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

Einfluss einer akuten Hyperglykämie auf die kardioprotektive Wirkung von Dexmedetomidin während der Prä- und Postkonditionierung am isoliert perfundierten Rattenherz

Dissertation

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

Vorgelegt von
Laura Schneider
2024

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
Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Günter Niegisch

Meiner Familie

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Torregroza, C., Feige, K., Schneider, L., Bunte, S., Stroethoff, M., Heinen, A., Hollmann, M.W., Huhn, R., Raupach, A., (2020). Influence of Hyperglycemia on Dexmedetomidine-Induced Cardioprotection in the Isolated Perfused Rat Heart. *J. Clin. Med.,* 13;9(5):1445

Zusammenfassung Deutsch
Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems sind laut statistischem Bundesamt die häufigste Todesursache in Deutschland. Kommt es in Folge der Erkrankung zu einer akuten Ischämie am Herzen, hat die zügige Wiederherstellung des koronaren Blutflusses höchste Priorität, um einen Ischämie-bedingten Zelluntergang am Myokard zu verhindern. Paradoxerweise verursacht die Reperfusion selbst jedoch weiteren Schaden am Myokard. Auf Grundlage dieser Erkenntnis wurden verschiedene Konditionierungsstrategien entwickelt, um das Herz gegen diesen Ischämie- und Reperfusionsschaden (I/R-Schaden) zu schützen. Die pharmakologische Präkonditionierung (PC) und Postkonditionierung (PoC) mit dem α2-Adrenorezeptoragonist Dexmedetomidin (Dex) wies in experimentellen Studien eine gute Wirksamkeit gegen den I/R-Schaden auf. Die Übertragbarkeit in den klinischen Alltag ist hingegen nicht zufriedenstellend. Ein Grund dafür können verschiedene Komorbiditäten der erkrankten Personen sein. Eine häufige Komorbidität, die mit einem akuten Myokardinfarkt assoziiert ist, stellen Diabetes mellitus und die akute Hyperglykämie dar.

In dieser experimentellen Arbeit wird die Auswirkung einer akuten Hyperglykämie auf die kardioprotektive Wirkung von Dex untersucht.

Die Experimente wurden am isoliert perfundierten Rattenherzen an der Langendorff-Apparatur durchgeführt. Hierfür wurden die Herzen junger, männlicher WISTAR-Ratten entnommen und retrograd über die Aorta mit einem modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) perfundiert. Alle Herzen durchliefen eine 33-minütige Ischämiephase gefolgt von einer 60-minütigen Reperfusionsphase. Die Infarktgröße wurde durch Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung (TTC-Färbung) bestimmt. Die insgesamt 50 Rattenherzen wurden in 7 Gruppen (n = 6-8 pro Gruppe) randomisiert. Die Kontrollgruppen (Con) erhielten ausschließlich KHP als Vehikel unter hyperglykämen (HG) bzw. normoglykämen (NG) Bedingungen. Die Hyperglykämie wurde durch die zusätzliche Gabe von 11 mmol/L Glukose zum KHP erreicht, wodurch die Herzen einer Gesamtkonzentration von 22 mmol/L Glukose während der Experimente ausgesetzt waren. Um eine vergleichbare Osmolarität zwischen den Gruppen zu erzielen, erhielt die normoglykäme Gruppe neben dem Standard KHP zusätzlich 11 mmol/L Mannitol. Die Herzen wurden mit einer Konzentration von 3 nM Dex behandelt. Die Applikation von Dex erfolgte entweder vor der Ischämie als Präkonditionierung (PC) (DexPC) oder als Postkonditionierung (PoC) zu Beginn der Reperfusion (DexPoC).
Die Infarktgrößenauswertung erfolgte über eine einfaktorielle ANOVA mit Tukey's post hoc Test. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben.

Eine akute Hyperglykämie allein hat keine Auswirkung auf die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Hyperglykämie (Con HG: 56 ± 9% ns vs. Con KHP: 56 ± 7%). DexPC induziert unter hyperglykämen Bedingungen eine signifikante Infarktgrößenreduktion (DexPC HG: 35 ± 3%, $p < 0,05$ vs. Con HG). Dagegen wurde die kardioprotektive Wirkung von Dex während der Reperfusion unter erhöhten Glukosespiegeln vollständig aufgehoben (DexPoC HG: 57 ± 9%, ns vs. Con HG). Im Vergleich dazu zeigen die normoglykämen Gruppen genau entgegengesetzte Ergebnisse. Die alleinige Perfusion von Mannitol (Con NG) erzielt eine Infarktgrößenreduktion auf 37 ± 3 % im Vergleich zu der Kontrollgruppe ($p < 0,05$ vs. Con KHP). Bei der Kombination aus Mannitol und DexPoC zeigte sich eine

vergleichbare Infarktgröße (DexPoC NG: 38 ± 4%, ns vs. Con NG). DexPC hebt hingegen die Mannitol-induzierte Infarktgrößenreduktion vollständig auf (DexPC NG: 55 ± 7%, $p < 0,05$ vs. Con NG).

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine akute Hyperglykämie die Präkonditionierung mit Dex nicht beeinflusst, wohingegen die kardioprotektive Wirkung von Dex in der Postkonditionierung vollständig aufgehoben wird. Die Behandlung mit Mannitol induziert eine Kardioprotektion. Diese protektive Wirkung wird bei der Behandlung mit Dex in der Präkonditionierung aufgehoben, wobei Dex während der Reperfusion keinen Einfluss auf die Mannitol-induzierte Infarktgrößenreduktion hat.

Zusammenfassung Englisch
According to federal statistical office report cardiovascular diseases are the most common cause of death in Germany. In an acute coronary ischemic event rapid restoration of blood flow through the coronary arteries is the main priority in order to prevent damage caused by prolonged ischemia. Paradoxically, reperfusion itself causes further damage to the myocardium. Based on this knowledge, several conditioning strategies were developed to protect the heart against this ischemia- and reperfusion (I/R) injury. Pharmacological preconditioning (PC) and postconditioning (PoC) with the α2-adrenoreceptor agonist Dexmedetomidine (Dex) showed good efficacy against I/R injury in experimental studies. Despite this, transferring those findings into clinical practice has not yet been successful. A possible reason may be various comorbidities of the patients, such as diabetes mellitus and hyperglycemia.

In this experimental study, the cardioprotective effect of Dex during acute hyperglycemia (HG) has been investigated.

The experiments were carried out in isolated perfused rat hearts employing the Langendorff system. For this purpose, the hearts of young male WISTAR rats were removed and perfused retrograd via the aorta with a modified Krebs-Henseleit-buffer (KHB). All hearts underwent 33 min of global ischemia, followed by 60 min of reperfusion. Infarct size was determined by triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining. A total of 50 rat hearts were randomized into 7 groups (n=6-8 per group). Control groups (Con) received KHB as vehicle only under hyperglycemic (HG) or normoglycemic (NG) conditions.
Hyperglycemia was achieved by adding 11 mmol/L glucose to the KHB, exposing hearts to a total concentration of 22 mmol/L glucose during the experiments. To achieve a comparable osmolarity between the groups, the normoglycemic group (NG) received an additional 11 mmol/L Mannitol in addition to the standard KHB. Hearts were treated with a concentration of 3 nM Dex. Dex was applied either before ischemia as preconditioning (DexPC) or as postconditioning at the beginning of reperfusion (DexPoC).
Infarct size analysis was performed using the one-factor ANOVA with Tukey's post hoc test. Results were expressed as mean ± standard deviation.

Acute hyperglycemia itself had no effect on infarct size compared with the KHB control group (Con HG: 56 ± 9% ns vs. Con KHB: 56 ± 7%). DexPC induced a significant infarct size reduction under hyperglycemic conditions (DexPC HG: 35 ± 3%, $p < 0.05$ vs. Con HG). The cardioprotective effect of Dex during reperfusion was completely reversed under elevated glucose levels (DexPoC HG: 57 ± 9%, ns vs. Con HG). In comparison, the normoglycemic groups showed entirely contrasting results. Perfusion of Mannitol alone (Con NG) achieved an infarct size reduction to 37 ± 3% compared to the control group ($p < 0.05$ vs Con KHB). The combination of Mannitol treated hearts and DexPoC showed similar infarct sizes (DexPoC NG: 38 ± 4%, ns vs. Con NG). In contrast, DexPC abolished the infarct size reduction induced by Mannitol (DexPC NG: 55 ± 7%, $p < 0.05$ vs. Con NG).

The results suggest that acute hyperglycemia does not affect preconditioning with Dex, whereas the cardioprotective effect of Dex in postconditioning is completely blocked. Treatment with Mannitol induces cardioprotection. Nevertheless, protective

effect is abolished during treatment with Dex in preconditioning, whereas Dex has no effect on Mannitol-induced infarct size reduction during reperfusion.

Abkürzungsverzeichnis

α2-AR	Alpha 2-Adrenorezeptor
AAR	*Area at Risk*
Abb.	Abbildung
Akt	Proteinkinase B
ATP	Adenosintriphosphat
ß-AR	Beta-Adrenorezeptor
BGA	Blutgasanalyse
BKCa-Kanäle	Calcium-sensitive Kaliumkanäle
Ca^{2+}	Calcium
Ca^{2+}-ATPase	Calcium-Pumpe
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
CO_2	Kohlendioxid
Con	Kontrollgruppe
COX-2	Cyclooxygenase-2
Dex	Dexmedetomidin
DM1 oder 2	Diabetes mellitus Typ 1 oder 2
dP/dt max	Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
ERK 1/2	*Extracellular-signal regulated Kinase 1/2*
Fa.	Firma
FWOP	*First window of protection*
GPCR	G-Protein gekoppelte Rezeptoren
GSK3ß	Glykogensynthase-Kinase-3-beta
GTP	Guanosintriphosphat
H^+	Wasserstoff-Protonen
H_2O	Wasser
H_2O_2	Wasserstoffperoxid
HF	Herzfrequenz
h-FABP	*Heart-type Fatty-Acid Binding Protein*
HG	Hyperglykämie

Hif 1-α	Hypoxie induzierbare Faktor 1 alpha
Hsp90	Hitzeschockprotein 90
I.E.	Internationale Einheit
IL-6	Interleukin 6
IL-11	Interleukin 11
iNOs	Induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
i.p.	Intraperitoneal
IPC	Ischämische Präkonditionierung
IPoC	Ischämische Postkonditionierung
I/R-Schaden	Ischämie/Reperfusionsschaden
JAK	Janus-Kinase
K^+	Kalium
KF	Koronarfluss
KHP	Krebs-Henseleit-Puffer
KHK	Koronare Herzkrankheit
LVDP	*Left ventricular developed pressure*
LVEDP	*Left ventricular end-diastolic pressure*
LVESP	*Left ventricular end-systolic pressure*
MAP-Kinasen	Mitogen aktivierende Proteinkinasen
MEK 1/2	Mitogen-aktivierte Proteinkinase 1/2
mitoK_{ATP} Kanäle	Mitochondriale ATP-abhängige Kaliumkanäle
mPTP	Mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore
MW	*Molecular weight*
n	Anzahl
Na^+	Natrium
Na^+/Ca^{2+}-Austauscher	Natrium-Calcium-Austauscher
Na^+/H^+-Austauscher	Natrium-Protonen-Austauscher
Na^+/K^+-ATPase	Natrium-Kalium-Pumpe
NG	Normoglykämie

