen	35
	2.2.8	Statistische Auswertung	36
3.	Ergebnis	se	37
3	.1 Erg	ebnisse des ersten Versuchsprotokolls: Zeitfindungsstudie	37
	3.1.1	Infarktgrößenauswertung	37
	3.1.2	Hämodynamik	38

3.	2	Ergebnisse des zweiten Versuchsprotokolls: Dosisfindungsstudie	40
	3.2.1	Infarktgrößenauswertung	40
	3.2.2	Hämodynamik	41
3.	.3	Ergebnisse des dritten Versuchsprotokolls: Signaltransduktionsweg	43
	3.3.1	Infarktgrößenauswertung	43
	3.3.2	Hämodynamik	44
	3.3.3	Tier- und Herzcharakteristika	46
4.	Disk	ussion	47
4.	1	Diskussion von Material und Methode	
	4.1.1	Die Langendorff-Anlage	48
	4.1.2	Der modifizierte Krebs-Henseleit-Puffer	50
	4.1.3	Versuchstiere	52
	4.1.4	Genutzte Substanzen	52
4.	2	Diskussion der Ergebnisse	56
	4.2.1	Die Dexmedetomidin-induzierte Präkonditionierung	56
	4.2.2	Dosis und Dauer der Dexmedetomidin-Applikation	59
	4.2.3	Effekte von Dexmedetomidin auf die kardiale Funktion	60
	4.2.4	Limitationen und Ausblick	61
5.	Schl	ussfolgerung	63
6.	Lite	ratur- und Quellenverzeichnis	65
7.	Dan	ksagung	79

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Der Ionen-Austausch während der Ischämie	6
Abb. 2: Der Ionen-Austausch während der Reperfusion	7
Abb. 3: Zu untersuchender möglicher Signaltransduktionsweg der Dexmedetomi	din-
induzierten Kardioprotektion	17
Abb. 4: Strukturformel von Dexmedetomidin	19
Abb. 5: Strukturformel von Paxilline	20
Abb. 6: Strukturformel von NS1619	21
Abb. 7: Strukturformel von Pentobarbital	22
Abb. 8: Strukturformel von TTC	23
Abb. 9: Strukturformel von DMSO	23
Abb. 10: Aufbau der Langendorff-Anlage	28
Abb. 11: Versuchsprotokoll zur Zeitfindungsstudie	32
Abb. 12: Versuchsprotokoll zur Dosisfindungsstudie	33
Abb. 13: Versuchsprotokoll zum Signaltransduktionsweg	34
Abb. 14: Umbau von Tetrazolium zu Formazan mittels Reduktase in lebenden Ze	ellen 35
Abb. 15: Herzscheibe nach TTC-Färbung	35
Abb. 16: Infarktgrößenauswertung der Zeitfindungsstudie	38
Abb. 17: Infarktgrößenauswertung der Dosisfindungsstudie	41
Abb. 18: Infarktgrößenauswertung des Versuchsprotokolls zum	
Signaltransduktionsweg	44
Abb. 19: Möglicher Signaltransduktionsweg der Dexmedetomidin-induzierten	
Kardioprotektion	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung des modifizierten Krebs-Henseleit-Puffers	19
Tabelle 2: Liste der Chemikalien	24
Tabelle 3: Liste der Hard- und Software	24
Tabelle 4: Liste der Labormaterialien und Laborgeräte	25
Tabelle 5: Liste der Gase	25
Tabelle 6: Liste der Bestandteile der Langendorff-Anlage	26
Tabelle 7: Übersicht über die gemessenen hämodynamischen Parameter	29
Tabelle 8: Infarktgrößenauswertung der Zeitfindungsstudie	37
Tabelle 9: Hämodynamische Werte der Zeitfindungsstudie	39
Tabelle 10: Infarktgrößenauswertung der Dosisfindungsstudie	40
Tabelle 11: Hämodynamische Werte der Dosisfindungsstudie	42
Tabelle 12: Infarktgrößenauswertung des Versuchsprotokolls zum	
Signaltransduktionsweg	43
Tabelle 13: Hämodynamische Werte des Versuchsprotokolls zum	
Signaltransduktionsweg	45
Tabelle 14: Darstellung der Körpergewichte, Herzgewichte sowie Zeitpunkt und Hö	ihe
der max. ischämischen Kontraktur	46

1. Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen zählen bis heute zu den führenden Todesursachen weltweit. Laut Statistik der Weltgesundheitsorganisation (WHO) stieg im Zeitraum zwischen dem Jahr 2000 und dem Jahr 2019 die Anzahl der an einer ischämisch bedingten Herzkrankheit Verstorbenen um mehr als 2 Millionen Todesfälle auf 8,9 Millionen Tote pro Jahr. Damit waren 2019 ca. 16 % aller Tode weltweit durch ischämische Herzkrankheiten bedingt [1].

Auch in Deutschland waren Herz-Kreislauferkrankungen mit 33,3 % in der Todesursachenstatistik 2021 führend. Mit 121.172 Fällen, verteilt auf 52.272 Frauen und 68.900 Männer, war unter den Herz-Kreislauferkrankungen die ischämische Herzkrankheit am häufigsten vertreten, was einem prozentualen Anteil von 21,9 % entspricht. Akute oder rezidivierende Myokardinfarkte, wesentliche Folgen einer ischämischen Herzerkrankung, wurden separat gezählt und waren mit insgesamt 45.181 Fällen, davon 18.074 Frauen und 27.107 Männer, für 13,3 % der herzkreislaufbedingten Todesfälle verantwortlich [2]. Darüber hinaus zeigt sich vor, während und nach nicht-kardiochirurgischen Interventionen ein Anstieg in Morbidität und Mortalität bei Vorhandensein von kardiovaskulären Risikofaktoren [3]. Insbesondere der perioperative Myokardinfarkt ist einer mit schlechten Überlebensprognose verbunden [4], sodass der Schutz kardialer Risikopatienten in der medizinischen Forschung einen wichtigen Stellenwert einnimmt.

Neben den individuellen Folgen verursachen Herz-Kreislauf-Erkrankungen zudem enorme gesellschaftliche Kosten. Im Jahr 2020 betrugen die durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursachten Aufwendungen etwa 56,7 Milliarden Euro und somit 13,1 % der Gesamtausgaben im deutschen Gesundheitswesen [5], wobei sich über die Jahre eine deutlich steigende Tendenz abzeichnet. Im direkten Vergleich zwischen den Jahren 2015 und 2020 sind die Kosten für Herz-Kreislauferkrankungen um ca. 12,2 Milliarden Euro gestiegen, was einem Anstieg der Krankheitskosten von 550 \in auf $680 \in$ pro Einwohner entspricht. Hieran zeigt sich die hohe klinische sowie wirtschaftliche Relevanz kardiovaskulärer Erkrankungen und die damit verbundene, entscheidende Bedeutung, die einer weiteren Verbesserung der Prävention und Behandlung ischämischer Herzerkrankungen zukommt.

1.1 Ischämische Herzerkrankungen

Bei der ischämischen Herzerkrankung, auch koronare Herzerkrankung (KHK) genannt, handelt es sich um eine Manifestation von Arteriosklerose in den Herzkranzarterien [6], wobei es durch Plaquebildung zu Verengungen in den betroffenen Gefäßen kommt. Als Ausgangspunkt für die Entstehung der Plaques wird eine Dysfunktion des Endothels diskutiert, infolgedessen sich LDL-Moleküle in die subendothelialen Schichten der *Tunica intima* einlagern, wo diese zu Entzündungsreaktionen und Bildung arteriosklerotischer Beete führen. Hauptrisikofaktoren für die Entstehung von Arteriosklerose und damit ischämischen Herzerkrankungen sind folglich ein erhöhtes LDL-Cholesterin, ein erniedrigtes HDL-Cholesterin, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus und genetische Dispositionen [7]. Dabei begünstigt eine in den industrialisierten Ländern vorherrschende Ernährungsweise mit hohen Anteilen an gesättigten Fettsäuren, Zuckerzusätzen und Kohlenhydraten mit hohem glykämischen Index die Verschiebung zu Gunsten eines erhöhten LDL-Cholesterins [8], was sich in der Anzahl der kardiovaskulären Erkrankungen widerspiegelt.

Durch die Verengungen der Koronararterien aufgrund arteriosklerotischer Plaques kommt es zu einer verringerten Durchblutung im entsprechenden Versorgungsgebiet, wodurch bei steigender Belastung die Gefahr einer Dysbalance zwischen Sauerstoffangebot sowie Sauerstoffbedarf besteht. Die verminderte oder aufgehobene Sauerstoffversorgung eines Versorgungsareals durch die Einschränkung oder Unterbrechung der arteriellen Blutzufuhr wird als Ischämie bezeichnet. In Abhängigkeit von Dauer und Ausmaß der Ischämie kann es zu unterschiedlichen Syndromen kommen, die *Hibernation, Stunning* und Infarkt genannt werden [9].

1.1.1 Hibernation, Stunning und akuter Myokardinfarkt

Nach Verschluss eines Koronargefäßes nimmt die Kontraktilität im ischämischen Areal unmittelbar ab [10]. Durch die Reduktion der myokardialen kontraktilen Funktion kommt es zu einer aktiven Anpassung des Energieverbrauchs des Herzens an das verminderte Energieangebot. Dieser Prozess wird als *Hibernation* (engl. für "Winterschlaf") bezeichnet und wurde erstmals in den frühen achtziger Jahren von dem Kardiologen Shahbudin Rahimtoola bei Patienten beschrieben, die aufgrund einer koronaren Herzkrankheit eine Bypassoperation erhalten hatten [11]. Mittels Verringerung des myokardialen Energieverbrauchs ist das Herz in der Lage, trotz des verminderten Sauerstoffangebots eine ausreichende Pumpfunktion aufrechtzuerhalten und damit eine Nekrose zu vermeiden. Bei der *Hibernation* handelt es sich folglich um einen reversiblen Prozess, sodass es bei erneut einsetzender Reperfusion zu einer vollständigen Erholung der kontraktilen Herzfunktion kommt [12, 13, 14].

Die kontraktile Funktion des Herzens ist in der Lage, sich in Abhängigkeit von der Dauer und Schwere der vorherigen Ischämiephase zu regenerieren [15], wobei die Regeneration trotz sofortiger Reperfusion eine gewisse Zeit in Anspruch nehmen kann. Anhaltende, postischämische Dysfunktionen des Myokards werden als *Stunning* (engl. *to stun*: betäuben) bezeichnet. Ein *stunned* Myokard ist folglich bereits normal perfundiert, jedoch noch bewegungslos [16], erholt sich allerdings nach einer gewissen Zeit vollständig.

Kommt es nach Eintritt einer Ischämie bei anhaltendem Sauerstoffmangel zu einem Untergang der Kardiomyozyten, spricht man von einem Myokardinfarkt. Dieser betrifft zunächst die subendothelialen Schichten und breitet sich mit anhaltender Ischämiedauer nach epikardial aus, wobei das maximale Ausmaß nach ca. 4 bis 6 Stunden erreicht wird [17]. Der durch die Nekrose der Kardiomyozyten hervorgerufene Funktionsverlust der betroffenen Herzmuskelanteile ist irreversibel und kann auch nicht durch das Wiedereinsetzen einer Durchblutung wiederhergestellt werden. Da die Prognose eines Patienten bezüglich seiner Überlebenschance nach stattgehabtem Infarktgeschehen maßgeblich von der Größe des Infarkts abhängig ist [18], besteht ein großes Interesse an der Erforschung und Etablierung von Interventionen zur zuverlässigen und schnellstmöglichen Reperfusion, um noch vitale Zellen vor dem Untergang zu schützen und so die Herzfunktion aufrecht zu erhalten. Ein Großteil der Myokardinfarkte wird durch intraluminale Thromben ausgelöst. Insbesondere arterielle Hyper- und Hypotonien, Arrhythmien mit Tachykardien sowie Anämien können durch Erhöhung von Wandspannung und Herzarbeit über die Aktivierung des Sympathikus zu einer Ausschüttung von Katecholaminen und Cortisol führen, was die vormals stabilen Arteriosklerose-Plaques instabil werden lässt. Durch Thrombozytenaggregation bildet sich aus den freigesetzten thrombogenen Plaqueinhalten, Makrophagen und Lipiden ein Thrombus, der die Koronararterie teilweise oder vollständig verschließt. Seltener führen Embolien, Vaskulitiden, Koronarspasmen oder Koronardissektionen zu einem verminderten Blutfluss und damit zu einer verringerten Versorgung der Herzkranzarterien [19].

Der Goldstandard der therapeutischen Interventionen stellt folglich nach wie vor die Beseitigung etwaiger Thromben zur Wiederherstellung des Blutflusses dar. Mittel der Wahl ist die perkutane Koronarintervention (engl.: *percutaneous coronary intervention*, PCI), ein Sammelbegriff für minimal-invasive Verfahren, wobei die häufigste Methode die Einführung und Insufflation eines Ballonkatheters in ein Koronargefäß dargestellt, wodurch der stenotische Gefäßabschnitt aufgeweitet wird. Um das Primärergebnis zu sichern und die Restenoserate zu verringern, wird häufig unmittelbar im Anschluss eine Stent-Implantation vorgenommen [20]. Steht ein derartiges Verfahren nicht rechtzeitig zur Verfügung, sollte eine medikamentöse Fibrinolyse erfolgen, bei welcher der Thrombus aufgelöst und die Durchblutung wiederhergestellt wird [21, 22].

Durch Verbesserungen der präventiven, rehabilitativen und therapeutischen Maßnahmen hat die Mortalitätsrate (Gestorbene je 100.000 Einwohner) des akuten Myokardinfarkts zwischen den Jahren 2000 und 2020 in Deutschland deutlich von 268,8 auf 131,9 abgenommen [23], dennoch beträgt die Sterblichkeit in der Akutphase, abhängig von den kardiovaskulären Begleiterkrankungen eines Patienten, noch bis zu 9 % [24, 25]. Als hierfür mitursächlicher Faktor ist die schlechte Beherrschbarkeit des Einflusses des sogenannten Ischämie-Reperfusionsschadens zu diskutieren, denn obwohl durch die Reperfusion einerseits das ischämieinduzierte Infarktgebiet limitiert werden kann, führt die Reperfusion andererseits selbst zu Gewebeschäden.

1.1.2 Ischämie-Reperfusionsschaden

Ischämie-Reperfusionsschaden, in der Literatur gelegentlich auch nur Als ,Reperfusionsschaden' genannt, bezeichnet man die durch die Reperfusion eines Organs hervorgerufenen Schäden an Zellen, welche die Phase der Ischämie initial überlebt haben. Die Auswirkungen von Ischämie-Reperfusionsschäden wurden an einer Vielzahl von Organen nachgewiesen, sodass sich eine ernsthafte Relevanz für verschiedene medizinische Interventionen wie beispielsweise der Lysetherapie, der Organtransplantation oder dem kardiopulmonalen Bypass ergibt [26, 27].

In Bezug auf das Herz manifestiert sich der Ischämie-Reperfusionsschaden als mikrovaskuläre Dysfunktion mit erhöhter Kapillarpermeabilität, Ödembildung, koronarer Mikroembolisation und Freisetzung vasokonstriktiver Substanzen, wodurch es in letzter Konsequenz zu einem Zelluntergang der betroffenen Kardiomyozyten kommt [28]:

Bei anhaltender Ischämie geraten die Kardiomyozyten aufgrund der Unterversorgung mit Sauerstoff von einer aeroben in eine anaerobe Stoffwechsellage. Durch die Sauerstoffminderversorgung wird der in den Mitochondrien lokalisierten Atmungskette, in welcher mittels oxidativer Phosphorylierung sauerstoffabhängig Adenosintriphosphat (ATP) gebildet wird, das Substrat entzogen und die ATP-Konzentration in der Zelle sinkt. Mittels der stattdessen ablaufenden anaeroben Glykolyse kann zwar kurzzeitig der Energiebedarf der Zelle gedeckt werden, es kommt jedoch bei anhaltender Sauerstoffminderversorgung und damit Aufrechterhaltung der anaeroben Energiegewinnung zu einer Akkumulation von Laktat und Phosphat als Stoffwechselprodukte der anaeroben Glykolyse. Dies wiederum bedingt einen Abfall des pH-Wertes in der Zelle [29]. Durch die Azidose wird vermehrt der in der Zellmembran befindliche Na⁺/H⁺-Antiporter aktiviert, welcher Protonen aus und Natrium in die Zelle schleust, was zu einer Erhöhung der intrazellulären Natriumkonzentration führt. Aufgrund des Fehlens von ATP werden ATP-abhängige Membrantransporter wie die Na⁺/K⁺-ATPase in ihrer Funktion gehemmt, sodass sich die intrazelluläre Natriumkonzentration zusätzlich erhöht. Durch die unphysiologisch hohe Natriumkonzentration in der Zelle kommt es zu einer Umkehr der Funktion des Na⁺/Ca²⁺-Austauschers, der entgegengesetzt zum physiologischen Zustand arbeitet und nun Natrium aus und Calcium in die Zelle transportiert, wodurch der intrazelluläre Calciumgehalt steigt [30, 31]. Hierdurch erfolgt eine gestörte diastolische Relaxation, was die myokardiale Wandspannung erhöht und somit zu Mikrozirkulationsstörungen führt. Zudem kommt es zu einer intrazellulären Ödembildung, was zusätzlich zur Schädigung von Zellmembran sowie Zellorganellen beiträgt und die Gefahr einer Zellruptur erhöht. Aufgrund des niedrigen pH-Wertes werden diese Prozesse jedoch verlangsamt und die sogenannte mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore (engl.: mitochondrial permeability transition pore, mPTP) an der inneren Mitochondrienmembran bleibt verschlossen, was die Zelle vor dem programmierten Zelltod durch Triggerung der Apoptose schützen kann [32, 33].

Abbildung 1 (Abb. 1) zeigt die Elektrolytverschiebungen in den Kardiomyozyten während der Ischämie.



Abb. 1: Der Ionen-Austausch während der Ischämie.

1) Aufgrund der Senkung des pH-Wertes durch Lactat befördert der Na⁺/H⁺-Antiporter vermehrt H⁺ aus und Na⁺ in die Zelle. 2) Durch den verminderten ATP-Gehalt wird die Na⁺/K⁺-ATPase deaktiviert; der intrazelluläre Na-Gehalt steigt weiter. 3) Durch den hohen Na⁺-Gehalt kommt es zur Umkehr der Funktion des Na⁺/Ca²⁺-Austauschers und der intrazelluläre Calciumgehalt steigt. Abbildung modifiziert nach Shoji Sanada, Issei Komuro und Masafumi Kitakaze, 2011 [34].

Kommt es im Zuge der Reperfusion zu einer wiederhergestellten Sauerstoffversorgung, kann die ATP-Gewinnung durch oxidative Phosphorylierung erneut stattfinden (s. Abb. 2). Dabei zeigt sich neben der Normalisierung des intrazellulären pH-Wertes durch die Auswaschung des Laktats auch ein zusätzlicher Anstieg von reaktiven Sauerstoffspezies (engl.: reactive oxygen species, ROS), die im Myokard als Reaktion auf Verletzungen sowie auf Schädigungen in Komplexen der Atmungskette freigesetzt werden. Der rapide veränderte pH-Wert im Zusammenspiel mit der weiterhin bestehenden intrazellulären Calcium-Überladung sowie das vermehrte Vorhandensein von ROS bedingen die Öffnung der mPTP an der inneren Mitochondrienmembran. Die Öffnung dieser unspezifischen Membranpore hat den Verlust des mitochondrialen Membranpotentials zur Folge, was schließlich in einer Sistierung der ATP-Synthese resultiert [32, 35]. In die Mitochondrien strömt nun entlang des osmotischen Gradienten Wasser ein, was ein Anschwellen des Mitochondriums bedingt und eine Ruptur der äußeren Mitochondrienmembran zur Folge hat [36]. Bei diesem Vorgang werden erneut Calcium sowie Cytochrom c, ein kleines Protein der mitochondrialen Atmungskette, welches als Elektronentransporter bei der oxidativen Phosphorylierung eine wesentliche Rolle spielt, ins Zellplasma freigesetzt. Cytochrom c, welches eigentlich Cardiolipin an der inneren Mitochondrienmembran fixiert und damit dessen Austritt aus den Mitochondrien

verhindert, wirkt in seinem freigesetzten Zustand als Trigger für die Bildung von apoptotischen Signalen und damit als Vermittler des programmierten Zelltods [37]. Die diese Veränderungen begleitende Aktivierung der intrazellulären Protease Calpain, welche zuvor noch durch das saure Milieu gehemmt wurde, bedingt eine Spaltung verschiedener Proteine des Cytoskeletts der Zelle und führt damit zu deren weiterer Instabilität. Diese Instabilität wird ebenso durch den deutlich verstärkten Calciumüberschuss in der Zelle verschärft, der durch die übermäßige Anregung des kontraktilen Apparats im reperfundierten Myokard weitere Schädigungen der Zellstruktur verursacht. Durch die Hyperkontraktur der Kardiomyozyten kommt es zu einer Ausbildung von apoptotischen Kaskaden in dem betroffenen Areal, was letztlich Kontraktionsbandnekrosen zur Folge hat [34]. Schließlich erfolgt die chemotaktische Einwanderung neutrophiler Granulozyten über Zelladhäsionsmoleküle, was über eine weitere Bildung von ROS und einen enzymatischen Abbau sowie die Verstopfung von Blutgefäßen die Zerstörung der Kardiomyozyten bedingt [31].



Abb. 2: Der Ionen-Austausch während der Reperfusion. 1) Aufgrund der Laktat-Ausschwemmung und dadurch raschen Normalisierung des pH-Wertes kommt es zur starken Abgabe von H⁺. 2) Akkumuliertes Na⁺ wird abgegeben, was einen Einstrom von Ca²⁺ über den Na⁺/Ca²⁺-Austauscher bedingt. 3) Der Wiederausscheidung von Ca²⁺ folgt eine Erholung der ATP-Synthese. Abbildung modifiziert nach Shoji Sanada, Issei Komuro und Masafumi Kitakaze, 2011 [34].

Das Ausmaß des Gesamtschadens ist sowohl durch die Ischämie als auch durch die während der Reperfusion ablaufenden Prozesse bedingt [30]. Um den Ischämie- und Reperfusionsschaden möglichst gering zu halten ist es daher essenziell, die Blutversorgung in dem betroffenen Areal einerseits so schnell wie möglich wiederherzustellen und andererseits kardioprotektive Strategien zu entwickeln, die das Herz vor den Auswirkungen des Ischämie-Reperfusionsschadens schützen.

1.2 Präkonditionierung als Möglichkeit der Kardioprotektion

Unter dem breit gefassten Terminus der ,Kardioprotektion' versteht man all jene Maßnahmen sowie Mechanismen, welche das Risiko eines Myokardinfarkts senken und die Toleranz des Herzens gegenüber Ischämie- und Reperfusionsschäden steigern. Neben leitliniengerechter Diagnostik, pharmakologischer Therapie, operativen Interventionen und präventiven Strategien gehören hierzu auch die Maßnahmen der Konditionierung des Herzens. Der Begriff ,Konditionierung' fasst dabei verschiedene endogene Prozesse zusammen, die eine erhöhte Toleranz des Myokards gegenüber Schäden durch Ischämie und Reperfusion induzieren. Je nachdem in welchem zeitlichen Zusammenhang die Konditionierung zur Phase der Ischämie steht, unterscheidet man die Präkonditionierung, welche der Ischämie zeitlich vorangestellt ist.

Im Zuge dieser Arbeit wird vor allem das Potential der Präkonditionierung diskutiert. Dabei bezeichnet "Präkonditionierung" einen Vorgang, bei dem das Herz durch einmalige oder repetitive Stimuli in die Lage versetzt wird, herzeigene Prozesse zu triggern, welche es vor später auftretenden und eventuell gravierenderen Reizen schützen können. Eine Präkonditionierung des Herzens kann über verschiedene Wege erreicht werden, etwa über die ischämische oder die pharmakologische Präkonditionierung.

1.2.1 Ischämische Präkonditionierung

Die ischämische Präkonditionierung (engl.: *ischemic preconditioning*, IPC) des Herzens bezeichnet eine Maßnahme, bei der Kardiomyozyten durch kurze, nicht schädigende Ischämie-Reperfusionszyklen auf eine darauffolgende, länger andauernde Ischämie vorbereitet werden. Durch diese Methodik werden endogene Schutzmechanismen getriggert, welche die Toleranz der Herzzellen gegenüber den Auswirkungen einer konsekutiven Index-Ischämie erhöhen und somit vor einer deletären Ischämie schützen können [38, 39].

Im Jahr 1986 wiesen Murry et al. die IPC erstmals anhand einer Versuchsreihe mit Hundeherzen *in vivo* nach. In der experimentellen Studie unterlief die erste Kohorte vier Zyklen mit jeweils einer fünfminütigen Ischämiephase und einer fünfminütigen Reperfusionsphase, ehe sie einer langandauernden Koronarokklusion von 40 Minuten ausgesetzt wurde, die einen Myokardinfarkt simulieren sollte. Eine Kontrollgruppe wurde nur der vierzigminütigen Koronarokklusion ausgesetzt. Nach einer viertägigen Reperfusions- und Erholungszeit zeigte die Infarktgrößenbestimmung im myokardialen Risikogebiet (engl.: *area at risk*, AAR) der ischämisch präkonditionierten Gruppe mit 7,3 % eine Infarktgrößenreduktion um bis zu 75 % im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 29,4 %. Durch diesen Versuchsaufbau konnte nachgewiesen werden, dass eine IPC zu einem signifikant verbesserten *Outcome* nach einer Ischämie beitragen und damit das Herz vor den Folgen eines Ischämie-Reperfusionsschadens schützen kann [40].

In den folgenden Jahren nach der Erstbeschreibung des Phänomens konnten die kardioprotektiven Effekte der IPC in verschiedenen tierexperimentellen Studien wiederholt bestätigt und weiter differenziert werden, beispielsweise 1990 an Schweinen [41], 1992 und 1995 an Ratten [42, 43], 2003 und 2009 an Hunden [44, 45] und 2014 an Kaninchen [46]. Neben dem Nachweis eines protektiven Effekts der IPC auf das Herz gelang darüber hinaus der Nachweis protektiver Effekte auf weitere Organe bzw. Gewebestrukturen, wie beispielsweise auf die Leber [47], die Nieren [48, 49], das Gehirn [50], die Lungen [51], den Gastrointestinaltrakt [52] sowie die Skelettmuskulatur [53]. Den Schutz durch IPC am menschlichen Herzen konnten erstmals Yellon et al. 1993 im Rahmen einer Bypass-Operation beobachten. Sie wiesen nach, dass bei Patienten, die eine IPC erhalten hatten, ein höherer ATP-Gehalt in den Myokardbiopsien belegbar war. Daraus leiteten sie eine erhöhte Resistenz des betroffenen Gewebes gegenüber Ischämien ab [54].