NO	Sickstoffmonoxid
ns	Nicht signifikant
O_2	Sauerstoff
PC	Präkonditionierung
PI3K	Phospoinositid-3-Kinase
PKC	Proteinkinase C
PKG	Proteinkinase G
PoC	Postkonditionierung
PT	*Pretreatment*
RIPC	*Remote ischemic preconditioning*
RIPerC	*Remote ischemic perconditioning*
RISK	*Reperfusion Injury Salvage Kinase*
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RTK	Tyrosinkinase Rezeptor
SAFE	*Survival Activating Factor Enhancement*
sGC	*Soluble Guanylate Cyclase*
SPF	Spezifisch-pathogen-frei
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
STAT3	*Signal Transducer and Activator of Transcription 3*
SWOP	*Second window of protection*
TNF-α	Tumornekrosefaktor-alpha
TNFR	TNF-alpha Rezeptor
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
vs.	Versus
ZETT	Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben
%	Prozent

Einheiten

g	Gramm
g/mol	Gramm pro Mol
Hz	Hertz
kDa	Kilodalton
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
min	Minute
ml/min	Milliliter pro Minute
mM	Millimolar
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mmHg/s	Millimeter-Quecksilbersäule pro Sekunde
mmol/L	Millimol pro Liter
nM	Nanomolar
bpm	*Beats per minute*

1 Einleitung 1
1.1 Einführung in die Thematik 1
1.2 Pathophysiologie des Ischämie-/Reperfusionsschaden 2
1.3 Konditionierung als Schutz vor I/R-Schaden 4
1.3.1 Die ischämische Präkonditionierung 5
1.3.2 Die ischämische Postkonditionierung 5
1.3.3 Mechanismus der ischämischen Prä- und Postkonditionierung 6
1.3.4 Pharmakologische Prä- und Postkonditionierung 8
1.4 Dexmedetomidin 9
1.5 Akute Hyperglykämie und Konditionierung 10
1.6 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit 12
2 Material und Methodik 13
2.1 Material 13
2.1.1 Langendorff-Anlage 13
2.1.2 Laborgeräte 14
2.1.3 Pharmaka 14
2.1.4 Gase 14
2.1.5 Chemikalien 15
2.1.6 Computer und Software 16
2.1.7 Der Krebs-Henseleit-Puffer 16
2.1.8 Versuchstiere 17
2.1.9 Dexmedetomidin 17
2.2 Methodik 18
2.2.1 Präparation der Versuchstiere 18
2.2.2 Die Langendorff-Anlage 19
2.2.3 Das Versuchsprotokoll 21
2.2.4 TTC-Färbung der Herzen 25
2.2.5 Statistische Auswertung 25
3 Ergebnisse 26
3.1 Tier- und Herzcharakteristika 26
3.2 Infarktgrößen 27
3.3 Kardiale Funktion 28
3.4 Glucosewerte 31
4 Diskussion 32
4.1 Diskussion der Ergebnisse 32
4.1.1 Dexmedetomidin und Hyperglykämie 32
4.1.2 Dexmedetomidin und Mannitol 35
4.1.3 Hämodynamische Parameter 38
4.2 Diskussion der Methodik 39
4.2.1 Das Langendorff-Modell und die Versuchstiere 39
4.2.2 Der Krebs-Henseleit-Puffer 42
4.2.3 Dexmedetomidin 43
4.2.4 Hyperglykämie 45
4.2.5 Mannitol 45
4.3 Limitationen der Studie 46
4.4 Schlussfolgerung 47
5 Literatur- und Quellenverzeichnis 48

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1 Mechanismus der Prä- und Postkonditionierung 8
Abb. 2 Dexmedetomidin 18
Abb. 3 Die Langendorff-Anlage 21
Abb. 4 Das Versuchsprotokoll 244
Abb. 5 Infarktgrößen 28

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Zusammensetzung des modifizierten Krebs-Henseleit-Puffers 17
Tabelle 2 Tier- und Herzcharakteristika 26
Tabelle 3 Die hämodynamischen Parameter der verschiedenen Versuchsgruppen 30
Tabelle 4 Glucosewerte in mmol/L 31

1 Einleitung

1.1 Einführung in die Thematik

Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems sind laut statistischem Bundesamt die häufigste Todesursache in Deutschland. 33,3% aller Sterbefälle sind auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen zurückzuführen und stehen damit an der Spitze der Todesursachen in Deutschland noch vor den Todesfällen an Krebserkrankungen [1].
21,9% der an Herz-Kreislauf-Erkrankungen gestorbenen Personen litten an chronisch ischämischen Herzkrankheiten. Auf Platz zwei mit 13,3% liegt der akute Myokardinfarkt, und darauf folgt die Herzinsuffizienz mit 10,3% [2].
Die chronisch ischämische Herzkrankheit, auch koronare Herzkrankheit (KHK) genannt, wird durch eine Verengung der Koronararterien verursacht. Die KHK ist eine multifaktoriell bedingte Erkrankung der Intima, bei der die genaue Pathophysiologie noch nicht vollständig geklärt ist. Durch eine Ablagerung von Cholesterin bilden sich in der Intima lipidhaltige Plaques. Komplikationen dieser Plaques können zum einen die Entwicklung einer Stenose (KHK) sein, zum anderen kann es zu einer Ruptur der Plaques mit einem akuten Gefäßverschluss kommen (Myokardinfarkt) [3].
Es bestehen verschiedene Therapieansätze der KHK, die von der konservativen Therapie, über die medikamentöse bis hin zu invasiv revaskularisierenden Verfahren reichen [4].
Besteht eine akute Ischämie, hat die zügige Wiederherstellung des koronaren Blutflusses höchste Priorität, um Schäden, verursacht durch eine langanhaltende Ischämie, abzuwenden [5]. Paradoxerweise wurde festgestellt, dass eine Reperfusion zu weiteren Schäden am Myokard führt [6]. Dieses Phänomen wird als Ischämie- und Reperfusionsschaden (I/R-Schaden) beschrieben [7]. Um das Outcome von Betroffenen nach einem Myokardinfarkt, aber auch die postoperativen kardialen Komplikationen nach einer Herzoperation zu verbessern, liegt ein großer Forschungsschwerpunkt auf dem Gebiet der Kardioprotektion. Eine Möglichkeit kardioprotektive Effekte herbeizuführen, besteht in sogenannten Konditionierungsstrategien.
Im Folgenden wird gezielt auf die Ursache sowie den Mechanismus des I/R- Schadens eingegangen; es werden die Möglichkeiten der Konditionierungsstrategien beschrieben sowie die Grundlagen der vorliegenden Fragestellung erörtert.

1.2 Pathophysiologie des Ischämie-/Reperfusionsschaden

Eine Ischämie wird als pathologische Minderdurchblutung oder Unterbrechung der Durchblutung eines Gewebes oder eines Organs definiert. Eine langandauernde Ischämie führt zu irreversiblen Zellschädigungen, die nur durch eine rechtzeitige Reperfusion vermindert werden können [5].
Aus der wiederhergestellten Durchblutung resultiert paradoxerweise eine weitere Zellschädigung, die als I/R-Schaden beschrieben wird [7]. Der grundlegende Mechanismus beim I/R-Schaden ist bereits erforscht und wird im Folgenden erläutert.

Den Kardiomyozyten stehen zwei Möglichkeiten der Energiegewinnung zur Verfügung. Unter ausreichender Sauerstoffzufuhr gewinnt der Kardiomyozyt über den aeroben Weg der oxidativen Phosphorylierung ausreichend Adenosintriphosphat (ATP). Ist dies während der Ischämie nicht möglich, muss die Zelle auf die anaerobe Energiegewinnung zurückgreifen. Dabei wird zum einen wesentlich weniger ATP gebildet, zum anderen fallen vermehrt Nebenprodukte wie Lactat und Wasserstoff-Protonen (H^+-Protonen) an. Diese Nebenprodukte sind unter physiologischen Umständen nicht schädlich für die Zelle; da sie aber jetzt in einem großen Ausmaß gebildet werden, führen sie zu einer Senkung des intrazellulären pH-Wertes.
Dies hat wiederum zur Folge, dass der Natrium-Protonen-Austauscher (Na^+/H^+-Austauscher) aktiviert wird, um H^+ aus der Zelle und im Austausch Natrium (Na^+) in die Zelle zu schleusen. Durch den starken Anstieg von Na^+ in der Zelle ändert sich die Richtung des Natrium-Calcium-Austauschers (Na^+/Ca^{2+}-Austauschers) (*reverse mode*): Na^+ wird aus der Zelle und Calcium (Ca^{2+}) in die Zelle geschleust [8]. Dadurch steigt der Ca^{2+} Gehalt im Zytoplasma der Kardiomyozyten stark an.
Durch das Vorhandensein von Ca^{2+} im Zytoplasma kann sich der Querbrückenzyklus ausbilden, und es kommt zu einer Kontraktion. Wegen dem geringen Gewinn an ATP aus der anaeroben Glykolyse kann der Querbrückenzyklus nicht aufgelöst werden, und es kommt unter der Ischämie zu einer Dauerkontraktion der Herzmuskelzellen [9].
Der geringe ATP Gehalt in der Zelle führt des Weiteren dazu, dass ATP-abhängige Ionenkanäle wie die Natrium-Kalium-Pumpe (Na^+/K^+-ATPase) und die Calcium-Pumpe (Ca^{2+}-ATPase) am sarkoplasmatischen Retikulum (SR) ihre Funktionen nicht ausüben können. Damit werden die oben beschriebenen Effekte der Na^+- und Ca^{2+}-Anreicherung im Zytoplasma verstärkt.

Bei anhaltender Ischämie führt die Kontraktion zu Zytoskelettdefekten, die die Kardiomyozyten anfälliger für mechanische Reize machen und für die Auswirkung des Reperfusionsschadens bedeutend sind [9].
Auch in den Mitochondrien ist während der Hypoxie ein Ca^{2+}-Anstieg zu verzeichnen. Mitochondrien übernehmen eine Reihe von wichtigen Funktionen für die Zelle. Ihre zentralen Aufgaben sind neben der Energieversorgung der Zelle die Calciumhämostase, die Regulierung von Nekrose und Apoptose sowie die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) [10].
Das Mitochondrium besitzt drei entscheidende Transporter: den Ca^{2+}-Uniporter, der Ca^{2+} in das Mitochondrium aufnimmt, den Na^{+}/Ca^{2+}-Austauscher, der für den Ausstrom von Ca^{2+} aus dem Mitochondrium verantwortlich ist und die Permeabilitäts-Transitions-Pore (mPTP) [11]. Die mPTP ist eine nicht selektive Pore, die sich zwischen der äußeren und der inneren Mitochondrienmembran befindet und Moleküle < 1,5 Kilodalton (kDa) passieren lässt [12].
Steigt die intrazelluläre Ca^{2+}-Konzentration, kann das Mitochondrium über seinen Ca^{2+}-Uniporter Ca^{2+} in das Mitochondrium aufnehmen und dient so als Ca^{2+}-Puffer. Die Ca^{2+}-Kapazität des Mitochondriums ist jedoch begrenzt. Wie oben beschrieben, steigt unter Hypoxie die zytoplasmatische Ca^{2+}-Konzentration enorm an; ebenfalls kommt es zu einem *reverse mode* des Na^{+}/Ca^{2+}-Austauschers und führt damit zu einer Ca^{2+}-Überladung des Mitochondriums [11].
Die Ca^{2+}-Ionen begünstigen zum einen die strukturellen Veränderungen der inneren Mitochondrienmembran und damit zum anderen die Produktion von ROS [13].
Folglich spielt die Ca^{2+}-Konzentration eine entscheidende Rolle bei der irreversiblen Schädigung des Myokards.

Die Größe des Infarktareals ist maßgeblich von der Reperfusion abhängig, auch wenn es ein scheinbarer Widerspruch ist, dass eine erneute Durchblutung zusätzlichen Schaden verursacht.

Durch die Reperfusion erhält die Zelle erneut Sauerstoff und ausreichend Nährstoffe, um ihre aerobe Energiegewinnung rasch wieder aufzunehmen. Dadurch kann in kurzer Zeit viel ATP produziert werden [9].
Durch die wiedergewonnene ATP Produktion können nun die ATP-abhängigen Ionenkanäle ihre Funktion wieder aufnehmen. Die Ca^{2+}-ATPase am SR pumpt das

zytoplasmatische Ca^{2+} in das SR, in dem gleichzeitig über den Ryanodin- Rezeptor 2 eine Ca^{2+} induzierte Ca^{2+}-Abgabe in das Zytosol stattfindet [14].
Durch die wiedergewonnene ATP Synthese und die Ca^{2+}-Überladung der Zelle kommt es zu oszillatorischen Ca^{2+}-Verschiebungen und folglich zu Hyperkontraktionen [15] und Arrhythmien der Herzmuskelzelle [16].
Über sogenannte *Gap Junctions,* welche die Zellen untereinander verbinden [17], kommt es zur Ausbreitung der Hyperkontraktion und damit einhergehend zu einer Vergrößerung des Infarktareales.

Die hohe Sauerstoffverfügbarkeit in den Mitochondrien führt zur vermehrten Ausbildung von ROS, welche eine Schädigung mitochondrialer und zellulärer Proteine zur Folge hat [10]. Des Weiteren binden die hohen Ca^{2+}-Konzentrationen im Mitochondrium an Cyclophillin D an, wodurch eine irreversible Öffnung der mPTP induziert wird [18]. Der Eintritt von Wasser in das Mitochondrium führt zu einem Membrandefekt mit Austritt von Cytochrom c, welches über eine Caspasenaktivierung zur Apoptose der Zelle führt [19]. Je nach Ausmaß der mitochondrialen Dysfunktion hat der I/R-Schaden erhebliche Folgen auf die Funktion der Kardiomyozyten.

1.3 Konditionierung als Schutz vor I/R-Schaden

Konditionierung ist ein endogener Mechanismus, der den Körper vor Folgen einer langandauernden Ischämie schützen kann. Durch die Konditionierung werden körpereigene Prozesse angeregt, die die Zellen auf eine Ischämie vorbereiten und die Toleranz der Zelle gegenüber einer längeren Ischämie steigern [20].
Der Mechanismus der Konditionierung kann auf verschiedene Weise eingeleitet werden: es werden dabei die natürliche, die ischämische und die pharmakologische Konditionierung sowie die Prä- (PC) oder Postkonditionierung (PoC) unterschieden. Das Phänomen der Konditionierung kann in mehreren Organen beobachtet werden. Neben dem Herzen profitieren Niere [21], Leber [22], Darm [23], Harnblase und Gehirn [24] vom Prozess der Konditionierung. Diese kann dabei lokal auf Ebene des Herzens oder über distale Organe (Fernkonditionierung) erfolgen.

1.3.1 Die ischämische Präkonditionierung

Die ischämische Präkonditionierung (IPC) wurde erstmals 1986 von Murry et al. beschrieben [25].

Das Prinzip der IPC beruht darauf, das Herz kurzen Episoden subletaler Ischämiephasen auszusetzen, welche keinen irreversiblen Schaden zur Folge haben. Dadurch wird, wie oben beschrieben, die Toleranz des Myokards gegenüber einer langandauernden Ischämiephase erhöht.

Murry et al. führten 1986 die ersten experimentellen Versuche zur IPC an Hundeherzen durch. Hierbei durchliefen die Herzen als IPC-Stimulus jeweils viermal 5-minütige Phasen der Ischämie und Reperfusion mit anschließender 40-minütiger Index-Ischämie gefolgt von einer Reperfusionsphase. Durch die IPC konnte eine signifikante Abnahme der Infarktgröße von 75% im Vergleich zur Kontrollgruppe erzielt werden [25].

Die IPC kann in zwei Phasen eingeteilt werden. Das *first window of protection (FWOP)* ist etwa 2-3 Stunden nach der Ischämie aktiv [26,27] und unabhängig von der Proteinsynthese [28].

Das *second window of protection* (SWOP) beginnt in den ersten 24 Stunden nach dem Stimulus, ist von der Proteinsynthese abhängig und hält aufgrund der Synthese von Stressproteinen bis zu 3 Tagen an. Dadurch gewährt es einen verzögerten Schutz der Kardiomyozyten [26,28].

1.3.2 Die ischämische Postkonditionierung

Die ischämische Postkonditionierung (IPoC) ist eine weitere Möglichkeit, Organe vor dem I/R-Schaden zu schützen. Bei diesem Vorgehen sind die Organe bereits einer Ischämiephase ausgesetzt und erhalten zu Beginn der Reperfusion eine Konditionierung. Wie bei der IPC wird das betroffene Organ kurzen Zyklen von Okklusion und Reperfusion ausgesetzt [29]. Dadurch wird eine signifikante Abnahme der Infarktgröße und ein vergleichbarer Schutz wie durch die IPC gegen I/R-Schaden erzielt [29,30].

Ein entscheidender Vorteil der PoC im Vergleich zur PC ist die bessere Anwendung im Bereich von nicht vorhersehbaren Ereignissen, wozu der akute Myokardinfarkt

zählt. Durch die PoC kann auch nach einer stattgefundenen Ischämie ein kardioprotektiver Effekt mittels Konditionierung hervorgerufen werden [24].

1.3.3 Mechanismus der ischämischen Prä- und Postkonditionierung

Um die Wirkung der IPC und IPoC zu verstehen, ist der intrazelluläre Signalweg Gegenstand intensiver Forschung.

Dieser kann in drei Ebenen unterteilt werden. Die Trigger wie Adenosin, welches beim Abbau von ATP freigesetzt wird, Bradykinin aus dem vaskulären Endothel oder Mediatoren neuronalen Ursprungs, zum Beispiel Noradrenalin oder Opioide, stellen dabei die erste Ebene dar. Diese Stoffe werden während der ischämischen Konditionierung freigesetzt und können an G-Protein gekoppelte Rezeptoren (GPCR) der Zellmembran von Kardiomyozyten anbinden [31,32]. Im weiteren Verlauf des Signalweges werden hierdurch intrazelluläre Signalkaskaden mit Aktivierung verschiedener Mediatoren ausgelöst, welche die zweite Ebene der Kardioprotektion bilden [32].

Eine entscheidende Signalkaskade stellt dabei der *Reperfusion Injury Salvage Kinase Pathway (*RISK-Signalweg) mit seinen beiden wesentlichen Proteinkinasen der Phospoinositid-3-Kinase (PI3K) und *Extracellular-signal regulated Kinase 1/2* (ERK 1/2) dar. Bei der IPC wird der RISK-Signalweg hochreguliert und führt in den ersten Minuten der Reperfusion zu einer Phosphorylierung der beiden Proteinkinasen, wodurch der Schutz vor dem I/R-Schaden induziert wird [33].

Die Aktivierung von PI3K vermittelt die Phosphorylierung von Proteinkinase B (Akt). Akt führt zur Bildung von Stickstoffmonoxid (NO), welches wiederum in der Lage ist, die lösliche Guanylatcyclase (sGC) zu aktivieren, sodass Guanosintriphosphat (GTP) zu cyclischem Guanosin-3‘,5‘-Monophosphat (cGMP) gespalten wird. Durch diese Spaltung kann die Proteinkinase G (PKG) aktiviert werden, womit die Öffnung der mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanäle (mitoK_{ATP} Kanäle) (siehe Abb. 1) induziert wird [34].

Die Aktivierung von ERK 1/2 läuft wiederum über die Aktivierung von Mitogen-aktivierter Proteinkinase 1/2 (MEK 1/2) ab [35]. Beide Proteinkinasen des RISK-Signalweges laufen dabei in der P70S6 Kinase zusammen [24].

Diese Kinase hemmt die Glykogensynthase-Kinase-3-beta (GSK3ß), welche zur Öffnung der mitoK_{ATP} Kanäle auf der inneren Mitochondrienmembran führt. Durch

diese Öffnung kommt es zu einer Zunahme des K^+-Stromes in das Mitochondrium, was eine pH-Wert Steigerung sowie eine Verhinderung der Ca^{2+}-Überladung im Mitochondrium zur Folge hat. Durch die Alkalisierung im Mitochondrium können ROS gebildet werden. ROS reagiert mit Wasser (H_2O) zu Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und aktiviert seinerseits die Proteinkinase C (PKC). PKC bewirkt eine positive Rückkopplung, wodurch eine weitere Phosphorylierung sowie Öffnung von mitoK_{ATP} Kanälen zu Stande kommen und die Öffnung der mPTP gehemmt wird [34].
Die mPTP ist während der Ischämie geschlossen und öffnet sich normalerweise in den ersten Minuten der Reperfusion [28]. Bei einer langen Öffnungsdauer der mPTP kommt es entlang des osmotischen Gardienten zu einem Einstrom von Molekülen und H_2O in das Mitochondrium. Dies führt zu einer Schwellung des Mitochondriums und letztlich zur Ruptur der äußeren Mitochondrienmembran mit Freisetzung proapoptotischer Signale wie z.B. Cytochrom c [36,37]. Durch Hemmung der mPTP kann diesem Mechanismus entgegengewirkt werden.
Die Effektoren sind ursächlich für die Protektion und stellen die dritte Ebene in diesem Komplex dar: sie beinhalten die mitoK_{ATP} Kanäle, die Dämpfung der Ca^{2+}-Überlastung und vor allem die Hemmung der mPTP Öffnung [32].

Neben dem vorgenannten RISK-Signalweg ist der *Survival Activating Factor Enhancement* (SAFE) Signalweg von entscheidender Bedeutung. Er unterscheidet sich vom RISK Signalweg zum einen in der Aktivierung und den nachgeschalteten Signalkaskaden, zum anderen in seiner Wirkung. Durch proinflammatorische Mediatoren wie Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-11 (IL-11), sowie dem Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-α) wird die Janus-Kinase (JAK) aktiviert (32). Diese Aktivierung führt anschließend zur Aktivierung der *Signal Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT3), wodurch die Transkription im Zellkern stimuliert wird [38]. Die neu synthetisierten Proteine (z.B. die induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) oder die Cyclooxygenase-2 (COX-2)) gewährleisten den verzögerten Schutz der IPC [31].