Bereits 1993 gelang in verschiedenen Studien die Unterscheidung zweier Phasen der IPC: Die frühe Phase (engl.: *first window of preconditioning*, FWOP) tritt unmittelbar nach dem ischämischen Stimulus auf und schützt den Herzmuskel für bis zu drei Stunden vor einem Zelluntergang. Das Potential des FWOP geht verloren, wenn der zeitliche Abstand zwischen dem Stimulus und der myokardialen Ischämie länger als ca. ein bis zwei Stunden beträgt [55, 56, 57]. Es wird angenommen, dass der sofortige Schutz auf eine Rekrutierung von bereits vorhandenen Signalmolekülen zurückzuführen ist [58]. Im Gegensatz dazu tritt die späte Phase (engl.: *second window of preconditioning*, SWOP) ca. 12 bis 24 Stunden nach dem ischämischen Stimulus auf und schützt das Herz für etwa 48 bis 72 Stunden vor Ischämie- und Reperfusionsschäden [55, 56, 57]. Beim SWOP ist die Induktion der Expression von Signalproteinen für den kardioprotektiven Effekt verantwortlich [59], sodass sich insgesamt zwei Zeiträume ergeben, aus denen sich Möglichkeiten entwickeln lassen,

das Herz vor Schäden zu schützen. Gleichsam ist ein Erklärungsansatz gefunden, warum ein Zeitraum existiert, indem es keinerlei wirkungsvolle Effekte der IPC gibt.

Nachteile der IPC für den klinischen Alltag stellen die Invasivität der Methode sowie die erschwerte Umsetzbarkeit dar. Zur Durchführung einer direkten ischämischen Präkonditionierung am Myokard wäre ein Gefäßzugang zu den Koronarien notwendig, was durch die Manipulation an den Gefäßwänden die Gefahr der Ablösung arteriosklerotischer Plaques mit sich bringt. Des Weiteren wäre ein derartiges Procedere lediglich bei elektiv durchgeführten Herzoperationen oder perkutanen Koronarinterventionen möglich, was den Anwendungsbereich deutlich einschränkt. Es besteht folglich ein großes Interesse daran, die der myokardialen Präkonditionierung zugrundeliegenden Signalkaskaden zu erforschen, um einzelne Effektoren der Transduktionskette beispielsweise pharmakologisch zu aktivieren – ein Ansatz, den sich die pharmakologische Präkonditionierung zunutze macht.

1.2.2 Pharmakologische Präkonditionierung

Ein entscheidender Vorteil der pharmakologischen Präkonditionierung besteht in der Möglichkeit ein Organ zu präkonditionieren, ohne hierfür invasive Maßnahmen anwenden zu müssen, die ihrerseits ein hohes Risiko für das *Outcome* des Patienten bergen. In der Literatur sind inzwischen verschiedene, klinisch etablierte Pharmaka bekannt, die eine kardiale Präkonditionierung initiieren. So können beispielsweise auf dem Gebiet der Anästhesie sowohl volatile Anästhetika wie Sevofloran [60, 61, 62, 63], Desfluran [60, 63, 64], Isofluran [63, 65, 66] und Halothan [63], als auch die Edelgase Helium [67, 68] und das anästhetisch wirksame Xenon [69, 70, 71] eine Kardioprotektion auslösen. Zudem führt nicht nur die pharmakologische Aktivierung von Adenosin- [72] bzw. Opioid-Rezeptoren [73, 74], sondern auch die Applikation der zur Stoffgruppe der Phosphodiesterasehemmer gehörenden, klinisch häufig eingesetzten Substanzen Sildenafil [75, 76], Tadalafil [77] und Vardenafil [75] zu einer myokardialen Präkonditionierung.

Die beispielhaften Pharmaka zeigen, dass es nicht-invasive Möglichkeiten gibt, um das Herz vor Ischämie-Reperfusionsschäden zu schützen. Maßgeblich für die gezielte Weiterentwicklung und Verbesserung der pharmakologischen Präkonditionierung ist das Verständnis der zu Grunde liegenden Signalkaskaden.

1.2.3 Mechanismen der Präkonditionierung

In der Signaltransduktionskette der Präkonditionierung unterscheidet man die Triggerphase, in der Adaptionsvorgänge durch präkonditionierende, ausreichend intensive Stimuli, wie beispielsweise kurze Ischämien oder bestimmte Pharmaka, initiiert werden, von der Mediatorphase, in der die Kardioprotektion weitervermittelt wird. Dabei stehen die verschiedenen Signalwege in komplexen Beziehungen zueinander und stellen seit mehr als 30 Jahren zentrale Interessen einer regen Forschungsarbeit dar. Als Endeffektor der Präkonditionierung ist bisher eindeutig die mPTP identifiziert. Über eine Modulation ihrer Öffnung bleibt die Integrität der Mitochondrienmembran und damit die Fähigkeit zur ATP-Synthese erhalten, wodurch die Einleitung der Apoptose verzögert wird [78].

In den 1990er Jahren konnte erstmals die präkonditionierende Wirkung des Triggers Adenosin über die Proteinkinase C (PKC) als Schlüsselkomponente in einer möglichen Signalkaskade ischämischer Präkonditionierung nachgewiesen werden [79]. Als ein weiterer relevanter Mediator wurde der mitochondriale calciumsensitive Kaliumkanal (mBKCa) beschrieben. Bei diesem handelt es sich um einen Vertreter der Gruppe der Kaliumkanäle mit hoher Leitfähigkeit (engl.: *big potassium*, BK), der an der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert ist und durch eine Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration aktiviert wird. Xu et al. zeigten im Jahr 2002, dass die mit der Öffnung des mBKCa-Kanals einhergehende Änderung der intramitochondrialen Kaliumkonzentration einen kardioprotektiven Effekt erzielt [80].

2004 beschrieb die Arbeitsgruppe von Derek J. Hausenloy den sogenannten *Reperfusion Injury Salvage Kinase* (RISK)-Signalweg [81, 82], der aus der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K), der Proteinkinase B (AKT) sowie aus den p42/p44-extrazellulärsignalregulierten Kinasen 1 und 2 (ERK1/2) und damit aus einer Kombination zweier parallel verlaufender Kaskaden besteht. Es konnte nachgewiesen werden, dass mittels Phosphorylierung AKT sowie ERK1/2 aktiviert werden, welche wiederum die Glykogensynthase-Kinase-3 β (GSK-3 β) phosphorylieren. Phosphoryliertes GSK-3 β ist inaktiv, was zu einer verzögerten Öffnung der mPTP und damit zu einer Reduktion eines Reperfusionsschadens führt [81].

Ein weiterer möglicher Signalweg der kardialen Präkonditionierung, der sogenannte *Survivor Activating Factor Enhancement* (SAFE)-Signalweg, wurde im Jahr 2009 beschrieben [83]. Der SAFE-Signalweg, der durch das Immunsystem getriggert wird, initiiert die Aktivierung eines RISK-alternativen-Signalwegs mit einer Vielzahl

von *pro-survival* signalisierenden Komponenten, unter anderem dem *Signal Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT3). STAT3 hemmt die Öffnung der mPTP und ist somit ein wichtiger Mediator kardioprotektiver Effekte [84, 85, 86].

Als ebenfalls möglicher, der Präkonditionierung zugrundeliegender Signalweg wurde von Cohen et al. der *Endothelial Nitric Oxide Synthase*/Proteinkinase G (eNOS/PKG)-Signalweg dargelegt. Durch die aktivierte endotheliale NO-Synthase (eNOS) im Gefäßendothel der Muskelzellen wird die Bildung des gasförmigen Botenstoffs Stickstoffdioxid (NO) gesteigert, was wiederum zu einer Aktivierung der PKG sowie der PKC führt [87]. Endeffektor ist die durch Ca²⁺-Wiederaufnahme in das sarkoplasmatische Retikulum induzierte Regulation der Ca²⁺-Homöostase im Mitochondrium [88].

Die Anwendung von Pharmaka als Trigger von Signaltransduktionswegen der myokardialen Präkonditionierung bietet den entscheidenden Vorteil, ein Organ mittels nicht-invasiver Maßnahmen zu präkonditionieren, sodass das *Outcome* des Patienten signifikant verbessert werden kann. Die vorliegende Arbeit richtet daher, im Sinne der klinischen Relevanz, ihren Fokus ebenfalls auf den vielversprechenden Ansatz der pharmakologischen Präkonditionierung. Als besonders aussichtsreich darf hierbei die myokardiale Präkonditionierung mit dem klinisch etablierten Medikament Dexmedetomidin betrachtet werden. Dexmedetomidin spricht mehrere potenzielle Signalwege der Präkonditionierung an und kann damit einen positiven *Impact* auf das komplexe Beziehungsgeflecht der Signalkaskaden leisten [89, 90].

1.3 Dexmedetomidin

Dexmedetomidin gehört zur Gruppe der selektiven Alpha-2-Agonisten, welche dosisabhängig die Alpha-2-Adrenozeptoren aktivieren. Im Jahr 1999 wurde Dexmedetomidin erstmals seitens der *Food and Drug Administration* (FDA) in den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) als Medikament für kurzzeitige Einsätze (< 24 Stunden) zur Analgesie und Sedierung auf Intensivstationen zugelassen. Seitdem wird es aufgrund seiner sympatholytischen, sedierenden, amnestischen, antiarrhythmischen sowie schmerzlindernden Eigenschaften umfassend im perioperativen Zeitfenster genutzt [91]. Die Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) genehmigte 2011 das Inverkehrbringen von Dexmedetomidin unter dem Handelsnamen "Dexdor" in der

gesamten Europäischen Union. In Deutschland wird Dexdor[®] seitdem insbesondere für Sedierungen auf Intensivstationen verwendet, bei denen eine geringe Sedierungstiefe erzielt werden soll, die eine Reaktion auf verbale sowie taktile Stimulation erlaubt [92].

1.3.1 Pharmakodynamische sowie pharmakokinetische Eigenschaften

Dexmedetomidin besitzt eine 7 - 8-fach höhere Bindungsaffinität zu Alpha-2-Adrenozeptoren als beispielsweise der Alpha-2-Agonist Clonidin [93, 94] und gehört damit zu den hochsensitiven Alpha-2-Agonisten. Es bindet an die Alpha-2-Rezeptoren der Subtypen 2A, 2B und 2C und vermittelt hierrüber seine sedativen sowie analgetischen Effekte [95]. Die höchste Dichte noradreneger Neuronen, und damit eine große Anzahl an Alpha-2-Rezeptoren, befindet sich im Locus caeruleus, einem Kerngebiet im Hinterhirn, welches unter anderem für die gelenkte Aufmerksamkeit und die Steuerung der Schlafstadien verantwortlich ist. Über die verminderte Aktivierung noradreneger Neuronen durch Agonismus an den Alpha-2-Rezeptoren führt Dexmedetomidin folglich zu einer dem natürlichen Schlaf ähnlichen Sedierung [96]. Darüber hinaus verursacht die Applikation von Dexmedetomidin eine biphasische Reaktion des Blutdrucks, wobei es initial durch die Aktivierung von Alpha-2-Adrenozeptoren in der glatten Gefäßmuskulatur zu einem Blutdruckanstieg durch Vasokonstriktion und im Verlauf durch die Aktivierung der Alpha-2-Adrenozeptoren im zentralen Nervensystem zu einer Blutdrucksenkung kommt [97]. Die Absenkung des Blutdrucks wird auch durch die Stimulation postsynaptischer Alpha-2-Adrenozeptoren an den Endothelzellen verstärkt [98]. Zudem reduziert die Applikation von Dexmedetomidin die Freisetzung von Stresshormonen und Katecholaminen [97].

Dexmedetomidin wird im Blut zu ca. 94 % an Proteine, überwiegend Albumin, gebunden und fast vollständig hepatisch, unter anderem über Cytochrom P450 sowie direkte Glucuronidierung, verstoffwechselt. Nur ein geringer Anteil wird unmittelbar über den Urin sowie die Faeces ausgeschieden. Die Halbwertszeit von Dexmedetomidin beträgt ca. zwei Stunden [89, 99].

1.3.2 Klinische Bedeutung

Seine pharmakodynamischen Eigenschaften machen Dexmedetomidin zu einem vielfältig einsetzbaren Medikament im prä-, intra- sowie postoperativen Setting. Die präoperative Gabe von Dexmedetomidin führt beispielsweise, aufgrund der hierdurch verminderten sympathischen Aktivierung, zu einer Stabilisierung von hämodynamischen Parametern sowie zu einer Verminderung des präund postoperativen Stresses. Ferner wird der Sauerstoffverbrauch präoperativ um bis zu 8 % und postoperativ um bis zu 17 % gesenkt [100]. Darüber hinaus potenziert Dexmedetomidin den anästhetischen Effekt intraoperativ verabreichter Anästhetika, sodass deren Applikationsdosis vermindert werden kann. Hierdurch wird das Risiko für dosisabhängige Nebenwirkungen reduziert [101]. Auch im Rahmen einer peri- und postoperativen Gabe birgt das analgosedative Wirkspektrum von Dexmedetomidin für den klinischen Einsatz erhebliche Vorteile. Scheinin et al. konnten beispielsweise bereits 1992 zeigen, dass Dexmedetomidin den perioperativen Opioid-Bedarf senkt [102], was seitdem in mehreren Studien untersucht und bestätigt wurde [103, 104]. Ebenfalls 1992 wiesen Belleville et al. nach, dass die Verabreichung von Dexmedetomidin nur geringe respiratorische Nebenwirkungen verursacht [105]. Die Gefahr einer Atemwegsdepression unter Dexmedetomidin ist verhältnismäßig niedrig [106, 107]. Dies macht es zu einem ausgezeichneten Wirkstoff im Rahmen der Behandlung intensivmedizinischer Patienten, beispielsweise bei der fiberoptischen Wachintubation oder nichtinvasiven Beatmung [108].

Pharmakoökonomisch ist Dexmedetomidin im Vergleich zum klinisch weit verbreiteten Anästhetikum Propofol zwar eine teure Substanz mit Tagestherapiekosten von ca. $90 - 250 \in$, seine ökonomischen Vorteile liegen jedoch in der Verkürzung der Beatmungsdauer und der Reduktion der Inzidenz des intensivmedizinischen Delirs [108]. Hierdurch verringern sich insgesamt die Behandlungsdauer und die damit verbundenen Kosten. Darüber hinaus trägt die Anwendung von Dexmedetomidin der Entwicklung zeitgemäßer Sedierungskonzepte Rechnung, in welchen der Fokus auf erweckbare sowie kooperative Patienten gelegt wird, die in der Lage sind, adäquat mögliche Schmerzen zu äußern, sodass die analgosedative Therapie individuell und bedarfsgerecht gesteuert werden kann.

1.3.3 Dexmedetomidin-induzierte Präkonditionierung

Es ist bekannt, dass Dexmedetomidin neben seinen analgosedativen Eigenschaften die Fähigkeit besitzt, Organe vor einem Ischämie-Reperfusionsschaden zu schützen. In der Vergangenheit konnten protektive Effekte auf das Gehirn [109], die Leber [110], die Lungen [111], die Nieren [112] und das Herz [89, 113, 114, 115] sowohl *ex-vivo* als auch *in-vivo* aufgezeigt werden. Studien, die sich mit der Dexmedetomidin-induzierten kardialen Präkonditionierung befassen, legen dabei nahe, dass der kardioprotektive Effekt von Dexmedetomidin unter anderem indirekt durch eine Reduktion zentraler sympathischer Aktivitäten sowie durch eine Reduktion der systemischen Noradrenalin-Freisetzung herbeigeführt wird, da sich hierdurch die hämodynamische Stabilität verbessert und der myokardiale Sauerstoffverbrauch verringert [116]. Darüber hinaus wird angenommen, dass die Applikation von Dexmedetomidin auch einen direkten Effekt auf myokardiale Signaltransduktionswege hat, wobei die Signalwege der Dexmedetomidin-induzierten Präkonditionierung noch nicht vollständig entschlüsselt sind.

Mögliche Mediatoren der Dexmedetomidin-induzierten Präkonditionierung stellen sowohl der RISK-Signalweg [114] als auch der eNOS-abhängige Anstieg von NO dar. Riquelme et al. erbrachten 2016 den Nachweis, dass die Applikation von 10 nM Dexmedetomidin zu einer gesteigerten Aktivität von eNOS und damit zu einem Anstieg von NO im isoliert-perfundierten Rattenherz führt [89]. Eine Applikation von 10 nM Dexmedetomidin über 25 Minuten vor Einleitung einer Indexischämie reduzierte dabei die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe von 42 ± 12 % auf 16 ± 10 %. Dieser Effekt wurde bei gleichzeitiger Applikation von Dexmedetomidin und dem eNOS-Inhibitor L-NAME (100 nM) aufgehoben. Es wurde zudem dargelegt, dass der eNOS/NO-Signalweg in seinem Verlauf die PKG aktiviert und hierüber die Kardioprotektion vermittelt wird. Bei gleichzeitiger Gabe von Dexmedetomidin und dem PKG-Inhibitor KT5823 (1 µM) blieb ein kardioprotektiver Effekt aus [89]. Da in verschiedenen Studien aufgezeigt werden konnte, dass es sich bei PKG um einen Regulator von mBKCa-Kanälen handelt [117, 118], ist anzunehmen, dass die Dexmedetomidin-induzierte Präkonditionierung des Herzens – zumindest teilweise – über eine PKG-induzierte Öffnung von mBKCa-Kanälen vermittelt sein könnte.

Schon in den 1990er Jahren wurde darüber hinaus ein möglicher Einfluss von PKG mittels Phosphorylierung auf kardiale *gap junctions* nachgewiesen [119]. Bei *gap junctions* handelt es sich um Zell-Zell-Kanäle, welche die Zellmembranen zweier benachbarter Zellen durchqueren und einen Signal- sowie Stoffaustausch ermöglichen. Jeweils sechs Transmembranproteine, sogenannte ,Connexine', bilden einen Halbkanal mit zentraler Pore, der als ,Connexon' bezeichnet wird. Zwei Kopf-an-Kopf verbundene Connexone setzen sich zu einem *gap junction*-Kanal zusammen. In Kardiomyozyten stellt Connexin 43 (Cx43) das dominierende Transmembranprotein dar [120, 121]. Die sich aus Cx43 zusammensetzenden *gap junction*-Kanäle erlauben eine Passage von Molekülen < 1kDA und sind nicht ionenspezifisch, sodass ein Austausch der meisten *second messenger* möglich ist. Hieraus resultiert eine elektrische sowie chemische Kopplung, die für die normale Herzfunktion essenziell ist [122]. Neben der möglichen Rolle im Signalweg distal der PKG konnten Schwanke et al. 2002 darüber hinaus nachweisen, dass eine ischämische Präkonditionierung bei Cx43-defizienten Mäusen keinerlei protektiven Effekt erzielt [123], sodass Cx43 als ein möglicher Mediator der ischämischen Präkonditionierung angesehen werden kann. Dies wurde unter anderem in den Studien von Schulz und Heusch aus dem Jahr 2004 sowie Boengler et al. aus dem Jahr 2007 belegt [124, 125].

Die exakten Wege der Signaltransduktion über Cx43 sind bisher nicht vollständig entschlüsselt. Auch die Frage möglicher Effektoren ist noch Gegenstand aktueller Forschung. Im Hinblick auf die durch Dexmedetomidin induzierte, kardioprotektive Wirkung über eNOS/NO sowie die PKG [89, 114] und den Einfluss von PKG auf Cx43 [119] wäre eine Involvierung von Cx43 im Signaltransduktionsweg der Dexmedetomidin-induzierten Präkonditionierung denkbar.

1.4 Ziele der Arbeit

Um perspektivisch pharmakologische Präkonditionierungsstrategien im klinischen Alltag anwenden zu können, ist die Kenntnis der zugrundeliegenden Signaltransduktionswege essenziell. Durch die Entdeckung des mBKCa-Kanals als möglicher Mediator der kardialen Präkonditionierung sowie die Aktivierbarkeit dieses Kanals mittels PKG ergeben sich vielversprechende Forschungs- sowie potenzielle Behandlungsansätze. Da bekannt ist, dass Dexmedetomidin über den eNOS/NO-Signalweg die PKG aktiviert [89] und diese im Zusammenhang mit einer Aktivierung von mBKCa-Kanälen diskutiert wird, käme Dexmedetomidin als ein pharmakologischer Trigger der über mBKCa-Kanäle vermittelten Kardioprotektion in Betracht.

Die vorliegende Arbeit befasst sich daher mit den folgenden Fragen:

- Ist der kardioprotektive Effekt einer Dexmedetomidin-Applikation zeit- bzw. dosisabhängig?
- Wird der kardioprotektive Effekt von Dexmedetomidin über eine Öffnung von mBKCa-Kanälen vermittelt?
- Spielt Cx43 eine Rolle in der Dexmedetomidin-induzierten Präkonditionierung?



Abb. 3: Zu untersuchender möglicher Signaltransduktionsweg der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion.

Es soll geprüft werden, ob die Kardioprotektion über mBKCa-Kanäle vermittelt wird. Zudem ist zu prüfen, welche Rolle Cx43 in der Signalkaskade einnimmt. Dex = Dexmedetomidin; Cx43 = Connexin 43; mBKCa = mitochondrialer Calcium-abhängiger Kaliumkanal. Eigene Abbildung.

Zur Beantwortung dieser Fragestellungen wurde das folgende Studienmodell gewählt:

Es fanden. einem standardisierten Versuchsprotokoll folgend, drei ex-vivo Versuchsreihen randomisiert den Versuchsgruppen mit zugeteilten, isoliert perfundierten Rattenherzen an einer Langendorff-Anlage statt. In der ersten Versuchsreihe wurde Dexmedetomidin (10 nM) jeweils über 5 Minuten, 10 Minuten und 25 Minuten appliziert. In der zweiten Versuchsreihe wurde Dexmedetomidin in Konzentrationen von 0,1 nM, 0,3 nM, 1 nM, 3 nM, 10 nM und 30 nM über jeweils 5 Minuten verabreicht. In der dritten Versuchsreihe erfolgte die Applikation von Dexmedetomidin (3 nM) über 5 Minuten. Als mBKCa-Kanalblocker wurde Paxilline, als Inhibitor von Cx43 wurde Gap27 eingesetzt. NS1619 fungierte als mBKCa-Kanalaktivator. Studienendpunkt war in allen Versuchsreihen die Bestimmung der Infarktgrößenauswertung nach Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung (TTC-Färbung) mittels planimetrischer Erfassung als prozentualer Anteil des Risikogebietes.

2. Material und Methode

2.1 Material

2.1.1 Versuchstiere

Die für die Versuche an der Langendorff-Anlage benötigten Tiere stammten aus der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) des Universitätsklinikums Düsseldorf (Internes Aktenzeichen der ZETT: O 27/12) und wurden über die Firma Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, Laval, Frankreich) bezogen.

Es wurden ausschließlich männliche Wistar-Ratten ausgewählt, die keinerlei Krankheitszeichen aufwiesen und die zwischen 250 – 350 g wogen. Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Studie ca. drei Monate alt. Insgesamt wurden 130 Tiere für die Untersuchungen eingesetzt.

Die Tiere wurden vor Versuchsbeginn unter standardisierten Bedingungen gehalten und waren in Makrolon[®]-Käfigen vorgeschriebener Größe auf entkeimtem Weichholzgranulat (Fa. Rettenmaier & Söhne GmbH & Co. KG, Rosenberg, Deutschland) bei einer Raumtemperatur von $20 - 24^{\circ}$ C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 - 60% untergebracht. Zu den klimatisierten Bedingungen zählte auch eine Luftumwälzrate von 16 - 20-mal pro Stunde. Ein Tag-Nacht-Wechsel alle 12 Stunden wurde durch künstliches Licht in einer Intensität von 300 - 320 Lux gewährleistet. Den Tieren stand ein Alleinfuttermittel für Ratten und Mäuse (Fa. Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) sowie entkeimtes Trinkwasser (ozonisiert und mit HCl angesäuert, pH-Wert zwischen 2,6 und 3,0) *ad libitum* zur Verfügung. Es erfolgten regelmäßige tierärztliche Untersuchungen.

2.1.2 Krebs-Henseleit-Puffer

Eine entscheidende Voraussetzung für die experimentellen Versuche am isolierten Herzen war das Weiterschlagen des Herzens über mehrere Stunden an der Langendorff-Anlage. Für die kontinuierliche Perfusion wurde ein modifizierter Bikarbonat-Puffer nach Krebs und Henseleit verwendet [126], dessen Elektrolytzusammensetzung sich an den physiologischen Blutplasmakonzentrationen orientierte. Der Puffer wurde aus den aufgeführten Substanzen (s. Tabelle 1) in *Aqua destillata* hergestellt.

Substanz	Summenformel	Molare Masse [g/mol]	Stoffmengen- konzentration [mM]	Menge [g] auf 51
Natriumchlorid	NaCl	58,44	118,00	34,480
Kaliumchlorid	KCl	74,55	4,70	1,751
Magnesiumsulfat-	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	246,48	1,20	1,479
Heptahydrat				
Kaliumdihydrogenphosphat	KH ₂ PO ₄	136,09	1,20	0,817
Natriumhydrogencarbonat	NaHCO ₃	84,01	25,00	10,501
Ethylendiamintetraessigsäure	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	292,24	0,50	0,731
(EDTA)				
Calciumchlorid	CaCl ₂	110,99	2,25	1,249
Glucose (wasserfrei)	C6H12O6	180,16	11,00	9,909
L-Lactat-Natriumsalz	$C_3H_5O_3 \cdot Na$	112,10	1,00	0,561

Tabelle 1: Zusammensetzung des modifizierten Krebs-Henseleit-Puffers.

2.1.3 Die genutzten Substanzen

Dexmedetomidin

Dexmedetomidin ist ein Isomer von Medetomidin und ein Imidazolderivat mit einer molaren Masse von 200,28 g/mol und der Summenformel $C_{13}H_{16}N_2$ (s. Abb. 4). Wie in Abschnitt 1.3 der Arbeit beschrieben handelt es sich um einen hochpotenten, selektiven Alpha-2-Agonisten, welcher dosisabhängig die Alpha-2-Adrenozeptoren aktiviert und so die Freisetzung von Noradrenalin vermindert.