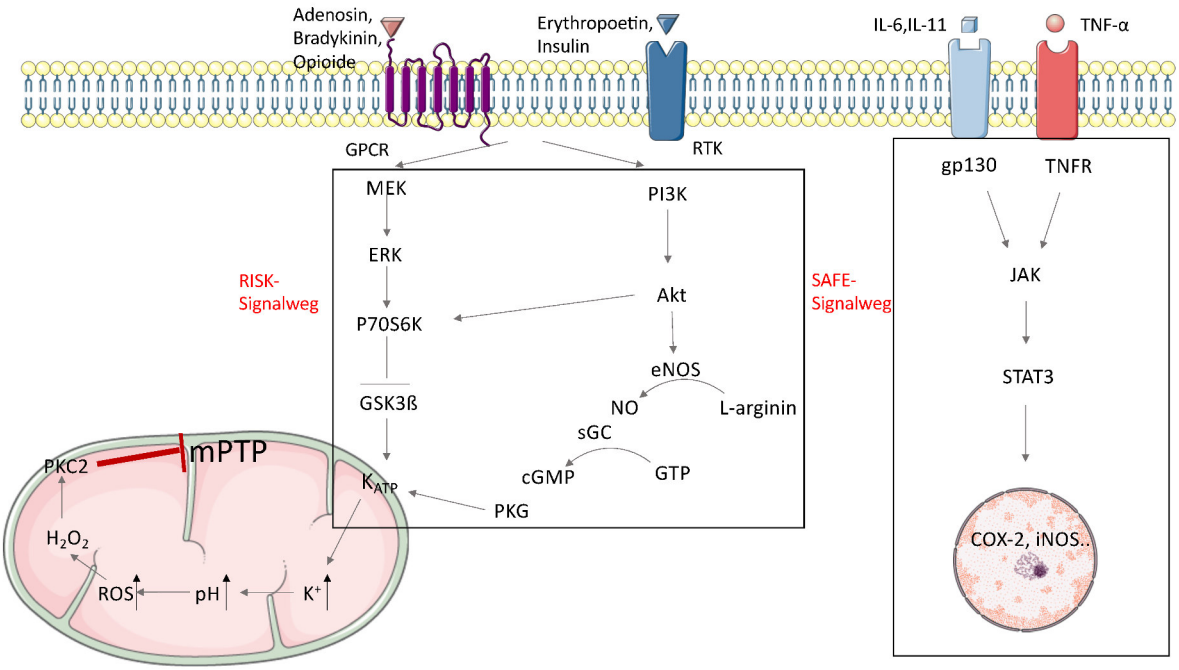

Abb. 1 Mechanismus der Prä- und Postkonditionierung

Durch die akute Ischämie werden stressinduzierte Stoffe freigesetzt, die an ihre G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR), Tyrosinkinase Rezeptor (RTK), TNF-alpha Rezeptor (TNFR) oder an das gp130 binden. Hierdurch wird der *Reperfusion-Injury-salvage Kinase pathway* (RISK-Signalweg) oder der *Survivor Activating Factor Enhancement pathway* (SAFE-Signalweg) aktiviert. Beide Wege konvergieren im Mitochondrium, führen zu einer Öffnung der mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanäle (mitoK_{ATP} Kanäle) und letztlich zur Inhibierung der Öffnung der mitochondrialen Permeabilitäts-Transitions-Pore (mPTP) (in Anlehnung an [34] und [35]). Teile der Abbildung wurden unter Verwendung von Bildern von *Servier Medical Art* gezeichnet. *Servier Medical Art* von Servier ist lizenziert unter einer *Creative Commons Attribution 3.0 Unported License* (https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/).

1.3.4 Pharmakologische Prä- und Postkonditionierung

Sowohl die IPC als auch die IPoC stellen ein invasives Verfahren dar, welches im klinischen Alltag Risiken mit sich bringt. Durch die Forschung konnte der oben beschriebene Signalweg der IPC und IPoC weitestgehend dargestellt werden und bietet so die Möglichkeit, auf verschiedenen Ebenen dieses Signalweges Einfluss zu nehmen.

Das Eingreifen auf Strukturen dieser Signalkaskaden durch exogene Gabe von Substanzen wird als pharmakologische Konditionierung beschrieben. Auch hier ist eine PC und PoC möglich.

Die verwendeten Substanzen greifen verschiedene intra- und extrazelluläre Zielstrukturen an. Zu den kardioprotektiven Substanzen gehören u.a. selektive und nicht- selektive Agonisten des beta-Adrenorezptors (ß-AR) wie Isoproterenol,

Dopamin oder Formoterol. Weitere Stoffe, die durch Aktivierung der Rezeptoren auf der Zellmembran ihre kardioprotektive Wirkung entfalten, sind Substanzen wie Adenosin, Opioide, Bradykinin, Katecholamine und Acetylcholin [39].
Neben den inhalativen Anästhetika, wie Isofluran [40] und Sevofluran [41], konnten auch für das Sedativum Dexmedetomidin (Dex) [42] kardioprotektive Effekte nachgewiesen werden.

1.4 Dexmedetomidin

Dex ist ein hochselektiver α2-Adrenorezeptor (α2-AR) Agonist mit sedierender, anxiolytischer, sympatholytischer und analgetischer Wirkung [43]. Die hypnotische Wirkung des Sedativums wird durch Bindung an zentrale prä- und postsynaptische α2-AR im Locus coeruleus ausgelöst [44,45] und ist dabei konzentrationsabhängig [46]. Der Mechanismus zum analgetischen Wirkprinzip ist noch nicht ausreichend geklärt. Es wird jedoch vermutet, dass die Wirkung über die Bindung von Dex an α2 Rezeptoren im Rücken- und Knochenmark vermittelt wird. Dies führt zu einer Hyperpolarisation und Reduktion von Botenstoffen wie Substanz P und Glutamat [45,47]. Dadurch kann der positive Effekt einer opioidsparenden Schmerztherapie genutzt werden. Zugleich hat Dex den Vorteil, dass die sedierten Personen leichter erweckbar sind und die Atmung nur minimal beeinflusst wird [48].
Dex wird hauptsächlich hepatisch eliminiert und durch Hydroxylierung und Glukuronidierung in inaktive Metabolite umgewandelt. Das Medikament ist für die intravenöse Verabreichung zugelassen, verteilt sich rasch im Körper und passiert sowohl die Blut-Hirnschranke als auch die Plazenta. [45]

Neben den oben genannten positiven Aspekten des Sedativums konnte für Dex auch eine kardioprotektive Wirkung gezeigt werden. Sowohl als PC und PoC induziert die Substanz eine signifikante Infarktgrößenreduktion [42,49], verbessert die Myokardfunktion [50] und ist mit einer geringeren Inzidenz von Vorhofarrhythmien assoziiert [51]. Interessanterweise scheint der kardioprotektive Effekt von Dex in der PoC dabei unabhängig vom Applikationszeitpunkt sowie der Dauer der Applikation zu sein [52].
Die Behandlung mit dem α2-AR Agonist induziert eine Aktivierung des PI3K/Akt- und ERK 1/2-Signalweges, Öffnung der mitoK_{ATP} Kanäle sowie die zunehmende

Phosphorylierung der endothelialen Stichstoffmonoxid-Synthase (eNOS). Durch die Aktivierung dieser *Pro-Survival-Kinasen* wird der oben beschriebene Signalweg angestoßen, und die kardioprotektive Wirkung wird letztlich durch die Hemmung der mPTP vermittelt [47,53].

1.5 Akute Hyperglykämie und Konditionierung

Sowohl die ischämische als auch die pharmakologische PC und PoC erwiesen sich in tierexperimentellen Studien als kardioprotektiv.

Neuere klinische Studien untersuchten die Wirksamkeit dieser Konditionierungsstrategien im klinischen Umfeld. Dazu wurden zwei große prospektive, doppelblinde, multizentrische und randomisierte Studien angelegt, die dazu dienten, unerwünschte kardiale und zerebrovaskuläre Ereignisse nach einer elektiven Herzoperation zu untersuchen. Die Wirksamkeit der *remote ischemic preconditioning* (RIPC) wurde zum einen bei Hochrisikopersonen (ERICCA-Studie) [54] und zum anderen bei Personen mit geringerem kardialen Risiko (RIPHeart-Studie) [55] untersucht.

Wider Erwarten zeigten die Ergebnisse dieser beiden Studien keinen Nutzen von RIPC im klinischen Alltag [54,55].

Auch wenn die experimentellen Ergebnisse vielversprechend erscheinen, bleibt die Übertragung kardioprotektiver Mechanismen in das klinische Setting weiterhin unbefriedigend [56].

Ein möglicher Einflussfaktor auf kardioprotektive Strategien ist das Auftreten verschiedener kardiovaskulärer Risikofaktoren bei Personen, die an einem Myokardinfarkt erkranken. Die ischämische Herzkrankheit ist eine multifaktoriell beeinflusste Erkrankung. So zählen unter anderem die arterielle Hypertonie, die Hyperlipidämie, der Diabetes mellitus und das Rauchen zu den Risikofaktoren [57]. Diese Komorbiditäten und auch altersbedingte Veränderungen sind mit Modifikationen auf molekularer Ebene assoziiert [58,59]. Die Veränderungen beeinflussen sowohl die Entwicklung des I/R-Schadens als auch die Wirksamkeit gegen ihn durch ischämische und pharmakologische PC und PoC [60,61].

In mehreren klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass Betroffene mit einem Typ 1 oder Typ 2 Diabetes mellitus (DM1 oder DM2) ein schlechteres Outcome nach einem akuten Myokardinfarkt haben [62–64]. Sie weisen eine erhöhte Morbidität und eine fast

doppelt so hohe Mortalität nach einem akuten Myokardinfarkt im Vergleich zu Nicht-Diabetikern/Nicht-Diabetikerinnen auf [65] und haben ein erhöhtes kardiovaskuläres Gesamtrisiko [66]. Diese erkrankten Personen könnten daher besonders von verbesserten Konditionierungsstrategien profitieren, insbesondere vor dem Hintergrund, dass die Prävalenz des DM2 stetig steigt [67].

In tierexperimentellen Studien zur Auswirkung eines DM auf den I/R-Schaden zeigten sich zum Teil kontroverse und nicht schlüssige Ergebnisse. In den frühen Phasen des DM zeigte sich eine erhöhte Resistenz gegenüber I/R-Schaden als in nicht-diabetischen Herzen, welche jedoch bei einem langanhaltenden DM verloren ging [68,69]. Die Wirksamkeit von kardioprotektiven Konditionierungsstrategien unter einem DM sind in tierexperimentellen [70,71] und klinischen Studien vermindert [61,72].

Vor diesem Hintergrund wurde bereits die Dex-induzierte PoC in Ratten mit DM2 untersucht. In der Studie von Cheng et al. (2019) konnte auch bei DM2 eine signifikante Infarktgrößenreduktion mittels Dex induziert werden. Die Aktivierung des PI3K/Akt-Signalweges und die dadurch hemmende Wirkung auf die Apoptose scheinen hierbei eine Schlüsselrolle zu spielen [73].

Der Einfluss einer akuten Hyperglykämie auf die kardioprotektive Wirkung von Dex wurde bisher jedoch noch nicht untersucht.

Unabhängig von einem DM beeinflussen auch erhöhte Blutzuckerspiegel das Mortalitäts- und Morbiditätsrisiko von Patienten mit einem akutem Myokardinfarkt negativ [74]. Die akute Hyperglykämie wird mit einer Vergrößerung des Infarktareals sowie mit einer Abnahme der linksventrikulären Funktion assoziiert [75].

In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass erhöhte Glukosewerte (wie auch der DM) die Aktivierung der mitoK_{ATP} Kanäle hemmt und so die Wirkung der IPC aufhebt [76]. Zudem führt eine Hyperglykämie zu einer erhöhten Inzidenz von Arrhythmien [77], verschlechtert die Endothelfunktion [78] und erzeugt zusätzlichen oxidativen Stress [79].