Das für die Versuche genutzte Dexmedetomidin(-hydrochlorid) (molare Masse: 236,74 g/mol, Summenformel: $C_{13}H_{16}N_2 \cdot HCl$) stammte von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland) und wurde als Pulver geliefert. Das Pulver wurde in *Aqua destillata* zu einem 10 mM Stock gelöst und der Stock für die Versuche mit Krebs-Henseleit-Puffer weiter verdünnt, um die gewünschte Endkonzentration am Herzen zu erhalten.



Abb. 4: Strukturformel von Dexmedetomidin.

Paxilline

Paxilline gehört zu den Mykotoxinen und wird vom Pilz *Penicillium paxilli* produziert. Es handelt sich um ein polyzyklisches Diterpen-Indol-Alkaloidmolekül mit der Summenformel $C_{27}H_{33}NO_4$ und einer molaren Masse von 435,6 g/mol (s. Abb. 5), welches als potenter BKCa-Kanal-Blocker fungiert [127, 128].

Das für die Versuche genutzte Paxilline stammte von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland) und wurde als Pulver geliefert. Das Pulver wurde in Dimethylsulfoxid (DMSO) zu einem 10 mM Stock gelöst und der Stock für die Versuche mit Krebs-Henseleit-Puffer weiter verdünnt, um eine Endkonzentration von 1 μ M am Herzen zu erhalten. Die gewählte Konzentration knüpft hierbei an vorangegangene Untersuchungen des Instituts an [129].



Abb. 5: Strukturformel von Paxilline.

<u>Gap27</u>

Bei der Substanz Gap27 handelt es sich um ein Polypeptid mit der Aminosäuresequenz Ser-Arg-Pro-Thr-Glu-Lys-Thr-Ile-Phe-Ile-Ile, welches als *Connexin mimetic peptide* mit den zwei extrazellulären Schleifen des Cx43 übereinstimmt. Hierdurch hat Gap27 sowohl eine spezifische Wirkung auf die durch Cx43 ausgebildeten *gap junctions* als auch auf die Halbkanäle [130]. In der durchgeführten Studie wurde Gap27 als Inhibitor des Cx43 eingesetzt [131]. Die Zulieferung erfolgte über die Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland) in Form eines Pulvers. Gap27 wurde in DMSO zu einem 6 mM Stock gelöst sowie für die Versuche weiter verdünnt, sodass es in der in bereits vorangegangenen Untersuchungen etablierten Standard-Konzentration von 6 μ M verwendet werden konnte [129, 131].

<u>NS1619</u>

Die Substanz NS1619 ist ein selektiver mBKCa-Kanal-Aktivator [132] mit der Summenformel $C_{15}H_8F_6N_2O_2$ und einer molaren Masse von 362,23 g/mol (s. Abb. 6). Wie Dexmedetomidin, Paxilline und Gap27 stammte das für die Versuche verwendete NS1619 von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland) und wurde ebenfalls als Pulver geliefert. Das Pulver wurde in DMSO zu einem 10 mM Stock gelöst und der Stock für die Versuche mit Krebs-Henseleit-Puffer weiter verdünnt, um eine Endkonzentration von 10 μ M am Herzen zu erhalten. Hierbei handelt es sich um die aus vorangegangenen Untersuchungen hervorgegangene Standarddosis [133].



Abb. 6: Strukturformel von NS1619.

Heparin

Heparin ist ein natürlich vorkommendes Glycosaminoglycan, welches als Antikoagulanz Verwendung findet. Heparin bindet an Antithrombinmoleküle, insbesondere Antithrombin III, und vervielfacht im so entstandenen Komplex, der auch als "Sofortinhibitor" bezeichnet wird, dessen antikoagulatorische Wirkung. Durch den Komplex werden verschiedene Gerinnungsenzyme, beispielsweise Thrombin (Faktor IIa), inaktiviert [134].

Für die Versuche wurde die "Heparin-Natrium-Injektionslösung 25.000 I.E." der Firma Ratiopharm (Ulm, Deutschland) verwendet. Je 1000 I.E. wurde jedem Versuchstier zeitgleich mit Pentobarbital intraperitoneal injiziert.

Pentobarbital

Pentobarbital (Summenformel: $C_{11}H_{18}N_2O_3$; molare Masse: 226,27 g/mol, s. Abb. 7) ist ein mit einer Wirkdauer von vier bis acht Stunden mittellang wirksames Derivat der Barbitursäure, welches 1915 von der Firma Bayer patentiert wurde [135]. Über die Bindung an die β -Untereinheit von GABA-A-Rezeptoren führt Pentobarbital zu einem Chlorid-Einstrom und damit zu einer Zunahme der Wirkung des inhibitorischen Transmitters GABA. Zudem kommt es zu einer Hemmung des exzitatorischen Glutamat-Rezeptors [136], wodurch – in Abhängigkeit der gewählten Dosierung – eine sedative bis narkotische Wirkung erreicht wird. Zudem besitzt Pentobarbital in subnarkotischer Dosierung hyperalgetische Eigenschaften.

In der Tiermedizin wird eine bewusste Überdosierung des Narkotikums zur schmerzfreien Euthanasie verwendet, wobei das wasserlösliche Natriumsalz (Pentobarbital-Natrium) zum Einsatz kommt.

Für die Versuche wurde eine Pentobarbital-Injektionslösung (CAS-Nr. 76-74-4; Narcoren[®] für Tiere, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) in einer Dosierung von 90 mg/kgKG intraperitoneal verabreicht.



Abb. 7: Strukturformel von Pentobarbital.

Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)

TTC ist eine quartäre Ammoniumverbindung und ein Redox-Farbstoff mit einer molaren Masse von 334,81 g/mol und der Summenformel $C_{19}H_{15}ClN_4$ (s. Abb. 8). TTC ist wasserlöslich und im oxygenierten Zustand (Tetrazolium) farblos. Im reduzierten Zustand (Formazan) ist der Indikator rot. Das für die Versuche zur Anwendung gekommene TTC stammte von der Firma SERVA Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Deutschland).



Abb. 8: Strukturformel von TTC.

Dimethylsulfoxid (DMSO)

DMSO ist ein organisches Lösungsmittel, welches zur Verbindungsklasse der Sulfoxide zählt und welches sehr guten Lösungseigenschaften für organische und anorganische Chemikalien aufweist. Das in den Versuchen als Trägerstoff verwendete DMSO stammte von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland) und besaß bei der Summenformel C_2H_6OS eine molare Masse von 78,13 g/mol (s. Abb. 9).



Abb. 9: Strukturformel von DMSO.

2.1.4 Verwendete Geräte, Materialien, Gase und Chemikalien

Die folgenden Tabellen geben eine Übersicht über die in den Versuchen verwendeten Chemikalien (s. Tabelle 2), die angewandten Hard- und Software-Programme (s. Tabelle 3), die verwendeten Labormaterialien und Laborgeräte (s. Tabelle 4), die verwendeten Gase (s. Tabelle 5) sowie über die Bestandteile der Langendorff-Anlage (s. Tabelle 6). Um eine bessere Übersicht zu gewährleisten, wurde auf die Aufführung unspezifischer Laborgeräte wie beispielsweise Scheren, Klemmen, Pipetten etc. in der Tabelle der Labormaterialien verzichtet.
	Summenformel	Hersteller	Sitz des Herstellers
Natriumchlorid	NaCl	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Kaliumchlorid	KCl	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Magnesiumsulfat- Heptahydrat	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat	KH ₂ PO ₄	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat	NaHCO ₃	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, Deutschland
Calciumchlorid	CaCl ₂	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Natriumchlorid 0,9%	NaCl	Fresenius	Bad Homburg, Deutschland
TTC	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄	SERVA Electrophoresis GmbH	Heidelberg, Deutschland
Formaldehyd (Formalin 37%)	CH ₂ O	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Sigma 7-9 ®	NH ₂ C(CH ₂ OH) ₂	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
DMSO	C ₂ H ₆ OS	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Pentobarbital	$C_{11}H_{18}N_2O_3$	Merial GmbH	Hallbergmoos, Deutschland
Heparin	unspezifisch	Ratiopharm	Ulm, Deutschland
Dexmedetomidin	$C_{13}H_{16}N_2$	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Paxilline	C ₂₇ H ₃₃ NO ₄	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Ns1619	$C_{15}H_8F_6N_2O_2$	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Gap27	$C_{60}H_{102}N_{15}O_{17}$	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland

Tabelle 2: Liste der Chemikalien.

	Produktname	Hersteller	Sitz des Herstellers
Datenerfassungssystem	PowerLab/8SP	ADInstruments Pty	Castle Hill,
		Ltd	Australien
Aufzeichnungssoftware	© LabChart 7	ADInstruments Pty	Castle Hill,
		Ltd	Australien
Planimetrie-Software	© Sigma Scan Pro 5	Systat Software Inc.	San Jose, CA, USA
Statistiksoftware	GraphPad StatMate	GraphPad Software	San Diego, CA, USA
	Version 1.01		
Statistische Analyse	SPSS Science	SPSS Science	Erkrath, Deutschland
	Software Version Software GmbH		
	12.0.1		
Flachbrettscanner	© CanoScan LIDE	Canon	Krefeld, Deutschland
	700F		
Planimetrie-Software	© Sigma Scan Pro 5	Systat Software Inc.	San Jose, CA, USA

Tabelle 3: Liste der Hard- und Software.

	Produktname	Hersteller	Sitz des Herstellers
1 ml Spritze	Omnifix [®] -F 1, Luer- Lock	B. Braun	Melsungen, Deutschland
3 ml Spritze	Omnifix [®] -F 3, Luer- Lock	B. Braun	Melsungen, Deutschland
5 ml Spritze	Omnifix [®] -F 5, Luer- Lock	B. Braun	Melsungen, Deutschland
10 ml Spritze	Omnifix [®] -F 10, Luer- Lock	B. Braun	Melsungen, Deutschland
Kanüle für 1 ml Spritze	Sterican [®] Gr. 20	B. Braun	Melsungen, Deutschland
Kanüle für 3-10 ml Spritze	Sterican [®] Gr. 1	B. Braun	Melsungen, Deutschland
Handschuhe	Ansell Nitra-Tex S MICRO-TOUCH [®]	Ansell	Brüssel, Belgien
Skalpell-Klingen	AESCULAP [®] Divison 100	B. Braun	Melsungen, Deutschland
Polyesterfaden	RESORBA Polyester 1,5 metric	RESORBA Medical GmbH	Nürnberg, Deutschland
Kleintierdekapitator	Biological Research Apparatus 21025	Ugo Basile S.R.L.	Comerio, Italien
Laborwaage BP 1200		Sartorius AG	Göttingen, Deutschland
PräzisionswaageSECURA 224-1S		Sartorius AG	Göttingen, Deutschland
Digitalwaage	Scout Pro SPU 202	OHAUS Europe GmbH	Nänikon, Schweiz
pH-Meter	Digital pH-Meter Typ 646	Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG	Berlin, Deutschland
Digitalthermometer	Temperaturmessgerät GTH 1150 C	GHM GROUP - Greisinger	Regenstauf, Deutschland
Einhängethermostat	Julabo MW-4	Sigma-Aldrich	Taufkirchen, Deutschland
Blutgasanalysator	ABL 700	Radiometer GmbH	Willich, Deutschland
Perfusatflasche	ISO 5000 ml	SIMAX BDL	Turnov, Tschechische Republik
Magnetrührer	MR Hei-Tec	Heidolph Instruments	Schwabach, Deutschland
Multiwellplatten	24 well plate	Becton Dickinson	Le Pont-de-Claix, Frankreich

Tabelle 4: Liste der Labormaterialien und Laborgeräte.

	Zusammensetzung	Hersteller	Sitz des Herstellers
Carbogen	5% CO ₂ , 95% O ₂	Linde AG	München,
_			Deutschland
Stickstoff	N ₂	Linde AG	München,
			Deutschland

Tabelle 5: Liste der Gase.

	Produktname	Hersteller	Sitz des Herstellers
Peristaltische Pumpe	Minipuls 3 Peristaltic	ADInstruments	Oxford,
_	Pump		Großbritannien
Schläuche für die	TYGON [®] R-3603,	Saint-Gobain Process	Akron, Ohio, USA
peristaltische Pumpe	3,20 mm ID	Systems	
Pumpenregler	STH Pump Controller	ADInstruments	Oxford,
	175		Großbritannien
Brückenverstärker	Bridge Amplifier	ADInstruments	Oxford,
	FE221		Großbritannien
Druckaufnehmer	MLT 844/d	ADInstruments	Oxford,
	Physiological Pressure		Großbritannien
	Transducer		
Eichanlage	HSE Druckeichgerät	Hugo Sachs	March, Deutschland
	Тур 367	Elektronik	
Wasserbad	Julabo EC-5	JULABO GmbH	Seelbach,
			Deutschland
Temperierbad	Julabo MW-6	JULABO GmbH	Seelbach,
			Deutschland
Perfusor 1	Braun Perfusor®	B. Braun	Melsungen,
	Space, Typ 8713030		Deutschland
Perfusor 2	Braun Perfusor [®]	B. Braun	Melsungen,
	Space, Tvp 8713030		Deutschland
Perfusorschläuche	Braun Original	B. Braun	Melsungen,
	Perfusor [®] . Type IV-		Deutschland
	Standard		
Verbindungsleitung	Braun ProSet	B. Braun	Melsungen,
Perfusor	Verbindungsleitung		Deutschland
	1x2x150mm		
Spezialschläuche für die	Tubing F11794, PVC,	Glison Inc.	Villiers le Bel,
Langendorff-Anlage	3,18 mm ID		Frankreich

Tabelle 6: Liste der Bestandteile der Langendorff-Anlage.

2.2 Methode

2.2.1 Die Langendorff-Anlage

1895 beschrieb der Mediziner und Physiologe Oscar Langendorff erstmals die *ex-vivo*-Organperfusion eines isolierten Säugetierherzens [137], welche die Untersuchung des Effekts von Medikamenten auf das Herz ohne den Einfluss neuronaler sowie hormoneller Faktoren innerhalb eines lebenden Organismus ermöglichte. Inzwischen ist das isolierte Herz nach Langendorff eine seit vielen Jahren in der physiologischen, pharmakologischen und klinischen Forschung etablierte Methode, wobei mittels einer oxygenierten und nährstoffreichen Lösung in der Langendorff-Apparatur das Herz retrograd perfundiert und so ein Weiterschlagen des Herzens nach Organentnahme ermöglicht wird. Für die Versuche der vorliegenden Arbeit wurde eine im Institut für Experimentelle Anästhesiologie Düsseldorf selbstgebaute, mit dem Grundgerüst einer kommerziell erhältlichen Langendorff-Anlage der Firma ADInstruments vergleichbare, Langendorff-Anlage verwendet, die sich funktional aus einem Perfusionssystem und einem Wärmekreislauf zusammensetzte.

Das Perfusionssystem gewährleistete die Versorgung des Herzens mit oxygeniertem und nährstoffreichem Perfusat, wobei es sich bei dem in den Versuchen verwendeten Perfusat um den bereits beschriebenen Krebs-Henseleit-Puffer handelte. Dieser war in Elektrolytzusammensetzung, Temperatur, pH-Wert und Gassättigung optimiert, dass die Herzen mehrere Stunden ohne wesentliche derart Funktionsbeeinträchtigung an der Anlage schlagen konnten [138]. Das Perfusat befand sich in einem externen Perfusatbehälter und wurde über eine peristaltische Pumpe zur Aortenkanüle geleitet, wo das fixierte Herz retrograd perfundiert wurde. Bereits durch das Herz geflossenes Perfusat wurde nicht erneut zur Perfusion des Herzens verwendet, sondern verworfen. Zur Induktion der Myokardischämie konnte die Perfusion des Herzens durch Umlegen eines Drei-Wege-Hahns, der sich proximal der Aortenkanüle befand, gestoppt werden. In der Ischämiephase wurde das Perfusionssystem auf einen rezirkulierenden Modus umgestellt, sodass der Krebs-Henseleit-Puffer mittels der peristaltischen Pumpe wieder zurück in den Perfusatbehälter geleitet wurde. Zwecks Verhinderung der Auskühlung des Perfusats auf dem Weg vom Perfusatbehälter zum Herzen wurden zwei Wärmekammern hinzugefügt, in denen erwärmtes Wasser aus einem separaten Wasserbad zirkulierte. Eine der Wärmekammern war gleichzeitig ein Luftfänger, um eine Embolisierung der Koronarien durch Luftblasen zu verhindern. Die zweite Kammer konnte, um während der Ischämiephase eine Diffusion von Sauerstoff aus der Raumluft in das isolierte Herz zu verhindern, mit auf ca. 37,8 °C (± 0,2 °C) gewärmtem und mit Stickstoff begasten Krebs-Henseleit-Puffer aufgefüllt werden.

Der Aufbau der verwendeten Langendorff-Apparatur kann der Abbildung 10 (Abb. 10) entnommen werden.



Abb. 10: Aufbau der Langendorff-Anlage.

- 1. Drehregler zur Regulierung des Carbogenzuflusses in das Perfusat.
- 2. Perfusatbehälter im Wasserbad der Langendorff-Anlage.
- 3. Einhängethermostat, worüber das Wasserbad auf 44 45°c temperiert wurde.
- 4. Peristaltische Pumpe.
- 5. Beheizbarer Wärmekammer, die gleichzeitig als Luftfänger fungierte.
- 6. Beheizbares Reservoir.
- 7. Dreiwegehahn, über den der Rezirkulationskreislauf eingestellt werden konnte.
- 8. Dem Herzen vorgeschaltete Perfusoren.
- 9. Wärmevorrichtung, die während der Ischämie verschlossen und mit N-begastem KHB befüllt wurde.
- 10. Power-Lab-Station, an die die Druckaufnehmer sowie die Pumpe angeschlossen waren.

Die für die Versuche verwendete peristaltische Pumpe und der daran angeschlossene Pumpenregler ermöglichten wahlweise eine Organperfusion unter konstantem Druck oder unter konstanten Flussbedingungen. Für diese Studie wurde der Modus eines druckkonstanten Systems mit einem Druck von 80 mmHg gewählt, sodass die Flussrate durch den Pumpenregler variabel angepasst wurde. Die Eichung der Pumpgeschwindigkeit erfolgte hierbei über die Eichung des Flusses im System. Die Messung des Druckes erfolgte im Bereich der Aortenkanüle über einen angeschlossenen Druckaufnehmer und Druckumwandler. Zur Einstellung eines enddiastolischen Drucks von 4 - 8 mmHg sowie zur Messung der linksventrikulären Funktion wurde zudem ein flüssigkeitsgefüllter (NaCl 0,9 %) Ballon in den linken Ventrikel eingeführt. Der Ballon war dabei an einen zweiten Druckaufnehmer angeschlossen. Die Signale wurden mit

einer Abtastrate von 500 Hz über ein Datenerfassungssystem (PowerLab/8SP; ADInstruments Pty Ltd, Castle Hill, Australien) unter Verwendung der Software © LabChart 7 (ADInstruments Pty Ltd, Castle Hill, Australien) aufgezeichnet. Auf diese Weise wurden die Herzfrequenz (HR), der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP), der linksventrikuläre systolische Druck (LVSP) sowie der Aortendruck (AoP) während der Versuche gemessen. Die Messung des Koronarflusses (CF) erfolgte manuell [139] (s. Tabelle 7). Arrhythmische Intervalle, wie beispielsweise bei Kammerflimmern, wurden von der Datenanalyse ausgeschlossen.

	Abkürzung (Eng.)	Maßeinheit	Beschreibung	
Koronarfluss	CF	ml/min	Durch den konstanten Perfusionsdruck in einem direkten Zusammenhang mit dem Gefäßwiderstand stehend und damit ein direkter Messwert für den koronaren Widerstand.	
Herzfrequenz	HR	bpm	Anzahl der Herzschläge pro Minute	
Aortaler Druck	AoP	mmHg	Perfusionsdruck	
Linksventrikulärer	LVSP	mmHg	Druck in der linken Herzkammer zum	
systolischer Druck			Zeitpunkt der Kontraktionsphase des Herzens	
Linksventrikulärer enddiastolischer Druck	LVEDP	mmHg	Artifiziell bei jedem Versuch auf 4–8 mmHg eingestellt. Vor der Ischämie konstant, während der Ischämie durch Kalziumausschüttung steigend und damit ein indirekter Hinweis auf das Ausmaß des geschädigten Areals.	
rate pressure product	RPP	bpm * mmHg	Berechnet sich aus HR * LVSP; Maß für die Arbeit, die das Herz zum Schlagen leisten muss. Indirektes Maß für den Energieverbrauch des Herzens.	

Tabelle 7: Übersicht über die gemessenen hämodynamischen Parameter.

Die Parameter wurden während der Stabilisierungsphase (*baseline*), der Applikationsphase, der *wash-out*-Phase sowie in Minute 30 und 60 der Reperfusion erhoben.

2.2.2 Herstellung des Krebs-Henseleit-Puffers

Zur Vermeidung von möglichem Bakterienwachstum sowie von Kristallisierungsprozessen, die am isoliert perfundierten Herzen zu Embolien führen können, wurde der Krebs-Henseleit-Puffer zu Beginn eines jeden Versuchstages mit den in Tabelle 1 aufgeführten Substanzen frisch hergestellt. Hierzu wurden die benannten Substanzen in einen mit fünf Liter *Aqua destillata* gefüllten Glaskolben gegeben und unter Verwendung eines Magnetrührers mit Heizfunktion gelöst. Der mit auf Körpertemperatur erwärmten Pufferlösung gefüllte Kolben wurde abschließend unmittelbar in das ebenfalls auf ca. $44 - 45^{\circ}$ C vorgeheizte Wasserbad der Langendorff-Anlage gestellt.

2.2.3 Vorbereitung der Langendorff-Anlage

Nach Überführung des Glaskolbens mit der modifizierten Krebs-Henseleit-Pufferlösung in das auf eine Temperatur von ca. 44 – 45°C vorgeheizte Wärmebad wurde ein Thermostat zur Temperaturkontrolle eingehangen und die Pufferlösung kontinuierlich mit Carbogen, bestehend aus 95 % O₂ und 5 % CO₂, begast. Auf diese Weise wurde einerseits erreicht, dass die Endtemperatur am Herzen der Körpertemperatur entsprach und andererseits sichergestellt, dass das Perfusat ausreichend oxygeniert war und einen pH-Wert nahe dem physiologischen Bereich von 7,35 – 7,45 aufwies, was mittels regelmäßiger Proben in einem Blutgasanalysegerät überprüft wurde [139]. Die Schläuche der Anlage wurden in die Pumpe sowie in den Glaskolben mit der Pufferlösung eingelegt, die peristaltische Pumpe wurde angeschaltet und die korrekte Flussrichtung des Perfusats wurde im offenen Kreislauf überprüft. Es erfolgte das Entlüften der Anlage sowie die Spülung aller Sensoren, sodass gegebenenfalls vorhandene Luftblasen entfernt wurden. Auch die Druckaufnehmer sowie der Ballonkatheter wurden auf mögliche Lufteinschlüsse überprüft und die Druckaufnehmer abschließend mit Hilfe eines Quecksilbereichsystems geeicht.

2.2.4 Präparation und Organentnahme

Die Versuchstiere wurden durch eine intraperitoneale Injektion von 90 mg/kgKG Pentobarbital (Narcoren[®], Verdünnung mit NaCl im Verhältnis 1:10) bei zeitgleicher Verabreichung von einer Koagulationsprophylaxe in Form von 0,2 ml Heparin (Heparin-Natrium, 25000 I.E./5 ml) anästhesiert. Bei tiefer Sedierung und erloschenen Schutzreflexen (Zwischenzehenreflex, Kornealreflex und Schwanzreflex) erfolgte die Dekapitation mittels Guillotine. Die Eröffnung der Bauchhöhle wurde über einen horizontalen Hautschnitt unterhalb des Sternums vorgenommen. Über einen transversalen Schnitt fand die Eröffnung des Thorax statt, der mittels eines Thoraxspalters aufgeweitet und offengehalten wurde. Mit Hilfe einer stumpfen Pinzette wurde das Herz anschließend von der Thoraxwand sowie vom Zwerchfell abpräpariert und es erfolgte die Perikardiotomie. Durch vorsichtiges Herausheben des Herzens an der Herzbasis konnten die Leitungsbahnen des Herzens dargestellt und das Herz am Gefäßstamm abgesetzt werden. Das Herz wurde zur Überbrückung bis zum Anschluss an die Langendorff-Anlage unverzüglich in eine 0,9 %-ige Natriumchlorid-Lösung überführt. Um das Risiko einer verlängerten Ischämiezeit sowie einer möglichen Traumatisierung des Gewebes zu minimieren, bestand für den Vorgang von Dekapitation über Organentnahme bis hin zur Fixierung des Herzens an der Langendorff-Anlage ein Zeitraum von maximal 90 Sekunden.

2.2.5 Vorbereitung des Herzens an der Langendorff-Anlage

Das Herz wurde aus der NaCl-Lösung genommen und mittels zweier atraumatischer Pinzetten an der aortalen Öffnung über den Herzadapter der Langendorff-Anlage gestülpt. Hierbei war darauf zu achten, den Aortenstumpf nicht zu hoch zu ziehen, um eine Beschädigung der Aortenklappe zu vermeiden. Es erfolgte zunächst die provisorische Fixierung unter Verwendung einer Bulldogklemme, bevor die endgültige Fixierung des Herzens an der Kanüle durch eine Fadenligatur mittels eines Polyesterfadens vorgenommen wurde. Die Ligatur erfolgte dabei zwischen dem ersten Abgang des Arcus aortae sowie den Koronarabgängen. Bei stabiler Befestigung durch den Polyesterfaden wurde die Klemme entfernt. Das Herz wurde retrograd durch die Aorta perfundiert, was zum Schluss der Aortenklappe führte, sodass das Perfusat über die Koronarien in das Herz hinein und über den Sinus coronarius aus dem Herzen in ein Auffangbecken floss. Zur Einführung des Ballonkatheters in den linken Ventrikel wurde das linke Herzohr eingeschnitten und der zusammengefaltete Ballon über das Herzohr in den linken Vorhof und dann durch die Mitralklappe in die Spitze des linken Ventrikels geführt. Um die Vorlast des Herzens zu simulieren, wurde der Ballon mittels einer mit NaCl-gefüllten Spritze entfaltet. Das hinzugegebene Volumen wurde dabei so gewählt, dass ein enddiastolischer Druck von 4 – 8 mmHg erreicht wurde. Zudem wurde über den Adjustregler der AoP auf ca. 80 mmHg eingestellt.