1.6 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit

Im experimentellen Setting konnte die kardioprotektive Wirkung von Dex nachgewiesen werden [42,49]. Die Übertragung dieser Ergebnisse in den klinischen Alltag erwies sich hingegen als schwierig [54,55,80]. Grund dafür können die verschiedenen Komorbiditäten der Betroffenen mit ischämischer Herzkrankheit beziehungsweise einem akuten Myokardinfarkt sein [61].

Der Einfluss einer akuten Hyperglykämie, wie sie bei vielen Erkrankten bei Einweisung ins Krankenhaus festgestellt wird [81], wurde auf die kardioprotektive Wirkung von Dex noch nicht untersucht. Dabei können die erhöhten Blutzuckerspiegel durch chronische metabolische Komorbiditäten auftreten [82] oder Teil einer stressbedingten Aktivierung des Sympathikus sein, wie es bei einem akuten Myokardinfarkt der Fall sein kann [83].

Das Ziel der geplanten Studie ist daher festzustellen, inwiefern eine akute Hyperglykämie einen Einfluss auf die kardioprotektive Wirkung durch die Dex-induzierte PC und PoC in einem *in vitro* I/R- Rattenherzenmodell hat.

2 Material und Methodik

2.1 Material

2.1.1 Langendorff-Anlage

Brückenverstärker	Bridge Amp, 2 Stück, FE221, Fa. AD Instruments, Oxford, England
Druckaufnehmer	P23XL, Fa. Gould Electronics, Bilthoven, Niederlande
Einhängethermostat	Julabo MW-4, Fa. Sigma-Aldrich, München, Deutschland
Guillotine	Kleintierdekapiator, Modell 7950, Fa. Ugo Basile, Comero, Italien
Injektionskanüle	Sterican Gr. 20, 0.4 mm x 20 mm, Fa. Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland
Offener Wasserbaderhitzer	Julabo EC-5, Fa. Sigma-Aldrich, München, Deutschland
Perfusatflasche	ISO SIMAX 5000 ml, Fa. BDL, Turnov, Tschechische Republik
Perfusatschlauch	Tygon Tube 2375 (3,20 mm Innendurchmesser), Fa. Saint-Gobain Akron, Ohio, USA
Perfusor	Perfusor® Space, Fa. Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland
Pump-Controller	STH Pump Controller INI 75, Fa. AD Instruments, Oxford, England
Schlauchpumpe	Miniplus 3 Peristaltic Pump MLI 72, Fa. AD Instruments, Oxford, England
Spezialschlauch für Schlauchpumpe	Zygon Tube R 3607 (3,18 mm Innendurchmesser), Fa. Saint-Gobain Akron, Ohio, USA
USB-Datenerfassung	PowerLab 8/35, Fa. AD Instruments, Oxford, England

2.1.2 Laborgeräte

BGA-Messgerät	ABL 700, Fa. Radiometer, Willich, Deutschland
Digitalthermometer	Temperaturmessgerät GTH 1150 C, Fa. Greisinger, Regenstauf, Deutschland
Laborwaage	BP 1200, Fa. Sartorius, Göttingen, Deutschland
pH-Meter	Digital pH-Meter Typ 646 #4498, Fa. Knick, Berlin, Deutschland
Präzisionswaage	SECURA 224-IS, Fa. Sartorius, Göttingen, Deutschland

2.1.3 Pharmaka

Dexmedetomidin	CAS-Nr. 145108-58-3, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Heparin-Natrium Injektionslösung	CAS-Nr. 9041-08-1 25.000 I.E., Fa. Ratiopharm, Ulm, Deutschland
Mannitol	CAS-Nr. 69-65-8, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Pentobarbital-Injektionslösung	CAS-Nr. 76-74-4 Narcoren ® für Tiere, Fa. Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland

2.1.4 Gase

Carbogen (5% CO_2, 95% O_2)	Fa. Linde AG, München, Deutschland
Stickstoff 5.0 (N_2)	Fa. Linde AG, München, Deutschland

2.1.5 Chemikalien

Calciumchlorid ($CaCl_2$)	CAS-Nr. 1004352-4, Reinheit ≥ 98%, Fa. Merck, Eurolab GmbH, Darmstadt, Deutschland
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	CAS-Nr. 60-00-4, Reinheit ≥ 98,5 %, Fa. Sigma- Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Formaldehyd 37%	CAS-Nr. 50-00-0, Reinheit ≥ 37%, Fa. Merck, Eurolab GmbH, Darmstadt, Deutschland
Glukose (D-Glukose)	CAS-Nr. 14431-43-7, Reinheit ≥ 99,5%, Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumchlorid (KCL)	CAS-Nr. 7447-40-7, Reinheit ≥ 99%, Fa. Merck, Eurolab GmbH, Darmstadt, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	CAS-Nr. 7778-77-0, Reinheit ≥ 99%, Fa. Merck, Eurolab GmbH, Darmstadt, Deutschland
Laktat (L-Laktat-Natriumsalz)	CAS-Nr. 867-56-1, Reinheit ≥ 99%, Fa. Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Magnesiumsulfatheptahydrat ($MgSO_4 + 7\ H_2O$)	CAS-Nr. 10034-99-8, Reinheit ≥ 99%, Fa. Merck, Eurolab GmbH, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl)	CAS-nr. 7647-14-5, Reinheit ≥ 99,5 %, Fa. Prolabo, Leuven, Belgien
Natriumhydrogencarbonat ($NaHCO_3$)	CAS-Nr. 144-55-8, Reinheit ≥ 99,5%, Fa. Fluka-Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Triphenyletrazoliumchlorid (TTC)	CAS-Nr. 298-96-4, Reinheit ≥ 99%, Fa. Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland

2.1.6 Computer und Software

Aufzeichnungssoftware	LabChart© Pro v. 8.0.5 ADInstruments Pty Ltd, Castle Hill, Australia
Flachbettscanner	CanoScan® LIDE 700F, fa. Canon, Krefeld, Deutschland
Planimetriesoftware	SigmaScan© v. 5 SPSS Inc., San Jose CA, USA
Statistiksoftware	GraphPad Software V7.01, San Diego, CA, USA

2.1.7 Der Krebs-Henseleit-Puffer

In der vorliegenden experimentellen Studie wurde ein modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) verwendet [84]. Die genaue Zusammensetzung dieser Nährlösung kann aus der untenstehenden Tabelle entnommen werden. Sie orientiert sich an der Konstellation von Elektrolyten im Blutplasma und soll dieses bei der retrograden Perfusion der Aorta ersetzen. Der KHP diente neben der Nährstoffversorgung zusätzlich als Transportmedium für das Medikament Dex [85]. Um Elektrolytschwankungen und Kristallisierungen zu verhindern, wurde die Lösung auf Basis von destilliertem Wasser jeden Tag frisch hergestellt. Während des Versuchsablaufes wurde der Puffer kontinuierlich mit Carbogen, bestehend aus 95% Sauerstoff (O_2) und 5% Kohlendioxid (CO_2), begast [85]. Vor jeder Nutzung wurde mittels Blutgasanalysegerät (BGA Gerät) die Zusammensetzung, der pH-Wert und die Temperatur des Puffers überprüft (pH 7,4; Temp. 37°C), damit bei jedem Versuchsdurchlauf die gleichen Bedingungen gegeben waren.

Tabelle 1 Zusammensetzung des modifizierten Krebs-Henseleit-Puffers

Substanz	Summenformel	MW	Konzentration [mM]
Natriumchlorid	NaCl	58,44	118
Kaliumchlorid	KCl	74,55	4,7
Magnesiumsulfatheptahydrat	$MgSO_4 + 7H_2O$	246,48	1,2
Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	136,09	1,2
Natriumhydrogencarbonat	$NaHCO_3$ [$CHNaO_3$]	84,01	25
Ethylendiamintetraacetat	EDTA	292,2	0,5
D-Glukose	Glucose	180,16	11
L-Laktat Natriumsalz	Laktat	112,1	1
Calciumchlorid	$CaCl_2$	110,99	2,25

mM = Millimolar; MW = Molecular Weight

2.1.8 Versuchstiere

Für die Versuchsdurchführung liegt von der zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) des Universitätsklinikums Düsseldorf eine Genehmigung mit der Projektnummer O 27/12 vor.

Bei der Durchführung wurden junge, männliche WISTAR-Ratten (Fa. Janvier, Laval, Frankreich) in einem Alter von zwei bis drei Monaten genutzt. Insgesamt wurden 50 Versuchstiere verwendet [85].

Die Tierhaltung erfolgte unter konstanten, kontrollierten Bedingungen.

Als Standardeinstreu wurde entkeimtes und entstaubtes Weichholzgranulat Lignocel® 3-4 der Firma J. Rettenmaier und Söhne GmbH & Co. KG aus Rosenberg, Deutschland eingesetzt.

Die Versorgung der Tiere wurde *ab libitum* durch ein spezielles Futtermittel für Ratten und Mäuse (R/M-H V1 534-0 10 mm Pellets, Fa. Sniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) sowie entkeimtes Trinkwasser, welches durch Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 angesäuert wurde, gewährleistet.

Für die Versuchsdurchführung wurden lediglich gesunde Tiere verwendet, die regelmäßigen tierärztlichen Kontrollen unterzogen wurden.

2.1.9 Dexmedetomidin

Die genutzte Substanz Dex stammte von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland). Die Summenformel lautet $C_{13}H_{16}N_2$, woraus sich eine molare Masse von 200,28 g/mol ergibt. Dex ist ein α2-Rezeptoragonist, der neben seiner

sedierenden Wirkung angstlösende und muskelrelaxierende Eigenschaften aufweist [43].

Das Sedativum wurde zunächst in doppelt destilliertem Wasser gelöst und dann mittels KHP verdünnt, sodass sich eine Spritzenkonzentration von 30 nM ergab. Bei einer Dosierungsrate von 1% des Koronarflusses wurde eine Endkonzentration von 3 nM Dex am Herzen erreicht. Diese Konzentration orientierte sich an vorangegangenen Versuchen.

3 nM ist die niedrigste protektive Konzentration von Dex *in vitro* sowohl als PC wie auch als PoC [42,52].

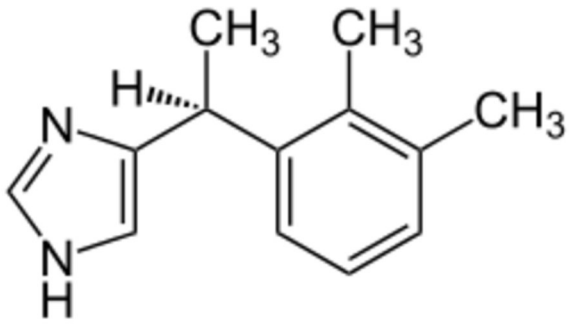

Abb. 2 Dexmedetomidin

Strukturformel von Dexmedetomidin

2.2 Methodik

2.2.1 Präparation der Versuchstiere

Für die Umsetzung der Fragestellung dieser experimentellen Studie wurde das etablierte Langendorff-Modell für isolierte Tierherzen ausgewählt [86].

Die jungen, männlichen WISTAR-Ratten wurden vor dem Versuch gewogen und anschließend mittels einer intraperitonealen (i.p.) Injektion von 80 mg/kg Körpergewicht Pentobarbital (Narcoren®, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) anästhesiert [85]. Zusätzlich erhielten die Tiere eine Antikoagulation mit Heparin (Heparin-Natrium 25000 IE, Ratiopharm, Ulm, Deutschland), um einer möglichen Thrombenbildung entgegenzuwirken. Nach Ausbleiben der Schutzreflexe lag eine ausreichende Sedierung vor, um die Tiere mittels Guillotine (Biological Research Apparatus, UGO BASILE S.R.L., Modell 7959, Serien-Nr.: 04501712070) zu dekapitieren. Nach erfolgreicher Dekapitation fand eine zügige Thorakotomie mit

Perikardinzision statt. Das Herz wurde vorsichtig freipräpariert sowie am Gefäßstamm abgesetzt. Anschließend wurde das Herz entnommen und in ein Reagenzglas mit 0,9 % Kochsalzlösung gelegt, um das Eindringen von Luft in die Herzkranzgefäße zu verhindern [87].

Das Herz wurde über die Aorta ascendens an die Langendorff-Anlage kanüliert, mit einer Naht an die Kanüle festgenäht und anschließend retrograd mit dem modifizierten KHP (siehe Tabelle 1) perfundiert. Beim Kanülieren der Aorta ascendens ist das vorsichtige Einführen der Kanüle von großer Bedeutung, um eine mechanische Schädigung von Aorta und Aortenklappe zu vermeiden und die richtige Platzierung der Kanüle über der Öffnung der Koronararterienostien zu gewährleisten [87].

Der Vorgang von Dekapitation bis zur retrograden Perfusion des Herzens wurde innerhalb von 3 Minuten durchgeführt, um Hypoxieschäden und eine IPC so gering wie möglich zu halten.

2.2.2 Die Langendorff-Anlage

Nach erfolgreicher Präparation und vorsichtigem Anbringen des Herzens an die Langendorff-Anlage wurde dieses mit dem oben beschriebenen modifizierten KHP perfundiert (siehe Tabelle 1). Das Perfusat wurde dafür in einem Wasserbad auf eine konstante Temperatur von 37°C erhitzt. Neben dem Wasserbad gewährleisteten zusätzliche Wasserkammern, dass die Temperatur des Puffers konstant aufrechterhalten wurde und die Temperatur der Lösung bei Erreichen des Herzens nahe der Körpertemperatur lag. Das Herz war während des Versuches von einer Warmluftkammer umgeben. Diese schützte es vor mechanischen Reizen und verhinderte eine Auskühlung. Neben der Erwärmung des Puffers wurde diesem kontinuierlich Carbogen beigeführt, um die physiologischen Bedingungen der Perfusionslösung sicherzustellen.

Das Herz wurde mit einem konstanten Druck von 80 mmHg perfundiert [85]. Der Perfusionsdruck wurde durch die Höhe der Wassersäule bestimmt. Dem Herzen waren über einen Drei-Wege-Hahn Perfusoren zur Applikation von Substanzen vorgeschaltet. Zum Erfassen der Messwerte wurde durch einen Schnitt am linken Herzohr ein flüssigkeitsgefüllter Ballon in den linken Ventrikel eingeführt. Nach erfolgreicher Platzierung konnte der Ballon mittels einer Spritze schrittweise mit Kochsalz gefüllt werden, bis ein linksventrikulärer enddiastolischer Druck von ca. 4-6

mmHG eingestellt war. Mittels eines Druckaufnehmers am Ballon konnten die hämodynamischen Parameter mit PowerLab in einer Abtastrate von 2000 Hz in LabChart aufgezeichnet und graphisch dargestellt werden. Zu diesen Parametern gehörten die Herzfrequenz (HF), die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max.), der linksventrikuläre enddiastolische Druck (*left ventricular end-diastolic pressure*, LVEDP) und der linksventrikuläre endsystolische Druck (*left ventricular end-systolic pressure*, LVESP), woraus die linksventrikuläre Druckentwicklung (*left ventricular developed pressure,* LVDP, LVESP-LVEDP) berechnet werden konnte. Der Koronarfluss (KF) wurde manuell durch Sammeln von Perfusat in einem definierten Zeitraum (ml/Minute) gemessen. Dieses Perfusat wurde zudem genutzt, um die Glukosekonzentration zu bestimmen. Die Glukosewerte wurden zur *baseline* und den fest definierten Messzeitpunkten der hämodynamischen Parameter untersucht.

Die hämodynamischen Parameter wurden zu fest definierten Zeitpunkten ermittelt [85]. Arrhythmische Herzaktionen und Artefakte wurden aus der Auswertung ausgeschlossen. Durch Unterbindung des KF entwickelte das Herz Myokardschäden, welche sich im linken Ventrikel als ischämische Kontrakturen widerspiegelten. Das Kontrakturmaximum in mmHg und der dazugehörige Zeitpunkt in Minuten ab Ischämiebeginn wurden erfasst und ausgewertet.

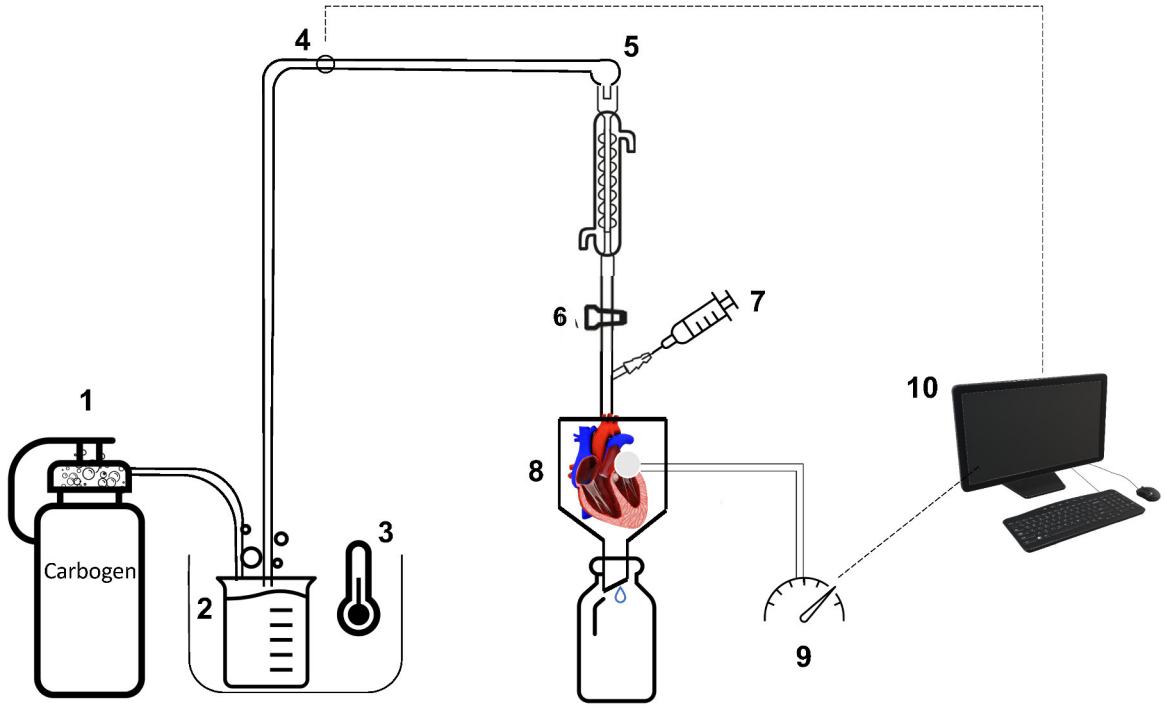

Abb. 3 Die Langendorff-Anlage

Vor Beginn der Experimente wurde mittels Druckaufnehmer das System geeicht und kontrolliert, sodass zu jedem Zeitpunkt eine druckkonstante Perfusion der Herzen mit 80 mmHg gewährleistet werden konnte. Der mit Carbogen (1) begaste Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) wurde in einem Wasserbad (2) mit Einhängethermostat (3) auf konstante 37°C erhitzt. Durch die Schlauchpumpe (4) wurde der Puffer in das Schlauchsystem befördert. Im Schlauchsystem befindliche Luftblasen wurden mittels Luftfalle (5) entfernt. Einem dem Herzen vorgeschalteter Dreiwegehahn (6) regulierte die Perfusion der Herzen. Über den Perfusor (7) erfolgte die Applikation von Dexmedetomidin (Dex). Das Herz wurde retrograd über die Aorta perfundiert und war von einer Wärmekammer (8), die die Umgebungstemperatur des Herzens konstant gehalten hat, umgeben. Ein im linken Vorhof eingeführter Ballon mit Druckaufnehmer (9) zeichnete die hämodynamischen Parameter auf. Der Druckaufnehmer und die Schlauchpumpe waren mit der PowerLab-Station (10) verbunden.

2.2.3 Das Versuchsprotokoll

Im nächsten Absatz wird das Versuchsprotokoll der Studie beschrieben. Hierfür wurden 50 Rattenherzen in 7 Gruppen (n= 6-8 pro Gruppe) randomisiert. Nach Entnahme und Anbringung der Herzen an die Langendorff-Anlage durchliefen alle Gruppen eine 15-minütige *baseline*. Diese Zeit diente zur Anpassung der Herzen an die neue Umgebung sowie zur Stabilisierung der kardialen Funktion [87]. Danach durchliefen alle Herzen eine 15-minütige Behandlungsphase, eine 33-minütige Ischämiephase sowie eine 60-minütige Reperfusionsphase, in der eine zweite Behandlungsphase eingeschlossen war. Während der Behandlungsphasen wurden den Herzen 3 nM Dex oder KHP als Kontrolle verabreicht. Diese Konzentration ergab

sich aus vorangegangenen Dosisfindungsstudien. 3 nM ist die niedrigste protektive Konzentration von Dex *in vitro* sowohl als PC wie auch als PoC [42,52].

Der Einsatz von Dex in der ersten Behandlungsphase wird als PC beschrieben. In der PC erhielten die Herzen für 5 Minuten die oben beschriebene Dosis des Medikamentes, gefolgt von einer 5-minütigen Auswaschphase. Dieses Vorgehen orientierte sich an zuvor durchgeführten Studien. Hierbei konnte mit 3 nM Dex die stärkste kardioprotektive Wirkung detektiert werden [42]. Eine Erhöhung der Dex Dosis oder eine verlängerte PC hatten keinen weiteren kardioprotektiven Effekt [42]. Herzen, die während der ersten Behandlungsphase keine PC mit dem Sedativum erfuhren, erhielten in dieser Zeit KHP als Kontrollvehikel.

Nach erfolgreichem Durchlaufen der ersten Behandlungsphase traten alle Herzen in eine 33-minütige Phase der globalen Ischämie ein. Während dieser Phase wurde die Perfusion mit KHP gestoppt; Die Herzen waren dabei von einer Wärmekammer (37°C) mit Stickstoff begastem KHP umgeben, um einer Auskühlung der Herzen vorzubeugen und die Diffusion von Sauerstoff in das Herzgewebe zu vermeiden. Kurz vor Ende der Ischämiephase wurde die Wärmekammer entleert und nach exakt 33 Minuten Ischämie wurde die Perfusion der Koronararterien wieder hergestellt. Mit dem Öffnen des Drei-Wege-Hahns und somit wieder hergestellter Perfusion begann die 60-minütige Reperfusionsphase. In den ersten 10 Minuten der Reperfusion fand die Applikation von Dex oder KHP statt. Bei der PoC mit dem Sedativum wurde ebenfalls die Konzentration von 3 nM verwendet. Die Studie von Bunte et al. im Jahr 2020 zeigte, dass unter 3 nM die stärkste kardioprotektive Wirkung von Dex in der PoC erreicht wurde [52]. Die Entscheidung die PoC in den ersten 10 Minuten der Reperfusion durchzuführen, unterlag den Ergebnissen der zuvor beschriebenen und weiteren Studien [90]. Nach Beendigung der Versuche wurden die Herzen vorsichtig von der Langendorff-Anlage getrennt, und das Herznassgewicht bestimmt. Danach wurden die Herzen bis zum Färbevorgang bei -20˚C eingefroren.