2.2.6 Versuchsprotokolle

Die durchgeführte Studie bestand aus drei separaten Versuchsprotokollen, die aufeinander aufbauten. Im ersten Teil der Studie sollte untersucht werden, welche Applikationsdauer von Dexmedetomidin am stärksten kardioprotektiv wirkt. Im zweiten Teil der Studie sollte auf Grundlage der ermittelten Applikationsdauer die potenteste Dosierung hinsichtlich der Kardioprotektion gefunden werden. Aufbauend auf den gewonnenen Ergebnissen wurde mit dem dritten Versuchsprotokoll untersucht, über welche Mechanismen der kardioprotektive Effekt von Dexmedetomidin vermittelt wird, wobei der Fokus auf die Rolle der mBKCa-Kanäle gelegt wurde.

2.2.6.1 Zeitfindungsstudie

In der Vergangenheit hatten verschiedene Studien [89, 113, 114] bereits gezeigt, dass die Applikation von Dexmedetomidin in der Konzentration von 10 nM über 25 Minuten einen kardioprotektiven Effekt erzielt. Aus diesem Grund wurde eine Konzentration von 10 nM gewählt, um damit die Versuche zur Zeitfindung durchzuführen. Je sechs Versuchstiere wurden randomisiert den Versuchsgruppen 1 bis 4 zugeteilt. Alle Versuchsgruppen durchliefen eine Stabilisierungsphase (baseline) von mindestsens 15 Minuten, eine wash-out-Phase von 5 Minuten sowie eine Ischämie-Phase von 33 Minuten und eine Reperfusionsphase von 60 Minuten. Die Dauer der Applikationsphase variierte, wobei KHB bzw. Dexmedetomidin mit Hilfe eines Perfusors unmittelbar proximal der Aortenkanüle appliziert wurde. Die Applikationsrate war festgelegt auf 1 % des zuvor gemessenen CF [139]. In der Kontrollgruppe (Con) wurde KHB für 25 Minuten verabreicht. In Gruppe 2 wurden die Herzen nach 15 Minuten Stabilisierungsphase für 25 Minuten mit Dexmedetomidin (10 nM) perfundiert, ehe 5 Minuten wash-out-Phase und 33 Minuten Ischämie sowie 60 Minuten Reperfusion folgten. In den Gruppen 3 sowie 4 wurde Dexmedetomidin (10 nM) nach demselben Prinzip für je 5 bzw. 10 Minuten verabreicht (s. Abb. 11). Nach Versuchsende wurden die Herzen unmittelbar bei -20 °C bis zur späteren Färbung eingefroren.



Abb. 11: Versuchsprotokoll zur Zeitfindungsstudie.

Alle Versuchsgruppen durchliefen eine mindestens 15-minütige Stabilisierungsphase. In der darauffolgenden Applikationsphase wurde in der Kontrollgruppe (Con) KHB für 25 Minuten und in den Gruppen 2 – 4 jeweils 10 nM Dexmedetomidin (Dex) für 25, 10 bzw. 5 Minuten verabreicht. In allen Gruppen erfolgte daraufhin eine 5-minütige *wash-out*-Phase, eine 33-minütige Ischämie-Phase und eine 60-minütige Reperfusionsphase. Eigene Abbildung, modifiziert nach [139].

2.2.6.2 Dosisfindungsstudie

Aufbauend auf den Ergebnissen aus dem Protokoll zur Zeitfindungsstudie wurde für die Versuchsreihe zur Dosisfindung mit einer Applikationsdauer von 5 Minuten gearbeitet. Je sechs Versuchstiere wurden randomisiert den Versuchsgruppen 1 bis 7 zugeteilt. Auch in diesem Untersuchungsabschnitt durchliefen alle Versuchsgruppen mindestens 15 Minuten Stabilisierungsphase, woraufhin die auf 5 Minuten festgelegte Applikationsphase folgte. In der Kontrollgruppe (Con) wurden die Herzen mit KHB mit einer Rate von 1% des Koronarflusses perfundiert, während in den Gruppen 2 bis 7 Dexmedetomidin in steigender Dosierung von 0,1 nM, 0,3 nM, 1 nM, 3 nM, 10 nM bzw. 30 nM mit ebenfalls einer Rate von 1 % des Koronarflusses perfundiert wurde. Bei allen Versuchsgruppen erfolgte nach der Applikationsphase 5 Minuten *wash-out*, 33 Minuten Ischämie und 60 Minuten Reperfusion (s. Abb. 12).





Alle Versuchsgruppen durchliefen eine 15-minütige Stabilisierungsphase. In der darauffolgenden Applikationsphase wurde in der Kontrollgruppe (Con) KHB für 5 Minuten und in den Gruppen 2 – 7 jeweils für 5 Minuten 0,1 nM, 0,3 nM, 1 nM, 3 nM, 10 nM bzw. 30 nM Dexmedetomidin (Dex) verabreicht. In allen Gruppen erfolgte daraufhin eine 5-minütige *wash-out*-Phase, eine 33-minütige Ischämie-Phase und eine 60-minütige Reperfusionsphase. Eigene Abbildung, modifiziert nach [139].

2.2.6.3 Signaltransduktionsweg

Im dritten Teil der Studie wurde, aufbauend auf den Ergebnissen aus der Zeit- und Dosisfindungsstudie, die Verabreichung von 3 nM Dexmedetomidin über 5 Minuten als Grundlage zur Überprüfung des Signaltransduktionsweges der Dexmedetomidininduzierten Kardioprotektion festgesetzt. Insgesamt wurden 64 Tiere randomisiert auf acht Versuchsgruppen aufgeteilt. Allen Gruppen war eine Stabilisierungsphase von mindestens 15 Minuten, eine *wash-out*-Phase von 5 Minuten, eine Ischämie-Phase von 33 Minuten sowie eine Reperfusionsphase von 60 Minuten gemein. Die Applikationsphase unterschied sich zwischen den Versuchsgruppen im Hinblick auf die jeweilige Applikationsdauer und Substanz, wobei alle Substanzen in einer Rate von 1 % des CF verabreicht wurden.

Abbildung 13 (Abb. 13) zeigt das zugrundeliegende Versuchsprotokoll für die Aufschlüsselung des Signaltransduktionsweges der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion.



Abb. 13: Versuchsprotokoll zum Signaltransduktionsweg.

Angabe der Dauer in Minuten. Con = Kontrollgruppe; Dex = Dexmedetomidin; Pax = Paxilline. Eigene Abbildung, modifiziert nach [139].

Gruppe 1 (Con): Applikation von KHB für 5 Minuten.

Gruppe 2 (Dex): Applikation von Dexmedetomidin (3 nM) für 5 Minuten.

Gruppe 3 (Pax+Dex): Applikation des mBKCa-Kanal-Blockers Paxilline (1 µM) für 5 Minuten vor und für 5 Minuten während der gleichzeitigen Gabe von Dexmedetomidin (3 nM), um die Rolle der mBKCa-Kanäle in der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion zu untersuchen.

Gruppe 4 (Pax): Applikation von Paxilline (1 μ M) für 10 Minuten, um den alleinigen Effekt von Paxilline auf die Myokardinfarktgröße zu untersuchen.

Gruppe 5 (Gap27+Dex): Applikation des Connexin 43-Inhibitors Gap27 (6 µM) für 5 Minuten vor und für 5 Minuten während der gleichzeitigen Gabe von Dexmedetomidin (3 nM), um den Signaltransduktionsweg der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion zu spezifizieren.

Gruppe 6 (Gap27): Applikation von Gap27 (6 μ M) für 10 Minuten, um den alleinigen Effekt von Gap27 auf die Myokardinfarktgröße zu untersuchen.

Gruppe 7 (NS1619+Gap27): Gleichzeitige Applikation des mBKCa-Kanal-Aktivators NS1619 (10 μ M) mit Gap27 (6 μ M) für 10 Minuten, um den Signaltransduktionsweg der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion zu spezifizieren.

Gruppe 8 (NS1619): Applikation von NS1619 (10 µM) für 10 Minuten, um den alleinigen Effekt von NS1619 auf die Myokardinfarktgröße zu untersuchen.

2.2.7 TTC-Färbung der Rattenherzen

Nach Versuchsende wurden die Herzen von der Langendorff-Anlage abgenommen, gewogen und bei -20 °C eingefroren. Zur Analyse der Infarktgrößen wurde die TTC-Färbung verwendet. Hierbei handelt es sich um eine seit 1981 etablierte Methode zur Unterscheidung von vitalem und avitalem Gewebe, wobei die im vitalen Gewebe vorhandenen Dehydrogenasen mit dem Tetrazolinumsalz der Färbelösung reagieren und dadurch ein dunkelrotes Formazanpigment entsteht (s. Abb. 14).



Abb. 14: Umbau von Tetrazolium zu Formazan mittels Reduktase in lebenden Zellen.

Auf Grundlage dieser Reaktion erscheint vitales Gewebe nach dem Färben rot und avitales Gewebe weiß-gräulich [140, 141].



Abb. 15: Herzscheibe nach TTC-Färbung.

Das Foto zeigt exemplarisch eine Herzscheibe aus der Pax+Dex-Gruppe nach TTC-Färbung, wobei sich vitales Gewebe rot und avitales Gewebe weiß darstellt.

Zur Herstellung von 0,75% iger TTC-Lösung wurden 0,75 g TTC und 1,41 g Sigma 7 – 9 Puffer in 100 ml NaCl 0,9 % gelöst und auf 37 °C erhitzt sowie durch Abdeckung mit Aluminiumfolie vor direktem Lichteinfall geschützt. Die Lösung wurde unter Aufrechterhaltung der Temperatur durch das langsame Hineintropfen von 37 %-iger Salzsäure (HCl) auf exakt pH 7,42 titriert.

Die eingefrorenen Herzen wurden in 1 - 2 mm dicke Scheiben geschnitten. Anschließend wurden die Herzen mit der Schnittfläche nach unten in eine Wellplatte gelegt, wobei je eine Herzscheibe pro Fach zu liegen kam und mit je einem Stoß (1 ml) der TTC-Lösung bedeckt wurde. Es erfolgte die Inkubation der Herzscheiben bei 37 °C für 15 Minuten, ehe die Herzscheiben in eine neue Wellplatte mit weiterhin nach unten gerichteter Schnittfläche umgelagert wurden und pro Fach je 1 ml Formaldehyd-Lösung 4 % hinzugegeben wurde. Die Herzscheiben wurden anschließend für mindestens ca. 24 Stunden bei Raumtemperatur in der Lösung zwecks Fixierung belassen.

Zur Auswertung der Infarktareale wurden die Herzscheiben eingescannt und unter Verwendung des Programmes © Sigma Scan Pro 5 verblindet analysiert. Um die visuelle Differenzierung zwischen infarziertem und vitalem Gewebe zu erleichtern, wurde sowohl die Farbsättigung als auch die Kontrastierung der Bilddateien um 30 % erhöht. Es wurde anschließend das avitale Gebiet des Risikogebietes (AAR = *area at risk*) des linken Ventrikels in Verhältnis zur Gesamtfläche des Risikogebietes des linken Ventrikels gesetzt und so die Infarktgröße in Prozent ermittelt. Im Falle des Vorliegens lückenhafter Infarktareale wurde die Summe aller vorhandenen Infarktareale einer Herzscheibe gebildet.

2.2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung und graphische Darstellung erfolgte über die Programme GraphPad StatMate Version 1.01 sowie Microsoft Excel[®]. Über GraphPad wurde eine Gruppengröße von n = 6 - 8 bestimmt, um einen Unterschied der Infarktgröße von 25 % mit 80 % iger Sicherheit bei $\alpha < 0.05$ zu erkennen. Die Schätzungen des mittleren Unterschieds von 25 % bei einer Standardabweichung von 15 % basierten auf eigenen, vorangegangenen Versuchen [133, 142]. Die während der Stabilisierungsphase, wash-out-Phase, Ischämie und Reperfusion Applikationsphase, gemessenen hämodynamischen Parameter wurden mittels einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (two-way ANOVA), gefolgt von einem Turkey's post hoc test analysiert. Die Infarktgrößen wurden verblindet und durch eine einfaktorielle Varianzanalyse (one-way ANOVA) gefolgt von einem Tukey's post hoc test analysiert. Die gewonnenen Daten wurden als Mittelwert (MW) ± Standardabweichung (SD) angegeben. Unterschiede galten als statistisch signifikant, wenn p < 0.05 war [139].

3. Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt entsprechend der Reihenfolge der durchgeführten Versuchsprotokolle und unterteilt sich in die Infarktgrößenauswertung sowie die Hämodynamik. Bezug auf das Studienprotokoll In zum Signaltransduktionsweg findet zudem eine Darstellung Tierder und Herzcharakteristika statt.

3.1 Ergebnisse des ersten Versuchsprotokolls: Zeitfindungsstudie

3.1.1 Infarktgrößenauswertung

Das Ziel der Zeitfindungsstudie bestand darin, die kürzeste, signifikant protektive Applikationsdauer von 10 nM Dexmedetomidin zu finden. Die Infarktgröße stellte den primären Endpunkt der Zeitfindungsstudie dar und wurde anhand der 24 Versuchstiere, randomisiert auf vier Versuchsgruppen, mittels des zuvor beschriebenen Versuchsprotokolls (s. Abb. 11) erhoben. Die Infarktgröße wurde dabei als prozentualer Anteil des Infarktareals am Risikogebiet des linken Ventrikels angegeben und betrug in der unbehandelten Kontrollgruppe 49,3 % ± 5 % (Mittelwert ± Standardabweichung). Bei pharmakologischer Präkonditionierung des Herzens mit 10 nM Dexmedetomidin vor Einleitung der Ischämie zeigte sich für alle drei Applikationszeiträume (5 Minuten, 10 Minuten und 25 Minuten) eine signifikante Reduktion der Infarktgrößen auf jeweils ca. 24 % im Vergleich zur Kontrollgruppe (p < 0,0001). Verglichen untereinander ergaben sich für die gewählten Applikationszeiträume keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Infarktgrößenreduktion.

Tabelle 8 gibt eine Übersicht über die Mittelwerte der Infarktgrößen sowie die Standardabweichungen der vier Versuchsgruppen, während Abbildung 16 (Abb. 16) die gemittelten Infarktgrößen graphisch darstellt.

	Mittelwert Infarktgröße (%)	Standardabweichung (%)
Kontrollgruppe (Con)	49,3	± 5
10 nM Dexmedetomidin, 5 Minuten	23,6	± 4
10 nM Dexmedetomidin, 10 Minuten	23,8	± 7
10 nM Dexmedetomidin, 25 Minuten	23,9	± 5

Tabelle 8: Infarktgrößenauswertung der Zeitfindungsstudie.





Abb. 16: Infarktgrößenauswertung der Zeitfindungsstudie.

Dargestellt sind die Infarktgrößen \pm Standardabweichungen (in %) bezogen auf die Versuchsgruppe der unbehandelten Kontrollherzen (Con), der 5-minütigen Applikation von 10 nM Dexmedetomidin (10 nM 5 min), der 10-minütigen Applikation von 10 nM Dexmedetomidin (10 nM 10 min) sowie der 25minütigen Applikation von 10 nM Dexmedetomidin (10 nM 25 min). Die Herzen der Kontrollgruppe wurden für 25 Minuten mit KHB perfundiert. n = 6 Versuchstiere pro Gruppe; *p < 0,0001 vs. Con. Eigene Abbildung, modifiziert nach [139].

3.1.2 Hämodynamik

Die analysierten hämodynamischen Parameter zwecks Untersuchung der Herzarbeit umfassten die HR (in bpm), den LVEDP (in mmHg) sowie den CF (ml **min*⁻¹). Sie sind in Tabelle 9 dargestellt. Die Parameter wurden während der Experimente kontinuierlich gemessen, wobei die in die statistische Auswertung einfließenden Daten der vier Versuchsgruppen zu definierten Zeitpunkten in der *baseline*, während der pharmakologischen Präkonditionierung sowie der Reperfusion erhoben und anschließend statistisch ausgewertet wurden.

Die aufgezeichnete HR zeigte in den Versuchsgruppen Con, Dex10_25 sowie Dex10_10 in der 30. Minute der Reperfusion einen signifikanten Abfall im Vergleich zur *baseline*, der in Minute 60 der Reperfusion nur noch in der Dex10_25-Gruppe bestand (p < 0.05). Zwischen den Versuchsgruppen ergaben sich zu den gewählten Untersuchungszeitpunkten keine signifikanten Unterschiede.

Alle Versuchsgruppen wiesen einen signifikanten Anstieg des LVEDP in Minute 30 sowie in Minute 60 der Reperfusion im Vergleich zur *baseline* auf (p < 0,05), während sich im Rahmen der Präkonditionierung keine signifikanten Veränderungen des LVEDP zeigten. Auch zwischen den einzelnen Versuchsgruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede des LVEDP.

Gegensätzlich verhielt es sich mit dem CF, der in allen vier Versuchsgruppen in Minute 30 und Minute 60 der Reperfusion eine signifikante Senkung im Vergleich zur *baseline* zeigte (p < 0.05).

	baseline	Präkonditionierung	Reperf	usion
			30. Minute	60. Minute
HR (bpm)				
Con	294 ± 20	296 ± 23	$191 \pm 116 \texttt{*}$	234 ± 26
Dex10_25	315 ± 16	283 ± 18	$196 \pm 48*$	$212\pm34\texttt{*}$
Dex10_10	296 ± 39	277 ± 38	$251 \pm 77*$	263 ± 61
Dex10_05	312 ± 25	298 ± 41	247 ± 52	253 ± 67
LVEDP (mmHg)				
Con	4 ± 2	3 ± 3	$83 \pm 16*$	$68 \pm 12*$
Dex10_25	3 ± 1	3 ± 4	$80 \pm 20*$	$67 \pm 15*$
Dex10_10	3 ± 3	3 ± 4	$88 \pm 13*$	$73 \pm 13*$
Dex10_05	4 ± 3	3 ± 3	$79 \pm 18*$	$67 \pm 14*$
CF (ml*min ⁻¹)				
Con	14 ± 2	14 ± 2	$8 \pm 1*$	$9\pm 2*$
Dex10_25	13 ± 2	13 ± 2	$8 \pm 1*$	$8 \pm 1*$
Dex10_10	13 ± 1	13 ± 2	$8 \pm 1*$	$7 \pm 1*$
Dex10_05	13 ± 2	12 ± 2	$8\pm 2*$	$7 \pm 1*$

Tabelle 9: Hämodynamische Werte der Zeitfindungsstudie.

Die Herzfrequenz zeigte in der Kontrollgruppe (Con) sowie in der Dex10_25- und der Dex10_10-Gruppe einen signifikanten Abfall in der Reperfusionsphase, der sich zum Ende in der Kontroll- und in der Dex10_10-Gruppe wieder erholte. Bei den übrigen Messwerten bzgl. der Herzfrequenz zeigte sich keine Signifikanz. In allen Gruppen fand sich ein signifikanter Anstieg des LVEDP in der Reperfusionsphase im Vergleich zur *baseline*. Zwischen den einzelnen Versuchsgruppen bestanden dabei keine Signifikanzen. Der Koronarfluss fiel in allen Gruppen in der Reperfusionsphase signifikant ab, wobei es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen gab. LVEDP = linksventrikulärer enddiastolischer Druck; Con = Kontrollgruppe; Dex = Dexmedetomidin. Die Werte sind angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. * = p < 0,05 vs. *baseline*. Eigene Tabelle, modifiziert nach [139].

3.2 Ergebnisse des zweiten Versuchsprotokolls: Dosisfindungsstudie

3.2.1 Infarktgrößenauswertung

Basierend auf den Ergebnissen aus dem ersten Versuchsprotokoll wurde im zweiten Versuchsprotokoll eine Applikationszeit für Dexmedetomidin von 5 Minuten zugrunde gelegt. Das Ziel der Dosisfindungsstudie bestand darin, die geringste, signifikant protektive Dosierung von Dexmedetomidin zu finden. Erneut bildete die Bestimmung der prozentualen Infarktgröße für alle sieben Versuchsgruppen (n = 6) den Studienendpunkt. In der Kontrollgruppe (Con), die in der Applikationsphase lediglich mit KHB perfundiert wurde, betrug die Infarktgröße 48,3 % ± 7 % (Mittelwert ± Standardabweichung). Die Applikation von 3 nM, 10 nM sowie 30 nM Dexmedetomidin reduzierte die Infarktgröße jeweils um ca. 50 % im Vergleich zur Kontrollgruppe (p < 0,0001 vs. Con), wobei sich im Vergleich zwischen diesen Versuchsgruppen keinerlei signifikante Unterschiede zeigten und die Reduktion der Infarktgröße annährend gleich war (p = 0.99): Die Infarktgröße nach Applikation von 3 nM Dexmedetomidin betrug $23,1 \% \pm 3 \%$, nach Applikation von 10 nM Dexmedetomidin 21,6 $\% \pm 5$ % und nach Applikation von 30 nM Dexmedetomidin $22,1\% \pm 4\%$. Dahingegen führte eine Applikation von Dexmedetomidin in den Dosierungen 0,1 nM, 0,3 nM sowie 1 nM lediglich zu einer Reduktion der Infarktgröße um ca. 10 % im Vergleich zur Kontrollgruppe (p < 0.05 vs. Con), und war im Vergleich zwischen den genannten Gruppen annährend gleich (p = 0,74).

Tabelle 10 gibt eine Übersicht über die Mittelwerte der Infarktgrößen sowie die Standardabweichungen der sieben Versuchsgruppen, während Abbildung 17 (Abb. 17) die gemittelten Infarktgrößen graphisch darstellt.

	Mittelwert Infarktgröße (%)	Standardabweichung (%)
Kontrollgruppe (Con)	48,3	± 7
0,1 nM Dexmedetomidin	40,7	± 5
0,3 nM Dexmedetomidin	39,9	± 7
1 nM Dexmedetomidin	36,0	± 6
3 nM Dexmedetomidin	23,1	± 3
10 nM Dexmedetomidin	21,6	± 5
30 nM Dexmedetomidin	22,1	± 4

Tabelle 10: Infarktgrößenauswertung der Dosisfindungsstudie.

Die Tabelle zeigt die Mittelwerte der Infarktgrößen (%) sowie die jeweilige Standardabweichung (%) der verschiedenen Versuchsgruppen.



Abb. 17: Infarktgrößenauswertung der Dosisfindungsstudie.

Dargestellt sind die Infarktgrößen \pm Standardabweichungen (in %) der einzelnen Versuchsgruppen (Con = Kontrollgruppe, Applikation von Dexmedetomidin über 5 Minuten in den Dosierungen 0,1 nM, 0,3 nM, 1 nM, 3 nM, 10 nM sowie 30 nM). Die Herzen der Kontrollgruppe wurden in der Applikationsphase für 5 Minuten mit KHB perfundiert. n = 6 Versuchstiere pro Gruppe; *p < 0,0001 vs. Con. # p < 0,05 vs. Con. Eigene Abbildung, modifiziert nach [139].

3.2.2 Hämodynamik

Die Erhebung und Auswertung der hämodynamischen Parameter (HR, LVEDP sowie CF) erfolgte unter den in Abschnitt 3.1.2 erörterten Modalitäten und ist in Tabelle 11 dargestellt.

Die aufgezeichnete HR zeigte in den Versuchsgruppen Con sowie Dex 0,3 in der Reperfusion einen deutlichen Abfall im Vergleich zur *baseline* (p < 0,05), während sie sich in den anderen Studiengruppen im Vergleich zur *baseline* annährend gleichbleibend darstellte. Auch im direkten Vergleich der Werte für die Herzfrequenz zu den definierten Zeitpunkten zwischen den einzelnen Versuchsgruppen ergaben sich keinerlei signifikante Unterschiede.

Alle Versuchsgruppen wiesen einen signifikanten Anstieg des LVEDP in Minute 30 sowie in Minute 60 der Reperfusion im Vergleich zur *baseline* auf (p < 0,05), während sich im Rahmen der Präkonditionierung keine signifikanten Veränderungen des LVEDP zeigten. Auch zwischen den einzelnen Versuchsgruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede des LVEDP. Gegensätzlich verhielt es sich mit dem CF, der in allen vier Versuchsgruppen in Minute 30 sowie in Minute 60 der Reperfusion eine signifikante Senkung im Vergleich zur *baseline* aufwies (p <0,05).

	baseline	Präkonditionierung	Reper	fusion
_			30. Minute	60. Minute
HR (bpm)				
Con	314 ± 57	291 ± 60	$224\pm26\texttt{*}$	$215 \pm 20*$
Dex 0.1	279 ± 29	300 ± 45	250 ± 68	243 ± 29
Dex 0.3	299 ± 34	304 ± 29	$238\pm49\texttt{*}$	$222\pm70\texttt{*}$
Dex 1	294 ± 22	301 ± 45	287 ± 45	240 ± 40
Dex 3	292 ± 27	285 ± 40	245 ± 56	240 ± 24
Dex 10	302 ± 29	292 ± 19	282 ± 32	277 ± 38
Dex 30	281 ± 20	266 ± 20	247 ± 34	224 ± 52
LVEDP (mmHg)				
Con	6 ± 2	3 ± 2	$82 \pm 14*$	$68 \pm 17*$
Dex 0.1	5 ± 1	3 ± 2	$90 \pm 11*$	$77 \pm 8*$
Dex 0.3	4 ± 2	2 ± 2	$91 \pm 10*$	$75 \pm 5*$
Dex 1	4 ± 2	1 ± 2	$97 \pm 8*$	$82 \pm 8*$
Dex 3	4 ± 2	2 ± 1	$83 \pm 15*$	$71 \pm 13*$
Dex 10	4 ± 2	2 ± 1	$83 \pm 15*$	$71 \pm 13*$
Dex 30	5 ± 2	1 ± 1	$96 \pm 7*$	$80\pm7*$
$CF(ml^*min^{-1})$				
Con	15 ± 2	14 ± 3	$10 \pm 2*$	$9\pm2*$
Dex 0.1	13 ± 1	14 ± 3	$9\pm2*$	$9\pm1*$
Dex 0.3	13 ± 1	13 ± 1	$8\pm2*$	$8 \pm 1*$
Dex 1	14 ± 3	13 ± 3	$9\pm2*$	$8 \pm 1*$
Dex 3	14 ± 2	13 ± 2	$10\pm2*$	$9\pm1*$
Dex 10	14 ± 2	13 ± 2	$10 \pm 2*$	$9\pm1*$
Dex 30	13 ± 2	12 ± 2	$8\pm 2*$	$8 \pm 1*$

Tabelle 11: Hämodynamische Werte der Dosisfindungsstudie.