Neben dem zeitlichen Ablauf der Versuchsreihe zeigt das Versuchsprotokoll die verschiedenen Subgruppen mit ihren unterschiedlichen Behandlungsphasen (siehe Abb. 4).

Subgruppe-Hyperglykämie

Diese Subgruppe wurde durch die Herzen gebildet, die mit Beendigung der *baseline* kontinuierlich mit KHP plus zusätzlicher 11 mmol/L Glukosekonzentration perfundiert

wurden. Durch die bereits enthaltenen 11 mmol/L Glukose aus dem KHP und der zusätzlich verabreichten 11 mmol/L Glukose wurden diese Herzen also letztlich mit 22 mmol/L Glukose perfundiert. Diese Konzentration wurde auf Grundlage vorangegangener Forschungsergebnisse [91,92] und Studien unserer eigenen Arbeitsgruppe ausgewählt [41,93]. Durch die vorhandene Glukosekonzentration wurden die Herzen während des Versuches einer hyperglykämen Umgebung ausgesetzt, so dass der Einfluss einer akuten Hyperglykämie auf die kardioprotektive Wirkung von Dex untersucht werden konnte [85]. Die Flussrate des Perfusors wurde aus dem KF des Herzens bestimmt und betrug 1 % des KF.

Con HG: Die Herzen wurden durchgängig mit 22 mmol/L Glukose perfundiert und erhielten während der PC und PoC KHP als Vehikel.
DexPC HG: Als präkonditionierenden Stimulus (PC) erhielten die Herzen während der Hyperglykämie (HG) 5 Minuten lang 3 nM Dex.
DexPoC HG: Die Herzen wurden für die PoC für 10 Minuten mit 3 nM Dex unter hyperglykämen Bedingungen (HG) behandelt.

Subgruppe-Normoglykämie
Die zweite Subgruppe durchlief die exakt gleichen Behandlungsphasen wie die Erste, unterschied sich jedoch in der Auswahl des Perfusats. Neben dem Standard KHP erhielt sie Mannitol anstelle von zusätzlicher Glukose. Die zusätzliche Gabe von 11 mmol/L Mannitol ergaben zusammen mit dem bereits vorhandenen 11 mmol/L Glukose aus dem KHP eine Monosaccharidkonzentration von 22 mmol/L am Herzen. Die Flussrate des Perfusors wurde wieder abhängig vom KF des Herzens eingestellt und betrug 1 % der KF. Durch die Verwendung von Mannitol konnte in allen Gruppen eine vergleichbare Osmolarität gewährleistet werden. Diese Subgruppe wurde als normoglykäme Gruppe deklariert, da sie ausschließlich die bereits enthaltenen 11 mmol/L Glukose aus dem KHP erhielt und diese die am häufigsten verwendete Konzentration im Langendorff-Modell des isoliert perfundierten Herzens ist [87].

Con NG: Die Herzen erhielten unter normoglykämen Bedingungen (NG) während der PC und PoC lediglich KHP als Vehikel.
DexPC NG: Diese Herzen wurden vor der Ischämie (PC) für 5 Minuten mit 3 nM Dex unter normoglykämen Bedingungen (NG) behandelt.

DexPoC NG: Die Herzen wurden in der PoC für 10 Minuten mit 3 nM Dex unter normoglykämen Bedingungen (NG) behandelt.

Die Applikation von Glukose und Mannitol wurde 5 Minuten vor Beginn der 1. Behandlungsphase gestartet, um hyperglykäme bzw. normoglykäme Umgebungen zum Zeitpunkt der Dex Gabe zu gewährleisten.

Zuletzt gab es eine reine Kontrollgruppe (Con KHP), in der die Herzen lediglich mit dem standardisierten KHP (ohne zusätzliche Glukose oder Mannitol) perfundiert wurden. In dieser Gruppe konnte im Vergleich mit der normoglykämen bzw. hyperglykämen Kontrollgruppe (Con NG bzw. Con HG) die alleinige Wirkung von Mannitol bzw. Glukose ohne Konditionierungsstrategie auf die Infarktgröße dargestellt werden.

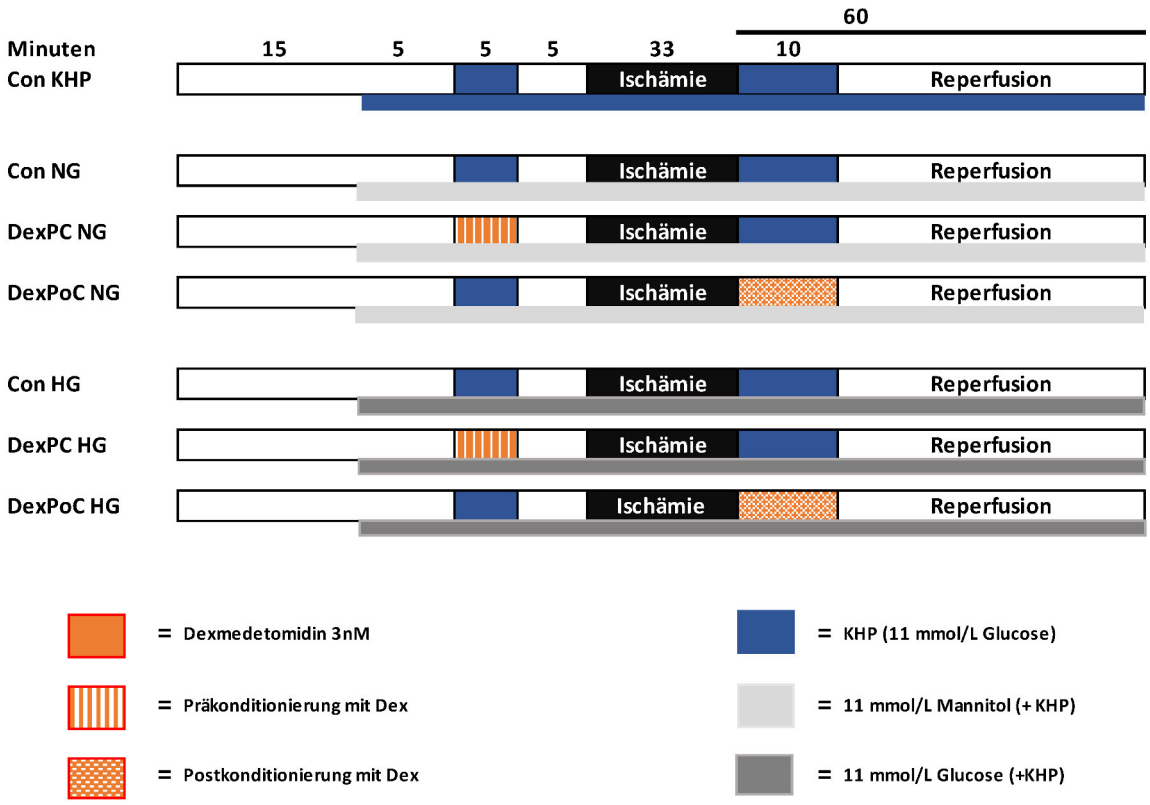

Abb. 4 **Das Versuchsprotokoll**

Alle Herzen durchliefen eine 15-minütige *baseline,* gefolgt von einer 15-minütigen Behandlungsphase, einer 33-minütigen Ischämiephase sowie eine 60-minütigen Reperfusionsphase, in der eine zweite Behandlungsphase eingeschlossen war. Die Kontrollgruppen (Con) erhielten während der Behandlungsphasen lediglich Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) als Vehikel, alle anderen Gruppen wurden während dessen mit 3 nM Dexmedetomidin (Dex) behandelt. Dex wurde entweder vor der Ischämie (PC) oder zu Beginn der Reperfusion (PoC) appliziert. Die Gruppen wurden in normoglykäm (NG) und hyperglykäm (HG) unterteilt (in Anlehnung an [85]).

2.2.4 TTC-Färbung der Herzen

Nach Beendigung der Versuchsreihe wurden die Herzen vorsichtig von der Langendorff-Anlage abgenommen und bei -80˚C eingefroren. Anschließend wurden sie vom Apex bis zur Basis in 8 Scheiben mit einer Dicke von ca. 2 mm geschnitten.

Zur Darstellung der Infarktareale wurde der Färbevorgang mit Triphenyltetrazoliumchlorid-(TTC)-Lösung gewählt. Dafür wurden die 2 mm dicken Herzscheiben für 15 Minuten in eine 0,75% TTC-Lösung bei einem pH-Wert von 7,42 und einer Temperatur von 37˚C in einem Wärmebad inkubiert.

In vitalem Gewebe kann die farblose TTC-Lösung durch eine Redox-Reaktion mittels Dehydrogenasen zu dem roten Farbstoff Formazan reduziert werden. Durch diesen Vorgang färben sich nur die vitalen, Dehydrogenase-enthaltenden Zellen rot, und die nekrotischen Areale nehmen lediglich die farblose TTC-Lösung auf und verbleiben weiß [94].

Nach Abschluss des Färbevorgangs wurden die Scheiben über Nacht bei 20˚C und einem pH-Wert von 7,4 in 4% Formaldehydlösung fixiert. Nachfolgend wurden die Herzen mittels eines Fotoscanns digitalisiert. Die Planimetrie erfolgte mit der Software SigmaScan durch einen verblindeten Untersucher. Um vitales und infarziertes Gewebe leichter voneinander zu differenzieren, wurden die Farbsättigung und die Kontrastierung der eingescannten Bilder digital um 30% erhöht. Der Untersucher ermittelte nun zuerst die Fläche des infarzierten Areals, um diese anschließend mit der Gesamtfläche des linken Ventrikels ins Verhältnis zu setzen (AAR= *Area at Risk*). Dieses Prinzip wurde bei jeder Herzscheibe angewandt, um die durchschnittliche Infarktgröße eines Herzens zu ermitteln.

2.2.5 Statistische Auswertung

Der primäre Endpunkt dieser experimentellen Studie lag in der Infarktgröße. Mithilfe der Software GraphPad StatMate^{R} (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) konnte die benötigte Stichprobengröße ermittelt werden. Um einen Unterschied der Infarktgröße von 25% mit einer Power von 80% bei einem $\alpha < 0,05$ zu erkennen, wurde eine Gruppengröße von n=7 benötigt. Die mittlere Abweichung von 25% mit einer Standardabweichung von 15% basierte auf Ergebnissen vorangegangener Arbeitsgruppen zum Thema Kardioprotektion.

Die statistische Auswertung erfolgte auf Basis der GraphPad Prism Software, Version 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Die Analyse der Infarktgrößen wurde durch eine einfaktorielle ANOVA mit Tukey´s post hoc Test durchgeführt.

Eine Zwei-Wege ANOVA gefolgt vom Tukey´s post hoc Test erfolgte zum Vergleich der hämodynamischen Parameter und der Glukosespiegel zwischen den Gruppen sowie zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb einer Gruppe.

Alle Daten wurden als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt. Ein $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

3.1 Tier- und Herzcharakteristika

In der vorliegenden Versuchsreihe wurde in jeder Gruppe das Körpergewicht sowie das Herznassgewicht der Versuchstiere in Gramm (g) gemessen. Ferner wurden der Zeitpunkt (in Minuten) und die Höhe (in Millimeter-Quecksilbersäule= mmHg) der maximal ischämischen Kontraktur aufgezeichnet.