Die Herzfrequenz zeigte in der Kontrollgruppe (Con) sowie der Dex 0,3-Gruppe einen signifikanten Abfall in der Reperfusionsphase im Vergleich zur *baseline*. In den anderen Studiengruppen ergaben sich keine signifikanten Veränderungen der Herzfrequenz. In allen Studiengruppen fand sich jedoch ein signifikanter Anstieg des LVEDP in der Reperfusionsphase im Vergleich zur *baseline*, wohingegen der Koronarfluss in allen Gruppen in der Reperfusionsphase im Vergleich zur *baseline* signifikant abfiel. Zwischen den einzelnen Versuchsgruppen gab es keine signifikanten Unterschiede. LVEDP = linksventrikulärer enddiastolischer Druck; CF = Koronarfluss; Con = Kontrollgruppe; Dex =

Dexmedetomidin. Die Werte sind angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. * = p < 0,05 vs. *baseline*. Eigene Tabelle, modifiziert nach [139].

3.3 Ergebnisse des dritten Versuchsprotokolls: Signaltransduktionsweg

3.3.1 Infarktgrößenauswertung

Für die Untersuchung des möglichen Signaltransduktionsweges der Dex-induzierten Kardioprotektion wurde, basierend auf den Ergebnissen der Zeitund Dosisfindungsstudie, Dex in einer Konzentration von 3 nM für 5 Minuten verabreicht. Studienendpunkt für alle acht Gruppen (n = 8) war erneut die Infarktgrößenauswertung. Die Kontrollgruppe (Con), in der KHB für 5 Minuten perfundiert wurde, wies eine Infarktgröße von 47,4 % \pm 7,1 % auf. Durch die Gabe von Dexmedetomidin reduzierte sich die Infarktgröße um ca. 50% auf 23,3 % \pm 4,4 % (p < 0,0001 vs. Con). Bei Applikation des mBKCa-Kanal-Blockers Paxilline (1 µM) für 5 Minuten vor und 5 Minuten während der Perfusion von 3 nM Dexmedetomidin war die Infarktgröße mit $49 \% \pm 5.4 \%$ annährend gleichgroß mit der der Kontrollgruppe (p = 0.99 vs. Con). Die alleinige Gabe von Paxilline hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Infarktgröße (46,4 % \pm 6 %, p = 0,99 vs. Con). Die Dexmedetomidin-induzierte Reduktion der Infarktgröße wurde auch durch die Applikation des Connexin-43-Inhibitors Gap27 (6 µM) blockiert (p < 0,0001 vs. Dex), während die alleinige Perfusion mit Gap27 keinen signifikanten Effekt auf die Infarktgröße hatte (47,8 % \pm 4,1 %, p = 0,99 vs. Con). Der mBKCa-Kanal-Aktivator NS1619 (10 µM) reduzierte bei alleiniger Applikation die Infarktgröße in vergleichbarem Ausmaß wie Dexmedetomidin (p = 0.71vs. Dex). Bei zeitgleicher Applikation mit Gap27 zeigte sich keine Reduktion des kardioprotektiven Effekts von NS1619 (Infarktgröße: $23,1 \% \pm 5,0 \%$).

Tabelle 12 gibt eine Übersicht über die Mittelwerte der Infarktgrößen sowie die Standardabweichungen der acht Versuchsgruppen, während Abbildung 18 (Abb. 18) die gemittelten Infarktgrößen graphisch darstellt.

	Mittelwert Infarktgröße (%)	Standardabweichung (%)
Kontrollgruppe (Con)	47,3	± 5,1
3 nM Dex	23,3	\pm 4,4
3 nM Dex + 1 μM Pax	49,2	± 5,4
1 μM Pax	46,4	± 6,0
3 nM Dex + 6 μM Gap27	50,5	± 7,0
6 μM Gap27	47,8	± 4,1
6 μM Gap27 + 10 μM NS1619	23,1	± 5,0
10 μM NS1619	26,8	± 4,8

Tabelle 12: Infarktgrößenauswertung des Versuchsprotokolls zum Signaltransduktionsweg.

Die Tabelle zeigt die Mittelwerte der Infarktgrößen (%) sowie die jeweilige Standardabweichung (%) der verschiedenen Versuchsgruppen.



Abb. 18: Infarktgrößenauswertung des Versuchsprotokolls zum Signaltransduktionsweg. Dargestellt sind die Infarktgrößen \pm Standardabweichungen (in %) der acht Versuchsgruppen. Die Herzen der Kontrollgruppe (Con) wurden in der Applikationsphase für 5 Minuten mit KHB perfundiert. Dex = Dexmedetomidin; Pax = Paxilline; n = 8 Versuchstiere pro Gruppe. * = p < 0,0001 vs. Con, Dex+Pax, Pax, Dex+Gap27 sowie Gap27. Eigene Tabelle, modifiziert nach [139].

3.3.2 Hämodynamik

Wie bereits bei den Versuchen zur Zeit- sowie zur Dosisfindung erfolgte die Erhebung sowie die Auswertung der hämodynamischen Parameter (HR, LVEDP sowie CF) unter den in Abschnitt 3.1.2 erörterten Modalitäten und ist in Tabelle 13 dargestellt.

Bis auf die 30. Minute der Reperfusion der Pax+Dex-Gruppe sowie die 60. Minute der Reperfusion der Gap27+NS1619-Gruppe zeigte sich die HR in den Studiengruppen zu den definierten Untersuchungszeitpunkten annährend gleichbleibend. Alle Versuchsgruppen wiesen einen signifikanten Anstieg des LVEDP in Minute 30 sowie in Minute 60 der Reperfusion im Vergleich zur *baseline* auf (p < 0,05), während sich im Rahmen der Präkonditionierung keine signifikanten Veränderungen des LVEDP zeigten. Auch zwischen den einzelnen Versuchsgruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede des LVEDP. Gegensätzlich verhielt es sich mit dem CF, der in allen Versuchsgruppen in Minute 30 sowie in Minute 60 der Reperfusion eine signifikante Senkung im Vergleich zur *baseline* aufwies (p < 0,05).

	baseline	Präkonditionierung	Reper	fusion
_			30. Minute	60. Minute
HR (bpm)				
Con	310 ± 29	289 ± 23	261 ± 69	258 ± 24
Dex	330 ± 28	300 ± 28	316 ± 36	278 ± 42
Pax + Dex	313 ± 33	285 ± 32	$226\pm80\texttt{*}$	272 ± 31
Pax	303 ± 32	290 ± 36	264 ± 57	258 ± 34
Gap27 + Dex	305 ± 38	297 ± 48	259 ± 42	270 ± 61
Gap 27	309 ± 25	288 ± 23	293 ± 66	259 ± 39
Gap27 + NS1619	290 ± 23	280 ± 19	276 ± 65	$208\pm34\texttt{*}$
NS1619	309 ± 38	303 ± 39	315 ± 43	279 ± 30
LVEDP (mmHg)				
Con	5 ± 2	4 ± 2	$71 \pm 19*$	$60 \pm 18*$
Dex	3 ± 2	3 ± 2	$66 \pm 12*$	$59\pm10^{\boldsymbol{*}}$
Pax + Dex	6 ± 3	7 ± 4	$79\pm14\texttt{*}$	$68 \pm 12*$
Pax	6 ± 2	6 ± 3	$75 \pm 13*$	$65 \pm 11*$
Gap27 + Dex	4 ± 2	3 ± 2	$68 \pm 17*$	$59 \pm 17*$
Gap 27	3 ± 2	3 ± 2	80 ± 14 *	$69 \pm 12*$
Gap27 + NS1619	4 ± 2	4 ± 2	$83 \pm 12*$	$73 \pm 10*$
NS1619	4 ± 3	3 ± 3	$67 \pm 12*$	$60 \pm 11*$
CF (ml*min ⁻¹)				
Con	14 ± 2	14 ± 2	$9\pm1*$	$9\pm1*$
Dex	17 ± 3	15 ± 3	$10\pm2*$	$10 \pm 2*$
Pax + Dex	14 ± 3	12 ± 2	$10\pm3*$	$10 \pm 4*$
Pax	14 ± 2	13 ± 2	$10 \pm 1*$	$10 \pm 1*$
Gap27 + Dex	13 ± 2	12 ± 2	$10 \pm 1*$	$9 \pm 1*$
Gap 27	13 ± 2	13 ± 3	$10 \pm 1*$	$10 \pm 1*$
Gap27 + NS1619	13 ± 2	14 ± 3	$11 \pm 1*$	$10 \pm 1*$
NS1619	15 ± 3	16 ± 3	$12 \pm 1*$	$11 \pm 1*$

Tabelle 13: Hämodynamische Werte des Versuchsprotokolls zum Signaltransduktionsweg.

Die Herzfrequenz zeigte in der Pax+Dex-Gruppe, sowie der Gap27+NS1619-Gruppe einen signifikanten Abfall in Minute 30 bzw. 60 der Reperfusionsphase und blieb ansonsten in allen Studiengruppen annährend gleich. In allen Gruppen fand sich zudem ein signifikanter Anstieg des LVEDP in der Reperfusionsphase im Vergleich zur *baseline*, wohingegen der Koronarfluss in allen Gruppen in der Reperfusionsphase im Vergleich zur *baseline* signifikant abfiel. Zwischen den einzelnen Versuchsgruppen gab es keine signifikanten Unterschiede. LVEDP = linksventrikulärer enddiastolischer Druck; CF = Koronarfluss; Con = Kontrollgruppe; Dex = Dexmedetomidin;

Pax = Paxilline. Die Werte sind angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. * = p < 0,05 vs. *baseline*. Eigene Tabelle, modifiziert nach [139].

3.3.3 Tier- und Herzcharakteristika

Neben der Analyse der bereits beschriebenen hämodynamischen Parameter erfolgte zwecks Schaffung einer höchstmöglichen Transparenz sowie Vergleichbarkeit zwischen den acht Studiengruppen die Erhebung weiterer Daten. Hierbei wurde bei jedem Versuch neben dem Körpergewicht der Wistar-Ratte sowohl das Herznassgewicht unmittelbar nach Abnahme von der Langendorff-Anlage als auch das Herztrockengewicht nach TTC-Färbung und kompletter Trocknung der Herzscheiben dokumentiert. Zudem wurden Zeitpunkt und Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur gemessen. Tabelle 14 gibt einen Überblick über die erhobenen Daten und verdeutlicht, dass es zwischen den einzelnen Studiengruppen keinerlei signifikante Unterschiede bezüglich des Körpergewichts der Ratten, der Herzgewichte sowie dem Zeitpunkt und der Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur gab.

	n	Körpergewicht (g)	Herznassgewicht (g)	Herztrockengewicht (g)	Zeitpunkt der max. ischämischen Kontraktur (min)	Höhe der max. ischämischen Kontrakur (mmHg)
Con	8	276 ± 15	$1,32 \pm 0,06$	$0,\!14\pm0,\!01$	16 ± 2	55 ± 10
Dex	8	287 ± 24	$1,\!35\pm0,\!07$	$0,\!13\pm0,\!01$	16 ± 2	$53\pm~7$
Pax + Dex	8	282 ± 17	$1,\!35\pm0,\!10$	$0,\!13\pm0,\!01$	17 ± 2	59 ± 16
Pax	8	288 ± 33	$1,\!42\pm0,\!07$	$0,\!14\pm0,\!02$	17 ± 1	54 ± 13
Gap27 + Dex	8	277 ± 22	$1,\!37\pm0,\!11$	$0,\!13\pm0,\!01$	19 ± 2	51 ± 10
Gap 27	8	280 ± 23	$1,\!35\pm0,\!13$	$0,\!14\pm0,\!01$	18 ± 3	54 ± 14
Gap27 + NS1619	8	290 ± 19	$1,43 \pm 0,11$	0,13 ± 0,01	19 ± 3	54 ± 9
NS1619	8	273 ± 21	1,43 ± 0,08	0,13 ± 0,01	17 ± 2	49 ± 8

Tabelle 14: Darstellung der Körpergewichte, Herzgewichte sowie Zeitpunkt und Höhe der max. ischämischen Kontraktur.

Zwischen den einzelnen Versuchsgruppen gab es keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf das Körpergewicht der Ratten, das Herztrockengewicht, das Herznassgewicht, den Zeitpunkt der maximalen ischämischen Kontraktur sowie die Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur. Con = Kontrollgruppe; Dex = Dexmedetomidin; Pax = Paxilline; n = 8 Tiere pro Gruppe. Die Werte sind angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. Eigene Tabelle, modifiziert nach [139].

4. Diskussion

Zentraler Gegenstand der vorliegenden Dissertation sind die Fragen, ob der klinisch etablierte, hochselektive Alpha-2-Adrenozeptor-Agonist Dexmedetomidin im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung Einfluss auf den myokardialen Ischämie-Reperfusionsschaden am isolierten Rattenherzen hat und ob im Falle eines durch Dexmedetomidin hervorgerufenen Effekts Cx43 und der mBKCa-Kanal eine Rolle in der Signalkaskade zur Kardioprotektion spielen.

Die im Rahmen der Arbeit gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass Dexmedetomidin eine starke, kardioprotektive Wirkung besitzt, welche nicht von der Applikationsdauer, jedoch von der gewählten Dosis abhängig ist. Die Applikation von 3 nM Dexmedetomidin über 5 Minuten ist in der Lage, in an der Langendorff-Anlage isoliert perfundierten Rattenherzen, die einer 33-minütigen Ischämie und einer darauffolgenden 60-minütigen Reperfusionsphase ausgesetzt waren, den Ischämie-Reperfusionsschaden signifikant zu reduzieren. Die Infarktgröße wird hierdurch um ca. 50 % im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe gesenkt. Der Dexmedetomidin-induzierte kardioprotektive Effekt wird sowohl durch die zeitgleiche Applikation des selektiven mBKCa-Kanalblockers Paxilline als auch durch die Applikation des Connexin 43-Inhibitors Gap27 vollständig aufgehoben, wohingegen die Applikation von Paxilline und Gap27 alleinig keinen Effekt auf den Ischämie-Reperfusionsschaden hat. Diese Feststellungen lassen darauf schließen, dass sowohl Cx43 als auch die Öffnung der mBKCa-Kanäle in Signalkaskade der Dexmedetomidin-induzierten der Kardioprotektion eine tragende Rolle spielen. Die Applikation des mBKCa-Kanal-Aktivators NS1619 reduziert den Ischämie-Reperfusionsschaden im gleichen Maße wie Dexmedetomidin, wobei der kardioprotektive Effekt von NS1619 nicht durch die zeitgleiche Applikation von Gap27 aufgehoben wird. Damit zeigt die vorliegende Arbeit, dass die Öffnung der mBKCa-Kanäle downstream von Cx43 in der Signalkaskade der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion liegt. Darüber hinaus hat die Gabe von Dexmedetomidin im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe keinen Einfluss auf die hämodynamischen Parameter der isoliert-perfundierten Rattenherzen, was die Annahme stützt, dass die Kardioprotektion vorwiegend über eine molekulare Reaktion innerhalb der Kardiomyozyten anstatt über eine neurohumorale Regulation vermittelt wird.

4.1 Diskussion von Material und Methode

4.1.1 Die Langendorff-Anlage

Die Erforschung des isoliert perfundierten Herzens und damit der Grundstein der heute bewährten Langendorff-Präparation reicht weit über 100 Jahre zurück und hat wie kaum eine andere Entwicklung das Verständnis myokardialer Funktionen geprägt [137]. 1866 gelang dem Anatomen und Physiologen Carl Ludwig die Perfusion eines isolierten Herzens, indem er ein Froschherz mit einer geeigneten Flüssigkeit künstlich durchströmen ließ. Damit wurde erstmals gezeigt, dass ein Herz unter entsprechenden Bedingungen auch *ex vivo* weiterschlagen kann [143]. Anknüpfend an Ludwigs Studien beschrieb Oscar Langendoff 1895 die extrakorporale Organperfusion eines isolierten Säugetierherzens [144]. Inzwischen ist das isolierte Herz nach Langendorff eine etablierte sowie weit verbreitete Methode, die es erlaubt, mittels einer oxygenierten und nährstoffreichen Lösung (meist einem modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer) ein Herz retrograd zu perfundieren und das Weiterschlagen nach Organentnahme zu ermöglichen.

Die Langendorff-Apparatur gestattet in Abhängigkeit der gewählten Perfusionsart – zum einen den konstanten Druck, zum anderen den konstanten Fluss – eine Vielzahl von physiologischen, pharmakologischen und klinischen Studien. Dabei lassen sich sowohl kardiale Funktionen, kardiale Elektrophysiologie und vaskuläre Reaktivität [145], als auch myokardiale Ischämiesyndrome untersuchen, zu denen unter anderem das *Stunning* und die Präkonditionierungsverfahren gezählt werden [146, 147]. Durch die Isolation des Herzens *ex vivo* ergibt sich der signifikante Vorteil, dass bei den Studien vegetative, humorale, metabolische sowie neuronale Größen ausgeschlossen werden können. Dies ermöglicht die Messung kardialer Effekte ohne den Einfluss regulierender Faktoren und begünstigt zudem die erleichterte Messung metabolischer und funktionaler Änderungen [148]. Auch gestattet die Standardisierung der Versuchsbedingungen eine leichtere Vergleichbarkeit der erzielten Ergebnisse.

Für das isolierte Rattenherz bedarf es einer gleichbleibenden Temperatur von ca. 37 °C, um eine fehlerfreie Funktion des Herzens an der Langendorff-Anlage zu gewährleisten [145]. Bereits kleine Abweichungen der Herztemperatur vom genormten

Soll können zu einer Beeinflussung der Kontraktionskraft des Herzens (Inotropie) oder zu einer Veränderung der Herzfrequenz führen [138, 149]. Da das Herz aufgrund seiner relativ großen Oberfläche im Verhältnis zu seinem Volumen schnell Gefahr läuft, in kurzer Zeit viel Wärme zu verlieren [150], kommt der Konstanthaltung der Zieltemperatur eine besondere Bedeutung zu. In der vorliegenden Arbeit wurde daher mit einem thermostatisch kontrollierten, wasserummantelten System gearbeitet. Auf dem Weg vom Perfusatbehälter zum Herzen wurden zwei Wärmekammern installiert, in denen erwärmtes Wasser aus einem separaten Wasserbad zirkulierte (s. Abb. 10). Dabei konnte die zweite Kammer mit auf ca. 37,8 °C (± 0,2 °C) erwärmtem und mit Stickstoff begastem Krebs-Henseleit-Puffer aufgefüllt werden, um während der Ischämiephase eine Diffusion von Sauerstoff aus der Raumluft in das isolierte Herz zu verhindern. Da ein leichter Temperaturabfall über die Anlage unvermeidbar ist [138], war es von besonderer Bedeutung, möglichst wenig in den Versuchsaufbau einzugreifen. Aus diesem Grund wurde auch bewusst darauf verzichtet, eine kontinuierliche Temperaturmessung unmittelbar am Herzen vorzunehmen, um eine zusätzliche Beeinflussung des Herzens zu vermeiden.

Dem Versuchsaufbau dieser Arbeit lag ferner eine druckkontrollierte Perfusion der isolierten Rattenherzen mittels einer peristaltischen Pumpe zugrunde, wodurch der AoP konstant bei 80 mmHg gehalten werden konnte und ein gleichbleibendes Sauerstoffangebot sichergestellt wurde, welches essenziell für die Aufrechterhaltung der Herzfunktion des isolierten Rattenherzens ist [151].

Ein weiterer Faktor, der einen fehlerfreien Versuchsablauf garantieren sollte, lag in der Luftreinheit des Schlauchsystems der Langendorff-Apparatur. Die verwendete Anlage wurde vor jeder Inbetriebnahme gründlich gespült und das Schlauchsystem auf Luftblasen überprüft. Zudem diente die erste Wärmekammer gleichzeitig als Luftfänger (s. Abb. 10), um den Lufttransport in das Herz zu unterbinden und dadurch eine Embolisierung der Koronarien durch Luftblasen zu verhindern. Vor allem der Anschluss der die Testsubstanzen führenden Leitungen an die Langendorff-Apparatur erwies sich als zusätzliches, kritisches Moment, da der Zulauf zwischen dem Luftfänger und dem Herzen erfolgte, sodass hier mit größter Sorgfalt auf einen luftfreien Anschluss geachtet wurde.

Um eine unfreiwillige ischämische Präkonditionierung des Herzens nach Entnahme zu verhindern, wurde auf die Einhaltung einer kurzen Dekapitations- zu Reperfusionszeit (< 90 Sekunden) geachtet. Herzen, die nicht zeitig genug an die Langendorff-Anlage gebracht werden konnten, wurden von den Versuchsreihen ausgeschlossen.

4.1.2 Der modifizierte Krebs-Henseleit-Puffer

1932 entwickelten Hans Krebs und Kurt Henseleit einen Puffer zur Perfusion isolierter Organe (126), der in seiner Zusammensetzung den Bestandteilen von Blutplasma nachempfunden ist. Zur retrograden Perfusion eines isolierten Herzens am Langendorff-Modell wird in der Literatur am häufigsten mit folgender, modifizierter Zusammensetzung in mM gearbeitet: 118 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 MgSO₄, 1,2 KH₂PO₄, 4,25 NaHCO₃, 2,25 CaCl₂, 11 Glukose [138]. Auch in der vorliegenden Arbeit wurde eine ähnliche Lösung als Grundlage gewählt. Um einerseits das Sauerstoffangebot für das Herz aufrecht und andererseits den pH-Wert stabil zu halten, wurde der Puffer während der Experimente kontinuierlich mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) begast. Dies war notwendig, da der auf Basis einer Ringer-Lösung aufgebaute Puffer aufgrund des Fehlens von Hämoglobin eine deutlich geringere Sauerstofftransportkapazität im Vergleich zu Echtblut aufweist.

Als Energieträger des Puffers für die zu leistende Herzarbeit fungiert als metabolisch verwertbares Substrat Glucose. Physiologisch beträgt die Glukosekonzentration in männlichen Wistar-Ratten 5,6 – 6,3 mmol/l [152], sodass bei dem verwendeten modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer mit 11 mM Glucose eine potenziell diabetische Stoffwechsellage kritisch zu diskutieren ist. Die vom normoxischen Herzen bevorzugte Energiequelle in Form von freien Fettsäuren [153] wäre, ebenso wie die Verwendung anderer Energiequellen wie beispielsweise Pyruvat [154, 155] möglich, kann jedoch bei der Begasung des Puffers mit Carbogen zu einer signifikanten Schaumbildung führen [150], sodass sich in der vorliegenden Arbeit für eine Kombination aus 11 mM Glucose und 1 mM Lactat entschieden wurde.

Eine weitere Limitation der Verwendung eines modifizierten Krebs-Henseleit-Puffers stellt das Fehlen von Proteinen sowie zellulären Bestandteilen und der normalerweise im Blut befindlichen Antioxidantien sowie Glucosteroiden dar. Das Fehlen letzterer führt zu einer erhöhten Angreifbarkeit des Herzens gegenüber Immunstimuli [156], wie zum Beispiel durch bakterielle Verunreinigung [157]. Durch das täglich frische Ansetzen des modifizierten Puffers sowie die tägliche Reinigung der Anlage wurde dieser Problematik entgegengewirkt. Zudem wurde die Anlage regelmäßig mit HCL (37 %) gespült, um eventuelle Verschmutzungen zu beseitigen.

Das Fehlen von Proteinen, insbesondere Albumin, sorgt überdies für einen geringen onkotischen Druck des modifizierten Puffers im Vergleich zu Echtblut, wodurch einerseits ein deutlich erhöhter Koronarfluss entsteht, welcher zu vermehrtem Scherstress am Endothel führt [156], und wodurch andererseits die Bildung interstitieller Ödeme begünstigt werden kann. Diese Problematik aggraviert sich bei längeren Versuchszeiten und spielt daher bei kürzeren Untersuchungszeiträumen, wie in der vorliegenden Studie, eine untergeordnete Rolle [158]. Zudem ist Albumin schlecht wasserlöslich und neigt in begasten Medien zur Schaumbildung, was es für die Nutzung im modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer ungeeignet macht. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde als indirekter Parameter für den Wassergehalt des Myokardgewebes am Ende jedes Versuches das Herznassgewicht bestimmt, wobei sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen zeigten. Da das Herzgewicht vor den Versuchen nicht bestimmt wurde, um eine Unterbrechung des Perfusionszeitraums so gering wie möglich zu halten, stehen keine Ausgangswerte für einen Vergleich des Herzgewichts vor und nach den Versuchen zur Verfügung, sodass nicht eindeutig ausgesagt werden kann, ob Myokardödeme entstanden sind. Der Schwerpunkt dieser Studie liegt jedoch mittels der Infarktgrößenauswertung auf der Infarktreduktion und nicht auf der Überprüfung der Entstehung von Ödemen.

Alternativ zum modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer kann Echtblut oder eine erythrozytenhaltige Lösung zur Perfusion des isolierten Herzens verwendet werden. Hierbei besteht aufgrund des physiologischeren onkotischen Drucks weniger die Gefahr der kardialen Ödembildung, jedoch ist die Vorbereitung einer solchen Lösung wesentlich zeitintensiver. Da Echtblut bzw. eine erythrozytenhaltige Lösung – im Gegensatz zum Krebs-Henseleit-Puffer – in der Anlage rezirkulieren würde, kommt es im Verlauf zu einer Hämolyse der Erythrozyten [159, 160]. Die Benutzung der Lösung im Rahmen der Experimente ist folglich aufgrund aufwendiger Filter- und Aufbereitungsprozesse deutlich störanfälliger sowie kostenintensiver. Daher wird in einem Großteil der Studien die Verwendung eines modifizierten Krebs-Henseleit-Puffers bevorzugt. [150]. Dieser stellt mit einem Funktionsverlust im Herzen von nur ca. 5 – 10 % pro Stunde [150, 154, 161], insbesondere für kürzere Versuchsprotokolle wie in der vorliegenden Arbeit, einen zuverlässigen Puffer dar. Für langandauernde Versuchsprotokolle wäre hingegen ein Echtblutaufbau zu bevorzugen [162].

4.1.3 Versuchstiere

Um einen möglichen Effekt von Dexmedetomidin im Rahmen der pharmakologischen Präkonditionierung untersuchen zu können, wurde für die Versuche ein homogenes Untersuchungskollektiv (ausschließlich männliche Wistar-Ratten, Körpergewicht zwischen 250 – 350 g, ca. drei Monate alt) gewählt, sodass die Einflussvariablen ,Alter' sowie ,Geschlecht' ausgeschlossen werden konnten. Zudem wurden nur gesunde Versuchstiere ausgewählt, um Störgrößen wie Vorerkrankungen sowie Medikamente auf die Ergebnisse zu minimieren.

In Bezug auf eine bessere Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den klinischen Alltag könnten nachfolgende Studien durch den Einbezug verschiedener Variablen (z.B. weibliches Geschlecht, höheres Alter, bestehende Vorerkrankungen) dazu beitragen, Patientenkollektive zu definieren, die nachhaltig von einer pharmakologischen Präkonditionierung mit Dexmedetomidin profitieren und jene ausschließen, bei denen die Applikation von Dexmedetomidin keinen kardioprotektiven oder gar einen schädlichen Effekt aufweist.

4.1.4 Genutzte Substanzen

Dexmedetomidin

Wie in Abschnitt 1.3 ausführlich dargelegt, handelt es sich bei Dexmedetomidin um einen hochselektiven Alpha-2-Agonisten, der seit 1999 in der Anästhesie und Intensivmedizin vielfältig eingesetzt wird [91, 92]. Seitdem konnten in mehreren Studien die Vorteile einer Anwendung von Dexmedetomidin im Vergleich zu anderen Anästhetika aufgezeigt werden. Insbesondere die unter Dexmedetomidin gegebene respiratorische Stabilität aufgrund einer kaum vorhandenen Hypoventilation [106, 107, 163] ist ein großer Benefit und macht die Substanz heutzutage zu einem sicheren Medikament bei der Anwendung auf Intensivstationen, in der Neurochirurgie, der Pädiatrie, der Herzchirurgie sowie der Bariatrischen Chirurgie und im Rahmen der Fiberoptischen Wachintubation [164]. Bereits 2009 verglichen Riker et al. die Anwendung von Dexmedetomidin mit der in der Intensivmedizin weit verbreiteten Anwendung des Benzodiazepins Midazolam bei 375 Patienten und stellten hierbei fest, dass sich das Sedierungslevel nicht wesentlich unterschied, mit Dexmedetomidin Delir erlitten und es seltener zum Auftreten von behandlungswürdigen Tachykardien kam [165]. Die erheblichen Vorteile haben seit Erstbeschreibung zu einer starken Verbreitung von Dexmedetomidin im klinischen Alltag geführt und machen es damit zu einem vielversprechenden Ansatzpunkt von Forschungsarbeiten, wie es auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgt ist. Die aussichtsreichen, neu erschlossenen Anwendungsmöglichkeiten von Dexmedetomidin zeigen sich beispielsweise in der 2022 durch die FDA erfolgten Genehmigung der sublingualen Anwendung von Dexmedetomidin bei akuter Agitation im Rahmen von bipolaren Störungen sowie der Schizophrenie bei Erwachsenen [166].

Neben der Etablierung neuer Anwendungsmöglichkeiten ist jedoch kritisch zu diskutieren, dass im Juni 2022 durch die EMA und das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) in einem Rote-Hand-Brief vor dem Risiko einer erhöhten Mortalität bei Intensivpatienten ≤ 65 Jahren bei der Anwendung von Dexmedetomidin gewarnt wurde [167]. Dem vorangegangen waren Ergebnisse der SPICE III – Studie. einer randomisierten klinischen Studie. in der die Wirkung einer Sedierung mit Dexmedetomidin auf die Gesamtmortalität mit der Wirkung einer Standardbehandlung (Propofol + Midazolam) bei 3904 beatmeten, kritisch kranken, erwachsenen Patienten auf Intensivstationen verglichen wurde. Die Anwendung von Dexmedetomidin war in der Altersgruppe ≤ 65 Jahren mit einem höheren 90-Tage-Mortalitätsrisiko assoziiert (22,4 % vs. 18,1 % bei der Standardtherapie), wobei die zugrundeliegenden Mechanismen weiter unbekannt sind. Es wurde darüber hinaus festgestellt, dass die altersbedingte Ungleichheit der Mortalitätsrate bei Patienten, die aus anderen Gründen als zur postoperativen Versorgung aufgenommen wurden, am ausgeprägtesten war.

Die Erkenntnisse aus der SPICE III - Studie unterstreichen die Wichtigkeit der kritischen Indikationsprüfung von Anwendungsgebieten sowie die Notwendigkeit der Definierung von profitierenden Patientenkollektiven. In der vorliegenden Arbeit wurden lediglich junge, männliche Wistar-Ratten verwendet, um den kardioprotektiven Effekt von Dexmedetomidin zu untersuchen. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der SPICE III - Studie wäre es relevant, den kardioprotektiven Effekt auf ältere Rattenherzen überprüfen, da klinisch in Zukunft eine zu geringere Anwendungshäufigkeit von Dexmedetomidin bei Patienten < 65 Jahre denkbar ist.

Paxilline

Das verwendete Mykotoxin Paxilline findet ausschließlich Anwendung in der Forschung als spezifischer BKCa-Kanalblocker [128, 129, 142, 168] und hat selbst keinerlei Eingang in die klinische Praxis gefunden. In den Versuchen zur Detektion des Signaltransduktionsweges der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion war die Applikation von 1 µM Paxilline über 10 Minuten, 5 Minuten vor Zugabe von konsekutiv während Dexmedetomidin und einer simultanen 5-minütigen Dexmedetomidin-Applikation, ausreichend, um die durch Dexmedetomidin hervorgerufene Reduktion der Infarktgröße vollständig aufzuheben. Die alleinige Applikation von Paxilline hatte dabei keinerlei Effekt auf die Hämodynamik oder kardiale Funktion, was sich beispielsweise an einer annährend konstanten Herzfrequenz zeigte. Zudem stieg einerseits der LVEDP, andererseits sank der Koronarfluss in einem annährend gleichen Maße wie in den anderen Versuchsgruppen, sodass eine eigene Wirkung auf bzw. Interaktion mit Dexmedetomidin ausgeschlossen werden konnte. Die gewählte Konzentration von 1 µM orientierte sich an durchgeführten Studien zum Forschungsschwerpunkt ,Kardioprotektion' am isolierten Rattenherzen [169, 170]. Die gewählte Applikationsdauer entsprach dem in der Literatur vertretenen Kenntnisstand, dass die 5-minütige Gabe von Paxilline bei einer Konzentration von 1 µM von einem signifikanten Effekt besitzt [171]. Um ein Auswaschen und damit eine Wirkabschwächung von Paxilline zu vermeiden, wurde die Applikation über die Dauer der Dexmedetomidin-Applikation simultan fortgeführt.

Kritisch zu betrachten ist, dass Paxilline als unselektiver Hemmer der gesamten Subpopulation der BKCa-Kanäle fungiert. Da **BKCa-Kanäle** entgegen der sich diese ursprünglichen Annahme, dass lediglich an der inneren Mitochondrienmembran befinden und dort die Effekte der Präkonditionierung über das Mitochondrium vermitteln, von Lai et al. 2014 auch an der plasmatischen Membran der Zellen des Sinusknotens nachgewiesen wurden [172], kann nicht sicher ausgeschlossen werden, dass die Dexmedetomidin-induzierte Präkonditionierung einzig über mBKCa-Kanäle vermittelt wird. Eine Wirkung extramitochondrialer BKCa-Kanäle wäre denkbar und in weiterführenden Studien zu untersuchen.

<u>Gap27</u>

In der vorliegenden Arbeit wurde die Substanz Gap27 zur Inhibierung von Cx43 eingesetzt. Bei Kombination von Dexmedetomidin mit Gap27 lag die Infarktgröße auf dem Niveau der Kontrollgruppe. Der infarktgrößenreduzierende Effekt von Dexmedetomidin verliert folglich durch Anwesenheit des Connexin-Inhibitors seine Wirkung, was den Stellenwert von Cx43 im Rahmen der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion verdeutlicht. Da sich die Infarktgröße der Gap27+Dex-Gruppe signifikant von jener der Dex-Gruppe unterscheidet, lässt sich schlussfolgern, dass Cx43 an der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion beteiligt ist.

Zu diskutieren wäre, dass Hawat et al. 2012 in *in-vivo*-Versuchen an Sprague Dawley Rattenherzen zeigten, dass eine intravenöse Applikation von Gap27 (1 μ g/kg) vor oder während der Ischämiephase die Infarktgröße des Myokards signifikant um bis zu 61 % zu senken vermochte [173]. In der vorliegenden Studie hatte die alleinige Applikation von Gap27 (6 μ M) keine kardioprotektiven Effekte; die Infarktgröße der Gap27-Gruppe unterschied sich nicht signifikant von der der Kontrollgruppe. Um eine möglicherweise bestehende konzentrationsabhängige kardioprotektive Wirkung von Gap27 zu prüfen, wären weitere Versuchsreihen notwendig.

<u>NS1619</u>

Die von uns verwendete Substanz NS1619 ist ein selektiver mBKCa-Kanal-Aktivator, dessen Spezifizität bereits 2002 von Xu et al. genutzt wurde, um eine Beteiligung des mBKCa-Kanals an der Kardioprotektion nachzuweisen [80].

Weitere Studien unterstreichen die Bedeutung von mBKCa-Kanälen bei der Kardioprotektion, indem durch deren Aktivierung mittels NS1619 ein kardioprotektiver Effekt hervorgerufen wird [174], welcher sich auch in unserer Arbeit durch eine Infarktgrößenreduzierung von 47,4 % \pm 7,1 % (Con) auf 23,1 % \pm 5,0 % (NS1619 10 μ M) zeigte. Interessant ist die Beschreibung in der Literatur, dass die durch NS1619 vermittelte Kardioprotektion scheinbar altersunabhängig ist und NS1619 sowohl in jungen als auch in alten Rattenherzen die Infarktgröße reduziert [175], wohingegen andere Substanzen einen altersabhängigen Wirkverlust aufweisen [176].

Diese Eigenschaft macht NS1619 zu einer probaten Substanz in der Erforschung von Signaltransduktionswegen der Kardioprotektion.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Die Dexmedetomidin-induzierte Präkonditionierung

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Applikation von 3 nM Dexmedetomidin für 5 Minuten vor der Einleitung einer Indexischämie die Infarktgröße isoliert perfundierter Rattenherzen im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe von 47,3 $\% \pm 5,1 \%$ auf 23 $\% \pm 4,4$ % und damit annährend um 50 % signifikant zu reduzieren vermag. Der kardioprotektive Effekt von Dexmedetomidin wurde durch die gleichzeitige Applikation von 1 µM des potenten BKCa-Kanal-Blockers Paxilline [127, 128] aufgehoben (49,2 $\% \pm 5,4$ %), wobei die alleinige Gabe von Paxilline keinen Effekt auf die Infarktgröße sowie die hämodynamischen Parameter hatte. Da BKCa-Kanäle in Kardiomyozyten vorwiegend an der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert sind [80], ist davon auszugehen, dass mBKCa-Kanäle in der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion eine ausschlaggebende Rolle einnehmen. mBKCa-Kanäle sind bereits in zahlreichen Studien als nachgeschaltete Mediatoren der Signalkaskade kardioprotektiver Interventionen beschrieben worden [80, 129, 142, 175, 177, 178]. Sie spielen als Teil der Superfamilie der spannungsabhängigen Kaliumkanäle eine essenzielle Rolle in der Aufrechterhaltung der Calciumhomöostase, indem sie von der transmembranären Spannung und der intrazellulären Calciumkonzentration beeinflusst werden. Das Öffnen von mBKCa-Kanälen führt folglich zu einem kardioprotektiven Effekt, indem dieser Vorgang vermutlich das unkontrollierte Öffnen der mPTP verhindert [179]. Diese Vermutung wird von dem Nachweis gestützt, dass die Applikation des bekannten mBKCa-Kanalaktivators NS1619 in der gegenständlichen Arbeit zu einer vergleichbaren Infarktgrößenreduktion wie Dexmedetomidin geführt hat $(26,8\% \pm 4,8\%)$ und darüber hinaus bekannt ist, dass der kardioprotektive Effekt von NS1619 nicht in BKCa-Kanal-knock-out-Mäusen vorhanden ist [180].

Um den Signaltransduktionsweg *downstream* von Dexmedetomidin weiter aufzuschlüsseln, wurde der Connexin 43-Inhibitor Gap27 in einer Dosierung von 6 μ M zeitgleich mit Dexmedetomidin verabreicht, wodurch dessen kardioprotektiver Effekt aufgehoben wurde (Infarktgröße: 50,5 % ± 7,0 %) und nachweisbar war, dass die Funktion von Cx43 an der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion beteiligt ist. Srisakuldee et al. zeigten 2014 korrespondierend hierzu, dass der kardioprotektive Effekt des auf die Mitochondrien wirkenden Fibroblasten-Wachstumsfaktors 2 (engl.: *fibroblast growth factor-2*, FGF-2) in Ratten bei gleichzeitiger Applikation von Gap27 ebenfalls aufgehoben wird [181]. Connexin 43, welches das dominierende Transmembranprotein in Kardiomyozyten darstellt [120, 121] und welches für die interzelluläre Kommunikation sowie normale Herzfunktion essenziell ist [122, 182], fungiert folglich als wichtiger Mediator in der Vermittlung kardioprotektiver Effekte. Veränderungen der Cx43-Verteilung bzw. Expression sind in der Literatur darüber hinaus bei einer Vielzahl von kardialen Erkrankungen wie der hypertrophen Kardiomyopathie, der Herzinsuffizienz oder der Ischämie beschrieben worden, was die Bedeutung von Cx43 in der Aufrechterhaltung einer physiologischen Herzfunktion verdeutlicht [183]. Die molekularen Mechanismen, über die Cx34 zur Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion beiträgt, sind nach wie vor nicht eindeutig entschlüsselt. Eine mitochondriale Generierung von ROS, eine Modulation von mitochondrialen K⁺-ATP-Kanälen sowie ein Einfluss auf die H⁺- sowie K⁺-Homöostase wären denkbar [184] und sind Gegenstand weiterer Forschungen.

Die vorliegende Arbeit erbrachte darüber hinaus erstmals den Nachweis, dass in der Signalkaskade der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion Cx43 upstream der mBKCa-Kanäle gelegen ist, indem die Gabe des Cx43-Inhibitors Gap27 keinerlei Einfluss auf den kardioprotektiven Effekt der zeitgleichen Applikation des BKCa-Kanal-Aktivators NS1619 hatte. Die Infarktgröße der entsprechenden Versuchsgruppe war mit 23,1 % \pm 5,0 % im Vergleich zur Kontrollgruppe (p < 0,0001 vs. Con) um ca. 50 % signifikant reduziert und damit vergleichbar kardioprotektiv wie die alleinige Applikation von NS1619 (26,8 % ± 4,8 %). Der hieraus ableitbare, potenzielle Signaltransduktionsweg ist in Abbildung 19 (Abb. 19) dargestellt. Den Erkenntnissen dieser Arbeit zufolge führt Dexmedetomidin über Cx43 und die Aktivierung von mBKCa-Kanälen zur Kardioprotektion, wobei eine Vermittlung über den eNOS/NO-Signalweg möglich wäre. Wie in Abschnitt 1.3.3. dargelegt, zeigten Riquelme et al. bereits 2016 den Dexmedetomidin-induzierten, eNOS-abhängigen Anstieg von NO im isoliert-perfundierten Rattenherzen [89]. Da der eNOS/NO-Signalweg in seinem Verlauf die PKG aktiviert und es sich bei PKG um einen Regulator von gap junctions, die in den Mitochondrien überwiegend aus Cx43 zusammengesetzt sind, sowie von mBKCa-Kanälen handelt [117, 118, 119], liefert diese Arbeit eine schlüssige, daraus ableitbare Signalkaskade der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion. Ebenfalls denkbar, in Abbildung 19 (Abb. 19) jedoch nicht dargestellt, wären andere Wege einer Dexmedetomidin-induzierte Kardioprotektion, wie beispielsweise die Aktivierung des PI3K/AKT-Signalweges durch Dexmedetomidin infolge einer kardialen Alpha-2Adrenozeptor-Stimulation [114]. Die Aufschlüsselung der einzelnen, sich ggf. überlappenden Signaltransduktionswege verbleibt Gegenstand weiterführender Forschungsarbeiten.



Abb. 19: Möglicher Signaltransduktionsweg der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion.

Das linke Flussdiagramm der Abbildung zeigt den in dieser Arbeit untersuchten Signaltransduktionsweg der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion, der zunächst über Cx43 und dann über die Öffnung von mBKCa-Kanälen verläuft. Gap27 fungiert als Inhibitor von Cx43, Paxilline als Inhibitor von mBKCa-Kanälen. NS1619 ist Aktivator der mBKCa-Kanäle. Im rechten Flussdiagramm ist der mögliche Signaltransduktionsweg über den eNOS-abhängigen Anstieg von NO, ausgelöst durch die Applikation von Dexmedetomidin, dargestellt. Durch den Anstieg von NO wird die lösliche Guanylatzyklase stimuliert, welche im Zytosol zyklisches Guanosinmonophosphat bildet. Dieses aktiviert wiederum die Proteinkinase G, die Cx43 phosphoryliert und darüber reguliert. Es kommt zur mBKCa-Kanalöffnung und hierüber zur Kardioprotektion.

Dex = Dexmedetomidin; Cx43 = Connexin 43; mBKCa = mitochondrialer calciumabhängiger Kaliumkanal; eNOS = endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase; NO = Stickstoffmonoxid; sGC = lösliche Guanylatzyklase; cGMP = zyklisches Guanosinmonophosphat; PKG= Proteinkinase G. Eigene Abbildung, modifiziert nach [139].

4.2.2 Dosis und Dauer der Dexmedetomidin-Applikation

Die vorliegende Arbeit konnte aufzeigen, dass Dexmedetomidin in höheren Dosierungen (3 nM, 10 nM, 30 nM) die Infarktgröße in einem größeren Ausmaß reduziert als in angewandten niedrigeren Dosierungen (0,1 nM, 0,3 nM, 1 nM). Unsere Ergebnisse decken sich mit den Beobachtungen von Okada et al., welche die Infarktgröße an isolierten Rattenherzen nach 30-minütiger Ischämie mit anschließend 120-minütiger Reperfusion prüften. In ihrer Studie zeigte sich, dass die Präkonditionierung mit 1 nM Dexmedetomidin die Infarktgröße um ca. 15 % senkte, während die Applikation von 10 nM Dexmedetomidin die Infarktgröße um ca. 24 % reduzierte [113]. In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch erstmals der Effekt von sechs verschiedenen Dexmedetomidin-Konzentrationen auf das Myokard isoliert perfundierter Rattenherzen untersucht. Hierbei wurde die Konzentration von Dexmedetomidin nicht im Perfusat gemessen, sondern eine Gabe von 3 nM über 5 Minuten kalkuliert, woraus sich eine finale Konzentration von ~ 8 ng/ml Dexmedetomidin ergab. Bei diesem Wert handelt es sich um eine in verschiedenen Studien untersuchte Konzentration, die bei Menschen eine tiefe Sedierung mit nur minimaler Beeinträchtigung der Respiration bewirkt [185, 186].

Die vorliegende Arbeit konnte darüber hinaus zeigen, dass die Applikation von Dexmedetomidin über 5 Minuten genauso effektiv die Infarktgröße isoliert perfundierter Rattenherzen senkt, wie es die bis zu diesem Zeitpunkt in der Forschung etablierte Applikation von Dexmedetomidin über 25 Minuten vermag [89, 113, 114]. In den Ergebnissen des Versuchsprotokolls zur Zeitfindungsstudie erbrachten alle drei Applikationszeiträume von Dexmedetomidin (5 Minuten, 10 Minuten und 25 Minuten) eine signifikante Reduktion der Infarktgrößen auf jeweils ca. 24 % im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe mit einer Infarktgröße von 49,3 % \pm 5 % (p < 0,0001). Insbesondere im Hinblick auf die Entwicklung zukünftiger Studien sowie den Transfer vom Tiermodell auf den Menschen ist diese Erkenntnis von Vorteil, da durch die Wahl einer geringeren Dosierung auch die Gefahr dosisabhängiger Nebenwirkungen reduziert werden kann.
4.2.3 Effekte von Dexmedetomidin auf die kardiale Funktion

Obwohl in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe eine signifikante Infarktgrößenreduktion durch die Applikation von Dexmedetomidin nachgewiesen werden konnte, zeigten sich in den drei Studienprotokollen im Hinblick auf die hämodynamischen Variablen keine funktionellen Unterschiede. Zwar fiel in der Reperfusionsphase verglichen mit der baseline der CF und das LVEDP stieg, jedoch geschah dies in allen Gruppen in gleicher Weise. Im Vergleich der Dexmedetomidin-Gruppe mit den anderen Versuchsgruppen zeigten sich hingegen keinerlei Signifikanzen bezüglich der HR, des LVEDP sowie des CF. Die präischämische Applikation von Dexmedetomidin beeinflusst die kardiale Leistungsfähigkeit somit weder positiv noch negativ. Diese Ergebnisse decken sich mit Ergebnissen anderer Studien [133, 187] und könnten durch das Phänomen des myokardialen Stunnings begründet sein, wobei es trotz Widerherstellung der Perfusion und damit einem normalen, koronaren Blutfluss zu einer Persistenz der postischämischen kontraktilen Dysfunktion kommt [15]. In diesem Zustand ist die Erholung der kontraktilen Funktion des Myokards zwar möglich, benötigt jedoch Zeit und erfolgt nicht unmittelbar. Eine länger gewählte Beobachtungsdauer nach Einsetzen der Reperfusion könnte ggf. den vermuteten Effekt des Stunnings als Auslöser für die anhaltende kontraktile Dysfunktion verdeutlichen und wäre in weiteren Versuchsreihen zu untersuchen.

Die Ergebnisse unserer Studien stehen im Kontrast zu den Erkenntnissen von Okada et al. [113], welche in ihren Versuchen nachwiesen, dass die Applikation von Dexmedetomidin vor einer globalen Ischämie und einer anschließenden Reperfusion nicht nur signifikant die Infarktgröße, sondern auch signifikant den CF im Vergleich zu den anderen Studiengruppen verringert. Diesbezüglich wurde angenommen, dass die Verringerung des CF durch koronare Vasokonstriktion, bedingt durch die Dexmedetomidin-induzierte Stimulation von Alpha-2-Adrenozeptoren, hervorgerufen werde, was die vorliegende Studie nicht bestätigen konnte. Unser Nachweis, dass der kardioprotektive Effekt von Dexmedetomidin sowohl durch die Hemmung von Cx43 als auch die Hemmung von mBKCa-Kanälen aufgehoben wird, legt nahe, dass der kardioprotektive Effekt von Dexmedetomidin vorwiegend über eine molekulare Reaktion innerhalb der Kardiomyozyten statt über eine neurohumorale Regulation vermittelt wird.

4.2.4 Limitationen und Ausblick

Die Durchführung der Versuche erfolgte an 130 männlichen Wistar-Ratten, sodass eine Übertragung auf den Menschen nur mit Einschränkungen möglich ist, da beim Menschen andere Pathomechanismen vorherrschen. Darüber hinaus wurden, wie in Abschnitt 4.1.3 verdeutlicht, nur gesunde Ratten verwendet, sodass die vorliegende Arbeit keinerlei Aufschluss über eine mögliche pharmakologische Präkonditionierung mit Dexmedetomidin bei Vorhandensein von Komorbiditäten gibt. Als ein klinisch relevanter Risikofaktor der Entstehung einer ischämischen Herzerkrankung gilt beispielsweise insbesondere Diabetes mellitus, sodass der präkonditionierende Effekt von Dexmedetomidin auf ein entsprechendes Patientenkollektiv zu untersuchen wäre. Besonders die Tatsache, dass mehrere Studien den Nachweis erbrachten, dass die protektive Wirkung einer ischämischen Präkonditionierung in hyperglykämischen Ratten abgeschwächt ist [188 - 190], legt die Bedeutung einer Untersuchung des Effekts der pharmakologischen Präkonditionierung mit Dexmedetomidin auf ein diabetisches Untersuchungskollektiv nahe. Seit Ergebnisse und Teile der vorliegenden Arbeit 2017 veröffentlicht wurden [139], ist der Effekt von Dexmedetomidin unter Simulation einer diabetischen Stoffwechsellage mehrfach untersucht worden. Dabei konnten die Studien zeigen, dass eine Präkonditionierung des Herzens mit Dexmedetomidin in der Lage ist, die Infarktgröße sowohl in Diabetes Typ I-Ratten als auch in Diabetes Typ II-Ratten signifikant zu reduzieren [191 – 195], wobei der RISK-Signalweg über P13K und AKT sowie die Phosphorylierung von GSK3β eine wesentliche Rolle spielen. Die Aktivität von GSK3ß ist entscheidend für die Schwelle zur Öffnung der mPTP in Kardiomyozyten [196]. Durch die mittels Dexmedetomidin induzierte Phosphorylierung von GSK3ß wird dieses inaktiv und es kommt zu einer verzögerten Öffnung der mPTP und damit zu einer Reduktion des Reperfusionsschadens [81]. Die Präkonditionierung mit anderen, in der Intensivmedizin verwendeten Medikamenten wie beispielsweise dem Opioid Morphin vermag zwar die Infarktgröße in gesunden Rattenherzen zu senken, hat jedoch keinen protektiven Effekt auf die Herzen diabetisch erkrankter Tiere [197], sodass sich im Hinblick auf die weitere Erforschung von pharmakologischen Strategien zur Senkung des Ischämie-Reperfusionsschadens bei einem vorerkrankten Patientenkollektiv Dexmedetomidin als vielversprechendes Medikament erweist.

Neben dem Einfluss möglicher Komorbiditäten auf den in dieser Studie nachgewiesenen kardioprotektiven Effekt von Dexmedetomidin ist auch die Übertragung der Ergebnisse in Bezug auf das Alter zu diskutieren. Die Versuche dieser Arbeit erfolgten an ca. zwei bis drei Monate alten und damit in Relation einer möglichen Lebenserwartung von 24 – 36 Monaten als Jungtiere einzustufenden Wistar-Ratten. Es ist bekannt, dass präkonditionierende Effekte mit dem Lebensalter variieren [198], sodass zu prüfen bliebe, ob diese Schwankungen auch bei der Dexmedetomidininduzierten Kardioprotektion eine Rolle spielen. Die Überprüfung der Effekte auf ein höheres Lebensalter ist insofern von tragender Bedeutung, da, wie in Abschnitt 4.1.4 aufgezeigt, seit 2022 ein Rote-Hand-Brief zur Nutzung von Dexmedetomidin in der Intensivmedizinischen Behandlung von Patienten < 65 Jahre vorliegt und Dexmedetomidin folglich zukünftig klinisch vorwiegend ab einem höheren Lebensalter

Außer etwaigen Komorbiditäten sowie dem Faktor ,Alter' lässt die vorliegende Arbeit auch eine Überprüfung eines möglichen Geschlechterunterschieds der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion außen vor, indem der in der Forschung verbreitete Ansatz, vorwiegend männliche Versuchstiere zu nutzen [199], unterstützt entscheidender Vorteil der Begrenzung wurde. Ein auf ein männliches Versuchskollektiv liegt in den hier fehlenden zyklusabhängigen hormonellen Schwankungen begründet, welche bei weiblichen Versuchstieren die Ergebnisse beeinflussen können. Insbesondere, da Cao et al. bereits 2008 beispielhaft zeigten, dass die Met(5)-Enkephalin-induzierte Kardioprotektion weiblicher sowie männlicher Versuchstiere über unterschiedliche Signaltransduktionswege verläuft – über PI3K/AKT1/2 bei männlichen und über PI3K/AKT3 bei weiblichen Tieren [200] - sind in weiterführenden Studien sowohl die Signalkaskaden als auch Effekte einer myokardialen Präkonditionierung mit Dexmedetomidin auf weibliche Versuchsgruppen zu untersuchen.

Beziehen sich die Faktoren ,Komorbiditäten', ,Alter' und ,Geschlecht' auf Limitationen vorliegenden der Arbeit in Hinblick auf das gewählte Untersuchungskollektiv, gibt darüber hinaus auch diskussionswürdige es Einschränkungen bezüglich der erfolgten Untersuchungsmethode des Signaltransduktionsweges der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion. Wie in Abschnitt 4.1.4. erörtert, ist Paxilline ein potenter, gut etablierter Blocker von verschiedenen BKCa-Kanälen [128, 129, 142], sodass die Verwendung als

pharmakologischer Indikator für die Funktion von mBKCa-Kanälen mit Vorsicht gesehen werden sollte. Durch den Nachweis des Vorhandenseins von BKCa-Kanälen an der plasmatischen Membran der Zellen des Sinusknotens [172] kann ein Vorhandensein von BKCa-Kanälen außerhalb der Mitochondrien, und damit ein Effekt von Dexmedetomidin auf diese im Rahmen der Präkonditionierung, nicht ausgeschlossen werden. Darüber hinaus ist anzumerken, dass die vorliegende Arbeit trotz Auswahl von in der Forschung etablierten Substanzen sowie beschriebenen Dosierungen zwecks Aufschlüsselung des Signalweges der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion keine Überprüfung etwaiger, sich mit dem aufgezeigten Signalweg über Cx43 sowie mBKCa-Kanäle, überlappender Mechanismen vornimmt, was in weiterführenden Studien zu klären wäre.

5. Schlussfolgerung

Die zeitnahe Widerherstellung des Blutflusses bei Patienten mit einer akuten myokardialen Ischämie stellt nach wie vor den Goldstandard in der Versorgung des Myokardinfarkts dar. Der durch die Reperfusion mögliche Schaden am Myokard bleibt jedoch ein Problem, dem die medizinische Forschung seit einigen Jahren durch die Aufschlüsselung kardioprotektiver Mechanismen zu begegnen versucht. Ein vielversprechender Ansatz bietet der Einsatz von Medikamenten, die ein günstiges Nebenwirkungsprofil aufweisen und den Ischämie-Reperfusionsschaden minimieren.

Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass Dexmedetomidin den Ischämie-Reperfusionsschaden an isolierten Rattenherzen um ca. 50 % senkt und dass der Signalweg der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion die Funktion von Cx43 sowie die Aktivierung von mBKCa-Kanälen umfasst. Da es sich bei Dexmedetomidin um ein in der Anästhesie und Intensivmedizin weit verbreitetes, pharmakokinetisch sowie pharmakodynamisch gut erforschtes Medikament handelt, bietet sich hier ein aussichtsreicher Ansatzpunkt für die Entwicklung von kardioprotektiven Strategien.

Dabei ist zu beachten, dass die erfolgte Studie an isolierten Rattenherzen keinerlei Aussage über mögliche Effekte von Dexmedetomidin-induzierten Nebenwirkungen wie Bradykardie oder Sinusarrest auf den kardioprotektiven Effekt in der klinischen Praxis treffen kann. Dennoch verdeutlicht sie, dass mit Dexmedetomidin ein Medikament gefunden ist, welches eine vielversprechende Basis für die Erforschung kardioprotektiver Effekte darstellt. Insbesondere die Kenntnis der exakten Signaltransduktionswege der Kardioprotektion ist entscheidend, um in Zukunft Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt bestmöglich prophylaktisch sowie behandeln können Myokard therapeutisch zu und das vor Ischämie-Reperfusionsschäden schützen. Die weitere Aufschlüsselung zu des Signaltransduktionsweges der Dexmedetomidin-induzierten Kardioprotektion ist eine aussichtsreiche Möglichkeit, spezifische klinische Interventionen zum Schutz des Myokards zu entwickeln und so auf lange Sicht die Mortalität des akuten Myokardinfarkts zu senken.

6. Literatur- und Quellenverzeichnis

- 1. WHO: The top 10 causes of death [Internet], aufgerufen am 15.03.2023, verfügbar unter: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death
- 2. GBE: Sterbefälle, Sterbeziffern (je 100.000 Einwohner, altersstandardisiert, ab 1998) [Internet], aufgerufen am 15.03.2023, verfügbar unter: https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg_olap_tables.prc_set_hierlevel? p_uid=gastd&p_aid=20889871&p_sprache=D&p_help=2&p_indnr=6&p_ansnr=18435 683&p_version=6&p_dim=D.946&p_dw=14358&p_direction=drill
- 3. Sabaté S., Mases A., Guilera N., Canet J., Castillo J., Orrego C. et al.: Incidence and predictors of major perioperative adverse cardiac and cerebrovascular events in non-cardiac surgery, in: *Br. J. Anaesth. 107,6 (2011)*, S. 879–890.
- 4. Devereaux P. J., Xavier D., Pogue J., Guyatt G., Sigamani A., Garutti I. et al.: Characteristics and short-term prognosis of perioperative myocardial infarction in patients undergoing noncardiac surgery: a cohort study, in: *Ann. Intern. Med. 154,8* (2011), S. 523–528.
- 5. GBE: Krankheitskosten in Mio. € für Deutschland [Internet], aufgerufen am 15.03.2023, verfügbar unter: https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg_isgbe5.prc_menu_olap? p_uid=gast&p_aid=79220281&p_sprache=D&p_help=2&p_indnr=63&p_indsp=&p_it yp=H&p_fid=
- 6. Herold G.: Koronare Herzerkrankung (KHK), in: Ders. (Hrsg.): *Innere Medizin 2020 Eine vorlesungsorientierte Darstellung*, Berlin/Boston 2020, S. 237–248.
- 7. Dietz R., Rauch G.: Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie-, Herz- und Kreislaufforschung (DGK), in: *Z. Kardiol. 92 (2003)*, S. 501–521.
- 8. Dalen J. E., Alpert J. S., Goldberg R. J., Weinstein R. S.: The epidemic of the 20(th) century: coronary heart disease, in: *Am. J. Med.* 127,9 (2014), S. 807–812.
- 9. Dörge H., Schulz R., Heusch G.: Pathophysiology of hibernation, stunning, and ischemic preconditioning, in: *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 46 (1998), S. 255–263.
- 10. Dörge H., Schulz R., Heusch G.: Pathophysiologie von Hibernation, Stunning und Ischemic Preconditioning, in: *Der Internist 39 (1998)*, S. 676–683.
- 11. Rahimtoola S. H.: A perspective on the three large multicenter randomized clinical trials of coronary bypass surgery for chronic stable angina, in: *Circulation 72, Suppl. 5 (1985)*, S. 123–135.
- 12. Heusch G., Schulz R.: Hibernating myocardium: new answers, still more questions!, in: *Circ. Res. 91,10 (2002)*, S. 863–865.
- 13. Rahimtoola S. H.: The hibernating myocardium, in: *Am. Heart. J. 117,1 (1989)*, S. 211–221.
- 14. Bolli R.: Mechanism of myocardial "stunning", in: Circulation 82,3 (1990), S. 723–738.
- 15. Braunwald E., Kloner R. A.: The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction, in: *Circulation 66,6 (1982)*, S. 1146–1149.

- 16. Piérard L. A., Picano E.: Myocardial viability, in: Picano E. (Hrsg.): *Stress Echocardiography*, Heidelberg/New York/Dordrecht/London ⁶2015, S. 327–350.
- Boer F. M., Rosenkranz S.: Koronare Herzkrankheit und akutes Koronarsyndrom, in: Erdmann E. (Hrsg.): *Klinische Kardiologie. Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße*, Heidelberg ⁸2011, S. 13–72.
- St John Sutton M., Pfeffer M. A., Moye L., Plappert T., Rouleau J. L., Lamas G. et al.: Cardiovascular death and left ventricular remodeling two years after myocardial infarction: baseline predictors and impact of long-term use of captopril: information from the Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) trial, in: *Circulation 96,10* (1997), S. 3294–3299.
- 19. White H. D., Chew D. P.: Acute myocardial infarction, in: *Lancet 372,9638 (2008)*, S. 570–584.
- 20. Ahmad M., Mehta P., Reddivari A. K. R., Mungee S: Percutaneous Coronary Intervention, in: *StatPearls 2022* [Internet], aufgerufen am 15.03.2023, verfügbar unter: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556123/
- 21. Danchin N., Popovic B., Puymirat E., Goldstein P., Belle L., Cayla G. et al.: Five-year outcomes following timely primary percutaneous intervention, late primary percutaneous intervention, or a pharmaco-invasive strategy in ST-segment elevation myocardial infarction: the FAST-MI programme, in: *Eur. Heart J.* 41,7 (2020), S. 858–866.
- 22. Sinnaeve P., Van de Werf F.: Primary PCI and the indistinct 120 min time limit, in: *Eur. Heart J.* 41,7 (2020), S. 867–869.
- 23. Deutsche Herzstiftung (Hrsg.): 33. Deutscher Herzbericht. Sektorenübergreifende Versorgungsanalyse zur Kardiologie, Herzchirurgie und Kinderherzmedizin in Deutschland, Frankfurt a. M. 2021.
- 24. Kudaibergenow A., Wienbergen H., Fach A., Schmucker J., Garstka D., Hamann J. et al.: 5-Jahres-Outcome nach STEMI welche Patienten haben den besten Langzeit-Verlauf?, in: *Clin. Res. Cardiol. 107, Suppl. 1 (2018)*, o. S.
- 25. Zeymer U.: Herzinfarkt: Was kommt in den Jahren danach?, in: *Deutsches Ärzteblatt 40* - Suppl. Perspektiven der Kardiologie 2 (2019), S. 22–26.
- 26. Carden D. L., Granger D. N.: Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury, in: J. Pathol. 190,3 (2000), S. 255–266.
- 27. Grace P. A.: Ischemia-reperfusion Injury, in: Br. J. Surg. 81,5 (1994), S. 631-641.
- 28. Eltzschig H. K., Collard C.D.: Vascular ischaemia and reperfusion injury, in: *Br. Med. Bull.* 70,1 (2004), S. 71–86.
- 29. Jennings R. B., Reimer K. A.: The cell biology of acute myocardial ischemia, in: *Annu. Rev. Med.* 42 (1991), S. 225–246.
- 30. Kalogeris T., Baines C. P., Krenz M., Korthuis R. J.: Cell biology of ischemia/reperfusion injury, in: *Int. Rev. Cell. Mol. Biol. 298 (2012)*, S. 229–317.
- 31. Yellon D. M., Hausenloy D. J.: Myocardial reperfusion injury, in: N. Engl. J. Med. 357,11 (2007), S. 1121–1135.

- 32. Piper H. M., Kasseckert S. A., Schlüter K. D., Abdallah Y.: Pathophysiology of myocardial reperfusion injury, in: *Dtsch. Med. Wochenschr.* 133,12 (2008), S. 586–590.
- 33. Griffiths E. J., Halestrap A. P.: Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion, in: *Biochem. J.* 307,1 (1995), S. 93–98.
- 34. Sanada S., Komuro I., Kitakaze M.: Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures, in: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 301, 5 (2011)*, S. H1723–H1741.
- 35. Halestrap A. P.: What is the mitochondrial permeability transition pore?, in: J. Mol. Cell. Cardiol. 46,6 (2009), S. 821–831.
- 36. Javadov S., Karmazyn M.: Mitochondrial permeability transition pore opening as an endpoint to initiate cell death and as a putative target for cardioprotection, in: *Cell Physiol. Biochem. 20,1–4 (2007)*, S. 1–22.
- Santucci R., Sinibaldi F., Cozza P., Polticelli F., Fiorucci L.: Cytochrome c: an extreme multifunctional protein with a key role in cell fate, in: *Int. J. Biol. Macromol.* 136 (2019), S. 1237–1246.
- 38. Köppel H.: Aktuelles: Ischämische Präkonditionierung des Herzens, in: J. Kardiol. 18,5–6 (2011), S. 226–227.
- Ishida T., Koji Y., Gute D. C., Korthuis R. J.: Mechanisms of ischemic preconditioning, in: Shock 8,2 (1997), S. 86–94.
- 40. Murry C. E., Jennings R. B., Reimer K. A.: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium, in: *Circulation 74,5 (1986)*, S. 1124–1136.
- 41. Schott R. J., Rohmann S., Braun E. R., Schaper W.: Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium, in: *Circ. Res. 66,4 (1990)*, S. 1133–1142.
- 42. Liu Y., Downey J. M.: Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart, in: *Am. J. Physiol. 263,4 (1992)*, S. H1107–H1112.
- Moolman J. A., Genade S., Winterbach R., Harper I. S., Williams K., Lochner A.: Preconditioning with a single short episode of global ischemia in the isolated working rat heart: effect on structure, mechanical function, and energy metabolism for various durations of sustained global ischemia, in: *Cardiovasc. Drugs Ther. 9,1 (1995)*, S. 103–115.
- 44. Peart J. N., Patel H. H., Gross G. J.: Delta-opioid receptor activation mimics ischemic preconditioning in the canine heart, in: *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 42,1 (2003), S. 78–81.
- 45. Gross G. J., Gauthier K. M., Moore J., Campbell W. B., Falck J. R., Nithipatikom K.: Evidence for role of epoxyeicosatrienoic acids in mediating ischemic preconditioning and postconditioning in dog, in: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 297,1 (2009), S. H47–H52.
- 46. Yamakawa K., Zhou W., Ko Y., Benharash P., Takemoto M., Mahajan A.: Improved cardioprotection using a novel stepwise ischemic preconditioning protocol in rabbit heart, in: *J. Surg. Res. 188,2 (2014)*, S. 381–386.
- 47. Jin L-M., Jin S-F., Liu Y-X., Zhou L., Xie H-Y., Sheng Y. et al.: Ischemic preconditioning enhances hepatocyte proliferation in the early phase after ischemia

under hemi-hepatectomy in rats, in: *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int. 11,5 (2012)*, S. 521–526.

- 48. Bonventre J. V.: Kidney ischemic preconditioning, in: *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 11,1 (2002), S. 43–48.
- 49. Tsutsui H., Tanaka R., Yamagata M., Yukimura T., Ohkita M., Matsumura Y.: Protective effect of ischemic preconditioning on ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury through sympathetic nervous system in rats, in: *Eur. J. Pharmacol.* 718,1–3 (2013), S. 206–212.
- 50. Barone F. C., White R. F., Spera P. A., Ellison J., Currie R. W., Wang X. et al.: Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, and interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression, in: *Stroke 29,9 (1998)*, S. 1937–1951.
- 51. Soncul H., Oz E., Kalaycioglu S.: Role of ischemic preconditioning on ischemiareperfusion injury of the lung, in: *Chest 115,6 (1999)*, S. 1672–1677.
- 52. Pajdo R., Brzozowski T., Konturek P. C., Kwiecien S., Konturek S. J., Sliwowski Z. et al.: Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention: involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves, in: *Eur. J. Pharmacol.* 427,3 (2001), S. 263–276.
- 53. Pang C. Y., Yang R. Z., Zhong A., Xu N., Boyd B., Forrest C. R.: Acute ischaemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig, in: *Cardiovasc. Res.* 29,6 (1995), S. 782–788.
- 54. Yellon D. M., Alkhulaifi A. M., Pugsley W. B.: Preconditioning the human myocardium, in: *Lancet 342,8866 (1993)*, S. 276–277.
- 55. Marber M. S., Latchman D. S., Walker J. M., Yellon D. M.: Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction, in: *Circulation 88,3 (1993)*, S. 1264–1472.
- 56. Kuzuya T., Hoshida S., Yamashita N., Fuji H., Oe H., Hori M. et al.: Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia, in: *Circ. Res.* 72,6 (1993), S. 1293–1299.
- 57. Baxter G. F., Marber M. S., Patel V. C., Yellon D. M.: Adenosine receptor involvement in a delayed phase of myocardial protection 24 hours after ischemic preconditioning, in: *Circulation 90,6 (1994)*, S. 2993–3000.
- 58. Yang X., Cohen M. V., Downey J. M.: Mechanism of cardioprotection by early ischemic preconditioning, in: *Cardiovasc. Drugs Ther.* 24,3 (2010), S. 225–234.
- 59. Bolli R.: The late phase of preconditioning, in: Circ. Res. 87,11 (2000), S. 972–983.
- 60. Landoni G., Biondi-Zoccai G. G. L., Zangrillo A., Bignami E., D'Avolio S., Marchetti C. et al.: Desflurane and sevoflurane in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials, in: *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 21,4 (2007), S. 502–511.
- 61. Swyers T., Redford D., Larson D. F.: Volatile anesthetic-induced preconditioning, in: *Perfusion 29,1 (2014)*, S. 10–15.
- 62. Obal D., Dettwiler S., Favoccia C., Scharbatke H., Preckel B., Schlack W.: The influence of mitochondrial KATP-channels in the cardioprotection of preconditioning

and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo, in: *Anesth. Analg. 101,5 (2005)*, S. 1252–1260.

- 63. Piriou V., Chiari P., Lhuillier F., Bastien O., Loufoua J., Raisky O. et al.: Pharmacological preconditioning: comparison of desflurane, sevoflurane, isoflurane and halothane in rabbit myocardium, in: *Br. J. Anaesth.* 89,3 (2002), S. 486–491.
- Redel A., Lange M., Jazbutyte V., Lotz C., Smul T. M., Roewer N. et al.: Activation of mitochondrial large-conductance calcium-activated K⁺ channels via protein kinase A mediates desflurane-induced preconditioning, in: *Anesth. Analg. 106,2 (2008)*, S. 384–391.
- 65. Cason B. A., Gamperl A. K., Slocum R. E., Hickey R. F.: Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits, in: *Anesthesiology* 87,5 (1997), S. 1182–1190.
- 66. Müllenheim J., Ebel D., Frässdorf J., Preckel B., Thämer V., Schlack W.: Isoflurane preconditions myocardium against infarction via release of free radicals, in: *Anesthesiology 96,4 (2002)*, S. 934–940.
- Heinen A., Huhn R., Smeele K. M. A., Zuurbier C. J., Schlack W., Preckel B. et al.: Helium-induced preconditioning in young and old rat heart: impact of mitochondrial Ca(2+) -sensitive potassium channel activation, in: *Anesthesiology 109,5 (2008)*, S. 830–836.
- 68. Huhn R., Heinen A., Weber N. C., Hieber S., Hollmann M. W., Schlack W. et al.: Helium-induced late preconditioning in the rat heart in vivo, in: *Br. J. Anaesth. 102,5* (2009), S. 614–619.
- 69. Preckel B., Weber N. C., Sanders R. D., Maze M., Schlack W.: Molecular mechanisms transducing the anesthetic, analgesic, and organ-protective actions of xenon, in: *Anesthesiology 105,1 (2006)*, S. 187–197.
- 70. Pagel P. S., Krolikowski J. G., Shim Y. H., Venkatapuram S., Kersten J. R., Weihrauch D. et al.: Noble gases without anesthetic properties protect myocardium against infarction by activating prosurvival signaling kinases and inhibiting mitochondrial permeability transition in vivo, in: *Anesth. Analg. 105,3 (2007)*, S. 562–569.
- 71. Li Q., Lian C., Zhou R., Li T., Xiang X., Liu B.: Pretreatment with xenon protected immature rabbit heart from ischaemia/reperfusion injury by opening of the mitoKATP channel, in: *Heart Lung Circ. 22,4 (2013)*, S. 276–283.
- 72. Heidland U. E., Heintzen M. P., Schwartzkopff B., Strauer B. E.: Preconditioning during percutaneous transluminal coronary angioplasty by endogenous and exogenous adenosine, in: *Am. Heart J. 140,4 (2000)*, S. 813–820.
- 73. Headrick J. P., See Hoe L. E., Du Toit E. F., Peart J. N.: Opioid receptors and cardioprotection 'opioidergic conditioning' of the heart, in: *Br. Pharmacol. J. 172,8* (2015), S. 2026–2050.
- 74. McPherson B. C., Yao Z.: Morphine mimics preconditioning via free radical signals and mitochondrial K(ATP) channels in myocytes, in: *Circulation 103,2 (2001)*, S. 290–295.
- 75. Salloum F. N., Takenoshita Y., Ockaili R. A., Daoud V. P., Chou E., Yoshida K. et al.: Sildenafil and vardenafil but not nitroglycerin limit myocardial infarction through

opening of mitochondrial K(ATP) channels when administered at reperfusion following ischemia in rabbits, in: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 42,2 (2007), S. 453–458.

- 76. Salloum F., Yin C., Xi L., Kukreja R. C.: Sildenafil induces delayed preconditioning through inducible nitric oxide synthase-dependent pathway in mouse heart, in: *Circ. Res.* 92,6 (2003), S. 595–597.
- 77. Sesti C., Florio V., Johnson E. G., Kloner R. A.: The phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil reduces myocardial infarct size, in: *Int. J. Impot. Res. 19,1 (2007)*, S. 55–61.
- 78. Hausenloy D. J., Barrabes J. A., Bøtker H. E., Davidson S. M., Di Lisa F., Downey J. et al.: Ischaemic conditioning and targeting reperfusion injury: a 30 year voyage of discovery, in: *Basic Res. Cardiol. 111,6 (2016)*, Artikel-Nr. 70.
- 79. Downey J. M., Cohen M. V.: Signal transduction in ischemic preconditioning, in: *Adv. Exp. Med. Biol.* 430 (1997), S. 39–55.
- Xu W., Liu Y., Wang S., McDonald T., Van Eyk J. E., Sidor A. et al.: Cytoprotective role of Ca²⁺- activated K⁺ channels in the cardiac inner mitochondrial membrane, in: *Science 298,5595 (2002)*, S. 1029–1033.
- 81. Hausenloy D. J., Yellon D. M.: New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the reperfusion injury salvage kinase (RISK)-pathway, in: *Cardiovasc Res.* 61,3 (2004), S. 448–460.
- 82. Hausenloy D. J., Yellon D. M.: Reperfusion injury salvage kinase signalling: taking a RISK for cardioprotection, in: *Heart Fail. Rev. 12,3–4 (2007)*, S. 217–234.
- 83. Lecour S.: Activation of the protective survivor activating factor enhancement (SAFE) pathway against reperfusion injury: does it go beyond the RISK pathway?, in: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 47,1 (2009), S. 32–40.
- 84. Boengler K., Hilfiker-Kleiner D., Heusch G., Schulz R.: Inhibition of permeability transition pore opening by mitochondrial STAT3 and its role in myocardial ischemia/reperfusion, in: *Basic Res. Cardiol. 105,6 (2010)*, S. 771–785.
- 85. Lacerda L., Somers S., Opie L. H., Lecour S.: Ischaemic postconditioning protects against reperfusion injury via the SAFE pathway, in: *Cardiovasc. Res.* 84,2 (2009), S. 201–208.
- 86. Lecour S.: Multiple protective pathways against reperfusion injury: a SAFE path without Aktion?, in: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 46,5 (2009), S. 607–609.
- 87. Cohen M. V., Downey J. M.: Cardioprotection: spotlight on PKG, in: *Br. J. Pharmacol. 152,6 (2007)*, S. 833–834.
- 88. Heusch G.: Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning, in: *Circ. Res. 116,4 (2015)*, S. 674–699.
- Riquelme J. A., Westermeier F., Hall A. R., Vicencio J. M., Pedrozo Z., Ibacache M. et al.: Dexmedetomidine protects the heart against ischemia-reperfusion injury by an endothelial eNOS/NO dependent mechanism, in: *Pharmacol. Res. 103 (2016)*, S. 318–327.
- 90. Kocglu H., Karaaslan K., Gonca E., Bozdogan O., Gulcu N.: Preconditionin effects of dexmedetomidine on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats, in: *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 69,2 (2008), S. 150–158.

- 91. Zhang X., Zhao X., Wang Y.: Dexmedetomidine: a review of applications for cardiac surgery during perioperative period, in: *J. Anesth. 29,1 (2015)*, S. 102–111.
- 92. EMA: Dexdor (Dexmedetomidin). Übersicht über Dexdor und Begründung für die Zulassung in der EU [Internet], aufgerufen am 15.03.2023, verfügbar unter: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/dexdor-epar-medicine-overview_de.pdf
- 93. Scott-Warren V. L., Sebastian J.: Dexmedetomidine: its use in intensive care medicine and anaesthesia, in: *BJA Education 16*,7 (2016), S. 242–246.
- 94. Murthy T. V. S. P., Singh R.: Alpha 2 adrenoceptor agonist dexmedetomidine role in anaesthesia and intensive care: a clinical review, in: *J. Anaesthesiol. Clin. Pharmacol.* 25,3 (2009). S. 267–272.
- 95. Bylund D. B.: Heterogeneity of alpha-2 adrenergic receptors, in: *Pharmacol. Biochem. Behav. 22,5 (1985)*, S. 835–843.
- 96. Nelson L. E., Lu J., Guo T., Saper C. B., Franks N. P., Maze M.: The alpha2adrenoceptor agonist dexmedetomidine converges on an endogenous sleep-promoting pathway to exert its sedative effects, in: *Anesthesiology 98,2 (2003)*, S. 428–436.
- 97. Snapir A., Posti J., Kentala E., Koskenvuo J., Sundell J., Tuunanen H. et al.: Effects of low and high plasma concentrations of dexmedetomidine on myocardial perfusion and cardiac function in healthy male subjects, in: *Anesthesiology 105,5 (2006)*, S. 902–910.
- 98. Joshi M. S., Ferguson T. B. Jr., Johnson F. K., Johnson R. A., Parthasarathy S., Lancaster J. R. Jr.: Receptor-mediated activation of nitric oxide synthesis by arginine in endothelial cells, in: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104,24 (2007)*, S. 9982–9987.
- 99. Gertler R., Brown H. C., Mitchell D. H., Silvius E. N.: Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent, in: *Proc. (Bayl. Univ. Med. Cent.)* 14,1 (2001), S. 13–21.
- 100. Taittonen M. T., Kirvelä O. A., Aantaa R., Kanto J. H.: Effect of clonidine and dexmedetomidine premedication on perioperative oxygen consumption and haemodynamic state, in: *Br. J. Anaesth.* 78,4 (1997), S. 400–406.
- Aantaa R., Jaakola M. L., Kallio A., Kanto J.: Reduction of the minimum alveolar concentration of isoflurane by dexmedetomidine, in: *Anesthesiology 86,5 (1997)*, S. 1055–1060.
- 102. Scheinin B., Lindgren L., Randell T., Scheinin H., Scheinin M.: Dexmedetomidine attenuates sympathoadrenal responses to tracheal intubation and reduces the need for thiopentone and peroperative fentanyl, in: *Br. J. Anaesth.* 68,2 (1992), S. 126–131.
- 103. Zhang B., Wang G., Liu X., Wang T., Chi T.: The opioid-sparing effect of perioperative dexmedetomidine combined with oxycodone infusion during open hepatectomy: a randomized controlled trial, in: *Front. Pharmacol. 8 (2018)*, Artikel-Nr. 940.
- 104. Arain S. R., Ebert T. J.: The efficacy, side effects, and recovery characteristics of dexmedetomidine versus propofol when used for intraoperative sedation, in: *Anesth. Analg.* 95,2 (2002), S. 461–466.
- Belleville J. P., Ward D. S., Bloor B. C., Maze M.: Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. I. sedation, ventilation, and metabolic rate, in: *Anesthesiology* 77,6 (1992), S. 1125–1133.

- 106. Hall J. E., Uhrich T. D., Barney J. A., Arain S. R., Ebert T. J.: Sedative, amnestic, and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions, in: *Anesth. Analg. 90,3* (2000), S. 699–705.
- 107. Venn R. M., Hell J., Grounds R. M.: Respiratory effects of dexmedetomidine in the surgical patient requiring intensive care, in: *Crit. Care 4,5 (2000)*, S. 302–308.
- 108. Gerresheim G., Schwemmer U.: Dexmedetomidin, in: Anaesthesist 62,8 (2013), S. 661–674.
- 109. Zeng X., Wang H., Xing X., Wang Q., Li W.: Dexmedetomidine protects against transient global cerebral ischemia/reperfusion induced oxidative stress and inflammation in diabetic rats, in: *PLoS One 11,3: e0151620 (2016)*.
- 110. Wang Y., Wu S., Yu X., Zhou S., Ge M., Chi X. et al.: Dexmedetomidine protects rat liver against ischemia-reperfusion injury partly by the α2A-adrenoceptor subtype and the mechanism is associated with the TLR4/NF-κB pathway, in: *Int. J. Mol. Sci.* 17,7 (2016), Artikel-Nr. 995.
- 111. Zhang W., Zhang J-Q., Meng F-M., Xue F-S.: Dexmedetomidine protects against lung ischemia-reperfusion injury by the PI3K/Akt/HIF-1α signaling pathway, in: J. Anesth. 30,5 (2016), S. 826–833.
- 112 Lempiäinen J., Finckenberg P., Mervaala E. E., Storvik M., Kaivola J., Lindstedt K. et al.: Dexmedetomidine preconditioning ameliorates kidney ischemia-reperfusion injury, in: *Pharmacol. Res. Perspect. 2,3: e0045 (2014)*.
- 113. Okada H., Kurita T., Mochizuki T., Morita K., Sato S.: The cardioprotective effect of dexmedetomidine on global ischaemia in isolated rat hearts, in: *Resuscitation* 74,3 (2007), S. 538–545.
- 114. Ibacache M., Sanchez G., Pedrozo Z., Galvez F., Humeres C., Echevarria G. et al.: Dexmedetomidine preconditioning activates pro-survival kinases and attenuates regional ischemia/reperfusion injury in rat heart, in: *Biochim. Biophys. Acta 1822,4 (2012)*, S. 537–545.
- 115. Wang H., Zhang S., Xu S., Zhang L.: The efficacy and mechanism of dexmedetomidine in myocardial apoptosis via the renin-angiotensin-aldosterone system, in: *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 16,4 (2015)*, S. 1274–1280.
- 116. Priebe H-J.: Pharmacological modification of the perioperative stress response in noncardiac surgery, in: *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 30,2 (2016), S. 171–189.
- 117. Fukao M., Mason H. S., Britton F. C., Kenyon J. L., Horowitz B., Keef K. D.: Cyclic GMP-dependent protein kinase activates cloned BKCa channels expressed in mammalian cells by direct phosphorylation at serine 1072, in: *J. Biol. Chem.* 274,16 (1999), S. 10927–10935.
- 118. Deenadayalu V., Puttabyatappa Y., Liu A. T., Stallone J. N., White R. E.: Testosteroneinduced relaxation of coronary arteries: activation of BKCa channels via the cGMPdependent protein kinase, in: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 302,1 (2012), S. H115–H123.
- 119. Takens-Kwak B. R., Jongsma H. J.: Cardiac gap junctions: three distinct single channel conductances and their modulation by phosphorylating treatments, in: *Pflügers Arch.* 422 (1992), S. 198–200.
- 120. Kar R., Batra N., Riquelme M. A., Jiang J. X.: Biological role of connexin intercellular channels and hemichannels, in: *Arch. Biochem. Biophys.* 524,1 (2012), S. 2–15.

- 121. Iyyathurai J., D'hondt C., Wang N., De Bock M., Himpens B., Retamal M. A. et al.: Peptides and peptide-derived molecules targeting the intracellular domains of Cx43: Gap junctions versus hemichannels, in: *Neuropharmacology* 75 (2013), S. 491–505.
- 122. Rodríguez-Sinovas A., García-Dorado D., Cabestrero A., Ruiz-Meana M.: Myocardial connexin 43: gap junction-dependent and gap junction-independent effects on ischemia/reperfusion injury, in: *Physiology News 58 (2005)*, S. 31–32.
- 123. Schwanke U., Konietzka I., Duschin A., Li X., Schulz R., Heusch G.: No ischemic preconditioning in heterozygous connexin43-deficient mice, in: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol 283,4 (2002)*, S. H1740–H1742.
- 124. Schulz R., Heusch G.: Connexin 43 and ischemic preconditioning, in: *Cardiovasc. Res.* 62,2 (2004), S. 335–344.
- 125. Boengler K., Konietzka I., Buechert A., Heinen Y., Garcia-Dorado D., Heusch G. et al.: Loss of ischemic preconditioning's cardioprotection in aged mouse hearts is associated with reduced gap junctional and mitochondrial levels of connexin 43, in: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 292,4 (2007)*, S. H1764–H1769.
- 126. Krebs H. A., Henseleit K.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper, in: *Klin. Wochenschr. 11 (1932)*, S. 757–759.
- 127. Knaus H. G., McManus O. B., Lee S. H., Schmalhofer W. A., Garcia-Calvo M., Helms L. M. et al.: Tremorgenic indole alkaloids potently inhibit smooth muscle high-conductance calcium-activated potassium channels, in: *Biochemistry 33,19 (1994)*, S. 5819–5828.
- Sanchez M., McManus O. B.: Paxilline inhibition of the alpha-subunit of the highconductance calcium-activated potassium channel, in: *Neuropharmacology 35,7 (1996)*, S. 963–938.
- 129. Huhn R., Heinen A., Weber N. C., Schlack W., Preckel B., Hollmann M. W.: Ischaemic and morphine-induced post-conditioning: impact of mK(Ca) channels, in: *Br. J. Anaesth.* 105,5 (2010), S. 589–595.
- 130. Wang N., De Bock M., Antoons G., Gadicherla A. K., Bol M., Decrock E. et al.: Connexin mimetic peptides inhibit Cx43 hemichannel opening triggered by voltage and intracellular Ca²⁺ elevation, in: *Basic Res. Cardiol. 107,6 (2012)*, Artikel-Nr. 304.
- 131. Przyklenk K., Maynard M., Darling C. E., Whittaker P.: Pretreatment with D-myoinositol trisphosphate reduces infarct size in rabbit hearts: role of inositol trisphosphate receptors and gap junctions in triggering protection, in: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 314,3 (2005), S. 1386–1392.
- 132. Wrzosek A.: The potassium channel opener NS1619 modulates calcium homeostasis in muscle cells by inhibiting SERCA, in: *Cell Calcium 56,1 (2014)*, S. 14–24.
- 133. Behmenburg F., Dorsch M., Huhn R., Mally D., Heinen A., Hollmann M. W. et al.: Impact of mitochondrial Ca²⁺-sensitive potassium (mBKCa) channels in sildenafilinduced cardioprotection in rats, in: *PLoS One 10,12: e0144737 (2015)*.
- 134. Aktories K., Flockerzi V., Förstermann U., Hofmann F. (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, München ¹³2022, hier: S. 1193–1202.
- 135. DE 293163 C (Verfahren zur Darstellung von Derivaten der Barbitursäure), Anmeldetag: 12.02.1915.

- 136. Karow T., Lang-Roth R. (Hrsg.): Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Pulheim ²⁰2012, hier: S. 975–976.
- 137. Zimmer H.: the isolated perfused heart and its pioneers, in: News Physiol. Sci. 13,4 (1998), S. 157–210.
- 138. Sutherland F. J., Hearse D. J.: The isolated blood and perfusion fluid perfused heart, in: *Pharmacol. Res.* 41,6 (2000), S. 613–627.
- 139. Behmenburg F., Pickert E., Mathes A., Heinen A., Hollmann M. W., Huhn R. et al.: The cardioprotective effect of dexmedetomidine in rats is dose-dependent and mediated by BKCa channels, in: *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 69,4 (2017), S. 228–235.
- 140. Nachlas M. M., Shnitka T. K.: Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity, in: *Am. J. Pathol.* 42,4 (1963), S. 379–405.
- 141. Klein H. H., Puschmann S., Schaper J., Schaper W.: The mechanism of the tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction, in: *Virchows Arch. 393,3* (1981), S. 287–297.
- 142. Frässdorf J., Huhn R., Niersmann C., Weber N. C., Schlack W., Preckel B. et al.: Morphine induces preconditioning via activation of mitochondrial K(Ca) channels, in: *Can. J. Anaesth.* 57,8 (2010), S. 767–773.
- 143. L'Allemand H.: Wiederbelebung, in: Sailer F. X., Gierhake F. W. (Hrsg.): Chirurgie historisch gesehen. Anfang – Entwicklung – Differenzierung, München 1973, S. 217– 228.
- 144. Langendorff O.: Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen, in: *Pflügers Arch.* 61 (1895), S. 291–332.
- 145. Liao R., Podesser B. K., Lim C. C.: The continuing evolution of the Langendorff and ejecting murine heart: new advances in cardiac phenotyping, in: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 303,2 (2012), S. H156–H167.
- 146. Yellon D. M., Downey J. M.: Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology in: *Physiol. Rev.* 83,4 (2003), S. 1113–1151.
- 147. Verdouw P. D., van den Doel M. A., de Zeeuw S., Duncker D. J.: Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes, in: *Cardiovasc. Res.* 39,1 (1998), S. 121–135.
- 148. De Leiris J., Harding D. P., Pestre S.: The isolated perfused rat heart: a model for studying myocardial hypoxia or ischaemia, in: *Basic Res. Cardiol.* 79,3 (1984), S. 313–321.
- 149. Fukunami M., Hearse D. J.: The inotropic consequences of cooling: studies in the isolated rat heart, in: *Heart Vessels 5,1 (1989)*, S. 1–9.
- 150. Bell R. M., Mocanu M. M., Yellon D. M.: Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion, in: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 50,6 (2011), S. 940–950.
- 151. Neely J. R., Liebermeister H., Battersby E. J., Morgan H. E.: Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart, in: *Am. J. Physiol. 212,4 (1967)*, S. 804–814.

- 152. Gärtner K., Büttner D., Döhler K., Friedel R., Lindena J., Trautschold I.: Stress response of rats to handling and experimental procedures, in: *Lab. Anim. 14,3 (1980)*, S. 267–74.
- 153. Bing R. J., Siegel A., Ungar I., Gilbert M.: Metabolism of the human heart. II. Studies on fat, ketone and amino acid metabolism, in: *Am. J. Med.* 16,4 (1954), S. 504–515.
- 154. Sutherland F. J., Shattock M. J., Baker K. E., Hearse D. J.: Mouse isolated perfused heart: characteristics and cautions, in: *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 30,11 (2003), S. 867–878.
- 155. Bing R. J.: Some aspects of biochemistry of myocardial infarction, in: *Cell. Mol. Life Sci. 58,3 (2001)*, S. 351–355.
- 156. Skrzypiec-Spring M., Grotthus B., Szelag A., Schulz R.: Isolated heart perfusion according to Langendorff still viable in the new millennium, in: *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 55,2 (2007), S. 113–126.
- 157. Ferdinandy P., Panas D., Schulz R.: Peroxynitrite contributes to spontaneous loss of cardiac efficiency in isolated working rat hearts, in: *Am. J. Physiol. 276,6 (1999)*, S. H1861–H1867.
- Vogel W. M., Cerel A. W., Apstein C. S.: Post-ischemic cardiac chamber stiffness and coronary vasomotion: the role of edema and effects of dextran, in: *J. Mol. Cell. Cardiol. 18,12 (1986)*, S. 1207–1218.
- 159. Clements-Jewery H., Hearse D. J., Curtis M. J.: Independent contribution of catecholamines to arrhythmogenesis during evolving infarction in the isolated rat heart, in: *Br. J. Pharmacol.* 135,3 (2002), S. 807–815.
- 160. Clements-Jewery H., Hearse D. J., Curtis M. J.: The isolated blood-perfused rat heart: an inappropriate model for the study of ischaemia- and infarction-related ventricular fibrillation, in: *Br. J. Pharmacol. 137,7 (2002)*, S. 1089–1099.
- 161. Headrick J. P., Peart J., Hack B., Flood A., Matherne G. P.: Functional properties and responses to ischaemia-reperfusion in Langendorff perfused mouse heart, in: *Exp. Physiol.* 86,6 (2001), S. 703–716.
- 162. Schmitz-Spanke S., Seyfried E., Schwanke U., Korbmacher B., Sunderdiek U., Winter J., et al.: The isolated rabbit heart: comparison between five different modifications, in: *Herz.* 27,8 (2002), S. 803–813.
- 163. Frangoulidou E., Kuhlen R., Marenghi C.: Sedative agents and respiratory depression: a unique profile of dexmedetomidine, in: Maze M., Morrison P. (Hrsg.): *Redefining sedation. Proceedings of a meeting sponsored by Abbott Laboratories held at the Royal Society of Medicine on 11 September 1998 (ICSS 221)*, London 1998, S. 40–50.
- 164. Carollo D. S., Nossaman B. D., Ramadhyani U.: Dexmedetomidine: a review of clinical applications, in: *Curr. Opin. Anaesthesiol.* 21,4 (2008), S. 457–461.
- 165. Riker R. R., Shehabi Y., Bokesch P. M., Ceraso D., Wisemandle W., Koura F. et al.: Dexmedetomidine vs. midazolam for sedation of critically ill patients: a randomized trial, in: *JAMA 301,5 (2009)*, S. 489–499.
- 166. Osorio L.: FDA okays first sublingual med for agitation in serious mental illness [Internet], aufgerufen am 15.03.2023, verfügbar unter: https://www.medscape.com/viewarticle/971866

- 167. BfArM: Rote-Hand-Brief zu Dexmedetomidin: Risiko von erhöhter Mortalität bei Intensivpatienten ≤ 65 Jahren [Internet], aufgerufen am 15.03.2023, verfügbar unter: https://www.bfarm.de/SharedDocs/Risikoinformationen/Pharmakovigilanz/DE/RHB/ 2022/rhb-dexmedetomidin.html
- 168. Wang X., Fisher P. W., Xi L., Kukreja R. C.: Essential role of mitochondrial Ca²⁺activated and ATP-sensitive K⁺ channels in sildenafil-induced late cardioprotection, in: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 44,1 (2008), S. 105–113.
- Cao C-M., Xia Q., Gao Q., Chen M., Wong T-M.: Calcium-activated potassium channel triggers cardioprotection of ischemic preconditioning, in: J. Pharmacol. Exp. Ther. 312,2 (2005), S. 644–650.
- 170. Cao C-M., Chen M., Wong T-M.: The K(Ca) channel as a trigger for the cardioprotection induced by kappa-opioid receptor stimulation its relationship with protein kinase C, in: *Br. J. Pharmacol.* 145,7 (2005), S. 984–991.
- 171. Gao Q., Yang B., Ye Z-G., Wang J., Bruce I. C., Xia Q.: Opening the calcium-activated potassium channel participates in the cardioprotective effect of puerarin, in: *Eur. J. Pharmacol.* 574,2-3 (2007), S. 179–184.
- 172. Lai M. H., Wu Y., Gao Z., Anderson M. E., Dalziel J. E., Meredith A. L.: BK channels regulate sinoatrial node firing rate and cardiac pacing in vivo, in: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 307,9 (2014), S. H1327–H1338.
- 173. Hawat G., Hélie P., Baroudi G.: Single intravenous low-dose injections of connexin 43 mimetic peptides protect ischemic heart in vivo against myocardial infarction, in: *J. Mol. Cell. Cardiol. 53,4 (2012)*, S. 559–566.
- 174. Bentzen B. H., Olesen S-P., Ronn L. C. B., Grunnet M.: BK channel activators and their therapeutic perspectives, in: *Front. Physiol. 5 (2014)*, Artikel-Nr. 389.
- 175. Heinen A., Ströthoff M., Schmidt A., Stracke N., Behmenburg F., Bauer I. et al.: Pharmacological options to protect the aged heart from ischemia and reperfusion injury by targeting the PKA-BK(Ca) signaling pathway, in: *Exp. Gerontol.* 56 (2014), S. 99–105.
- 176. Shim Y. H.: Cardioprotection and ageing, in: Korean J. Anesthesiol. 58,3 (2010), S. 223–230.
- 177. Shintani Y., Node K., Asanuma H., Sanada S., Takashima S., Asanoet Y. al.: Opening of Ca²⁺-activated K⁺ channels is involved in ischemic preconditioning in canine hearts, in: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 37,6 (2004), S. 1213–1218.
- 178. Huhn R., Weber N. C., Preckel B., Schlack W., Bauer I., Hollmann M. W. et al.: Agerelated loss of cardiac preconditioning: impact of protein kinase A, in: *Exp. Gerontol.* 47,1 (2012), S. 116–121.
- 179. Balderas E., Zhang J., Stefani E., Toro L.: Mitochondrial BK_{Ca} channel, in: *Front. Physiol.* 6 (2015), Artikel-Nr. 104.
- 180. Singh H., Lu R., Bopassa J. C., Meredith A L., Stefani E., Toro L.: MitoBK(Ca) is encoded by the Kenmal gene, and a splicing sequence defines its mitochondrial location, in: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110,26 (2013)*, S. 10836–10841.
- Srisakuldee W., Makazan Z., Nickel B. E., Zhang F., Thliveris J. A., Pasumarthi K. B.
 S. et al.: The FGF-2-triggered protection of cardiac subsarcolemmal mitochondria from

calcium overload is mitochondrial connexin 43-dependent, in: *Cardiovasc. Res. 103,1* (2014), S. 72-80.

- 182. Lampe P. D., Lau A. F.: The effects of connexin phosphorylation on gap junctional communication, in: *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 36,7 (2004), S. 1171–1186.
- 183. Michela P., Velia V., Aldo P., Ada P.: Role of connexin 43 in cardiovascular diseases, in: *Eur. J. Pharmacol.* 768 (2015), S. 71–76.
- 184. Ruiz-Meana M., Rodriguez-Sinovas A., Cabestrero A., Boengler K., Heusch G., Garcia-Dorado D.: Mitochondrial connexin43 as a new player in the pathophysiology of myocardial ischaemia-reperfusion injury, in: *Cardiovasc. Res.*77,2 (2008), S. 325–333.
- 185. Hannivoort L. N., Eleveld D. J., Proost J. H., Reyntjens K. M. E. M, Absalom A. R., Vereecke H. E. M. et al: Development of an optimized pharmacokinetic model of dexmedetomidine using target-controlled infusion in healthy volunteers, in: *Anesthesiology 123,2 (2015)*, S. 357–367.
- Ebert T. J., Hall J. E., Barney J. A., Uhrich T. D., Colinco M. D.: The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans, in; *Anesthesiology* 93,2 (2000), S. 382–394.
- 187. Das A., Xi .L, Kukreja R. C.: Protein kinase G-dependent cardioprotective mechanism of phosphodiesterase-5 inhibition involves phosphorylation of ERK and GSK3beta, in: *J. Biol. Chem. 283,43 (2008)*, S. 29572–29585.
- 188. Kersten J. R., Toller W. G., Gross E. R., Pagel P. S., Warltier D. C.: Diabetes abolishes ischemic preconditioning: role of glucose, insulin, and osmolality, in: Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 278,4 (2000), S. H1218–H1224.
- 189. Tosaki A., Engelman D. T., Engelman R. M., Das D. K.: The evolution of diabetic response to ischemia/reperfusion and preconditioning in isolated working rat hearts, in: *Cardiovasc. Res. 31,4 (1996)*, S. 526–536.
- Kristiansen S. B., Løfgren B., Støttrup N. B., Khatir D., Nielsen-Kudsk J. E., Nielsen T. T. et al. Ischaemic preconditioning does not protect the heart in obese and lean animal models of type 2 diabetes, in: *Diabetologia 47,10 (2004)*, S. 1716–1721.
- 191. Chang J-H., Jin M-M., Liu J-T.: Dexmedetomidine pretreatment protects the heart against apoptosis in ischemia/reperfusion injury in diabetic rats by activating pi3k/akt signaling in vivo and in vitro, in: *Biomed. Pharmacother. 127 (2020)*, Artikel-Nr. 110188.
- 192. Deng L., Chen H., Wei N., Zhang Z., Wang G.: The cardioprotective effect of dexmedetomidine on regional ischemia/reperfusion injury in type 2 diabetic rat hearts, in: *Microvasc. Res. 123 (2019)*, S. 1–6.
- 193. Guo Y., Gao H., Zhao K., Zhao G., Zeng X.: Therapeutic effect of dexmedetomidine on myocardial ischemia reperfusion injury in type 2 diabetic rat model under P13K/Akt pathway, in: *J. King Saud Univ. Sci. 32,5 (2020)*, S. 2553–2560.
- 194. Torregroza C., Feige K., Schneider L., Bunte S., Stroethoff M., Heinen A. et al.: Influence of Hyperglycemia on Dexmedetomidine-Induced Cardioprotection in the Isolated Perfused Rat Heart, in: *J. Clin. Med.* 9,5 (2020), Artikel-Nr. 1445.

- 195. Li J., Zhao Y., Zhou N., Li L., Li K.: Dexmedetomidine attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetes mellitus by inhibiting endoplasmic reticulum stress. *J. Diabetes Res. 2019 (2019)*, Artikel-Nr. 7869318.
- 196. Yin X., Zheng Y., Zhai X., Zhao X., Cai L.: Diabetic inhibition of preconditioning- and postconditioning-mediated myocardial protection against ischemia/reperfusion injury, in: *Exp. Diabetes Res. 2012 (2012)*, Artikel-Nr. 198048.
- 197. Gross E. R., Hsu A. K., Gross G. J.: Diabetes abolishes morphine-induced cardioprotection via multiple pathways upstream of glycogen synthase kinase-3beta, in: *Diabetes 56,1 (2007)*, S. 127–136.
- 198. Turcato S., Turnbull L., Wang G-Y., Honbo N., Simpson P. C., Karliner J. S. et al.: Ischemic preconditioning depends on age and gender, in: *Basic Res. Cardiol. 101,3* (2006), S. 235–243.
- 199. Leinwand L. A.: Sex is a potent modifier of the cardiovascular system, in: J. Clin. Invest. 112,3 (2003), S. 302-307.
- 200. Cao Z., Liu L., Packwood W., Merkel M., Hurn P. D., Van Winkle D. M.: Sex differences in the mechanism of Met5-enkephalin-induced cardioprotection: role of PI3K/Akt, in: Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 294,1 (2008), S. H302–H310.

7. Danksagung

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

Ich danke darüber hinaus meiner Betreuerin Frau Dr. med. Friederike Behmenburg für die vortreffliche experimentelle Supervision, viele anregende Diskurse sowie für die großartige Unterstützung und die Geduld, insbesondere in der letzten Phase vor Fertigstellung der Dissertation.

Ebenso gebührt Frau Prof Dr. rer. nat. Inge Bauer sowie allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Labors für experimentelle Anästhesiologie, vornehmlich Frau Birgitt Berke und Frau Claudia Dohle, ein herzlicher Dank für die Zusammenarbeit im täglichen Laborbetrieb.

Meiner besten Freundin Kathrin gilt ein besonderer Dank für unzählige stützende Gespräche, aufmunternde Worte und für ein Maß an Verständnis, das Seinesgleichen sucht.

Nicht zuletzt möchte ich mich von Herzen bei meiner Familie für ihre uneingeschränkte Liebe und ihren grenzenlosen Rückhalt bedanken. Beides hat mich durch viele schwere Zeiten getragen und so die Fertigstellung dieser Arbeit erst möglich gemacht. Im Besonderen danke ich meiner Zwillingsschwester Dana, deren bedingungslose Unterstützung, Liebe, Geduld und Zuversicht mir die größte Stütze waren.