Die Auswertung dieser vier Messparameter zeigte innerhalb einer Gruppe und zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen keinen signifikanten Unterschied (Tabelle 2).

Tabelle 2 Tier- und Herzcharakteristika

Versuchsgruppe	Intervention	n	Körpergewicht (g)	Herznassgewicht (g)	Zeitpunkt der max. ischämischen Kontraktur (min)	Höhe der max. ischämischen Kontraktur (mmHg)
KHP	Con	7	295 ± 14	1.17 ± 0.07	17 ± 3	107 ± 16
NG	Con	6	299 ± 17	1.23 ± 0.04	17 ± 1	76 ± 21
	DexPC	7	299 ± 15	1.25 ± 0.09	16 ± 2	70 ± 14
	DexPoC	8	308 ± 26	1.21 ± 0.05	16 ± 3	71 ± 17
HG	Con	8	301 ± 10	1.26 ± 0.04	15 ± 1	107 ± 26
	DexPC	6	309 ± 21	1.28 ± 0.03	17 ± 2	98 ± 16
	DexPoC	8	306 ± 19	1.25 ± 0.06	14 ± 2	102 ± 14

Alle Werte sind als Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. KHP= Krebs-Henseleit-Puffer; Con= Kontrollgruppe; NG= Normoglykämie; HG= Hyperglykämie; Dex= Dexmedetomidin; PC= Präkonditionierung; PoC= Postkonditionierung; n= Anzahl (in Anlehnung an [85]).

3.2 Infarktgrößen

In der nachfolgenden Abbildung (Abb. 5) sind die Infarktgrößen der einzelnen Gruppen grafisch dargestellt. Die Infarktgröße wird in Prozent (%) des Risikogebietes angegeben.

Die Infarktgröße der Kontrollgruppe (Con), die lediglich mit KHP perfundiert wurde, betrug 56 ± 7%. Diese Gruppe diente als Kontrollgruppe.

Die hyperglykäme Kontrollgruppe (Con HG) wies eine Infarktgröße von 56 ± 9% auf und unterschied sich somit nicht signifikant von der Infarktgröße der KHP Kontrollgruppe (Con HG ns vs. Con KHP). Die Behandlung mit Dex in der PC unter hyperglykämen Bedingungen (DexPC HG) zeigte eine signifikante Reduktion des Infarktareales auf 35 ± 3% ($p < 0,0001$ vs. Con HG). Die Behandlung mit Dex in der PoC hatte hingegen keine Auswirkungen auf die Infarktgröße (DexPoC HG: 57 ± 9%, ns vs. Con HG).

Neben den drei hyperglykämen Gruppen präsentiert die untenstehende Abbildung (Abb. 5) auch die Infarktgrößen der drei normoglykämen Gruppen, die zum Ausgleich der Osmolarität 11 mmol/L Mannitol erhielten.

Die Kontrollgruppe, der mit Mannitol perfundierten Rattenherzen (Con NG), zeigte mit 37 ± 3% eine signifikante Infarktgrößenreduktion verglichen mit der KHP Kontrollgruppe ($p = 0,0001$ vs. Con KHP).

Die Applikation von Dex in der PC (DexPC NG) hob die Mannitol-induzierte Infarktgrößenreduktion vollständig auf (DexPC NG: 55 ± 7%, $p = 0,0003$ vs. Con NG). Im Vergleich dazu hatte die Applikation von Dex in der PoC (DexPoC NG) keinen Einfluss auf die Mannitol-induzierte Infarktgrößenreduktion (DexPoC NG: 38 ± 4% ns vs. Con NG).

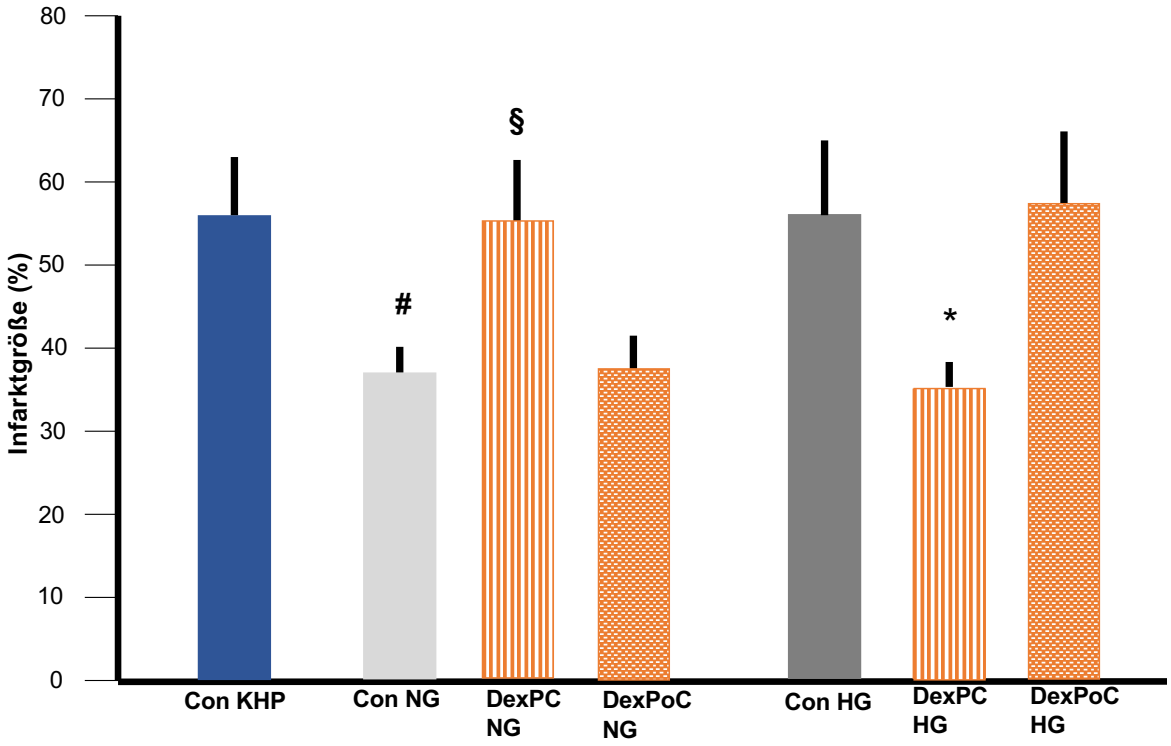

Abb. 5 Infarktgrößen

Dargestellt sind die Infarktgrößen in Prozent (%) des Risikogebietes der verschiedenen Versuchsgruppen. Aufgezeichnet wurden die Kontrollgruppen (Con) und die Gruppen, die mit Dexmedetomidin (Dex) behandelt wurden. Hierbei wird zwischen den normoglykämen (NG) und den hyperglykämen (HG) Gruppen, sowie der Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) Kontrollgruppe (Con KHP) unterschieden. PC steht für die Behandlung mit Dex in der Präkonditionierung und PoC für die Behandlung mit Dex in der Postkonditionierung. Alle Werte sind als Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. *$p < 0,05$ vs. Con HG und DexPoC HG, #$p < 0,05$ vs. Con KHP, §$p < 0,05$ vs. Con NG und DexPoC NG (in Anlehnung an [85]).

3.3 Kardiale Funktion

In der untenstehenden Tabelle (Tabelle 3) sind die hämodynamischen Daten der Versuchsreihe aufgelistet. Die hämodynamisch gemessenen Parameter umfassten die Herzfrequenz (HF) in *beats per minute* (bpm), die linksventrikuläre Druckentwicklung (LVDP) sowie den linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDP) in Millimeter Quecksilbersäule (mmHg), die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max.) in Millimeter Quecksilbersäule pro Sekunde (mmHg/s) und den Koronarfluss (KF) in Milliliter pro Minute (ml/min).

Die oben genannten Parameter wurden zu vier definierten Zeitpunkten in allen Gruppen gemessen: eine Messung zu Beginn des Versuches (*baseline),* eine zum Zeitpunkt der Intervention (PC) sowie zwei Messungen während der Reperfusion (30 und 60 Minuten nach der Ischämie).

Die Auswertung der HF und des KF zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den jeweiligen Subgruppen. In der Entwicklung der HF von der *baseline* bis zum Ende des Experimentes gab es ebenfalls keine signifikante Abweichung. Im Gegensatz dazu konnte eine bemerkenswerte Reduzierung des KF nach der Ischämie festgestellt werden. Ausnahme hierbei bildeten die KHP Kontrollgruppe (Con KHP) und die normoglykäme Kontrollgruppe (Con NG).

Die LVDP zeigte in allen Gruppen nach der Ischämie einen signifikanten Unterschied im Vergleich zur *baseline*: Die LVDP nahm in der Reperfusionsphase verglichen zur *baseline* ab. Diese Veränderung wurde außerdem bei dP/dt max. beobachtet. Des Weiteren bestand in der LVDP zu Anfang der Messung ein deutlicher Unterschied zwischen der KHP Kontrollgruppe (Con KHP) und den beiden Kontrollgruppen der normoglykämen (NG) und der hyperglykämen (HG) Versuchsreihe ($^{\#}p < 0,05$ vs Con KHP). Innerhalb dieser beiden Versuchsreihen (Con NG und Con HG) bestand hingegen kein signifikanter Unterschied.

Betrachtet man die Entwicklung des LVEDP, verhielt sich dieser umgekehrt zu der LVDP und dem gemessenen dP/dt max.. Die Werte des LVEDP waren in allen Gruppen wesentlich höher während der Reperfusion im Verhältnis zur *baseline*.

Tabelle 3 Die hämodynamischen Parameter der verschiedenen Versuchsgruppen

Untergruppe	Intervention	Baseline	PC	Reperfusion (min)	
				30	60
Herzfrequenz (bpm)					
KHP	Con	319 ± 43	305 ± 48	260 ± 53	243 ± 50
	Con	286 ± 21	268 ± 16	317 ± 40	207 ± 66
NG	DexPC	308 ± 23	288 ± 20	287 ± 54	232 ± 54
	DexPoC	314 ± 40	293 ± 42	298 ± 47	250 ± 71
	Con	289 ± 41	286 ± 32	235 ± 71	209 ± 60
HG	DexPC	302 ± 26	286 ± 26	265 ± 99	202 ± 40
	DexPoC	305 ± 44	293 ± 36	254 ± 60	217 ± 33
LVDP (mmHg)					
KHP	Con	105 ± 14	110 ± 11	27 ± 16 *	33 ± 14 *
	Con	141 ± 31#	148 ± 28#	32 ± 15 *	43 ± 19 *
NG	DexPC	129 ± 36	129 ± 32	24 ± 19 *	30 ± 17 *
	DexPoC	136 ± 30	133 ± 34	34 ± 19 *	40 ± 18 *
	Con	141 ± 23#	145 ± 33#	20 ± 9 *	32 ± 12 *
HG	DexPC	118 ± 27	126 ± 29	20 ± 6 *	32 ± 6 *
	DexPoC	140 ± 38	145 ± 30	28 ± 18 *	36 ± 16 *
LVEDP(mmHg)					
KHP	Con	4 ± 2	4 ± 3	129 ± 19 *	107 ± 13 *
	Con	4 ± 1	3 ± 2	109 ± 28 *	94 ± 22 *
NG	DexPC	4 ± 1	4 ± 2	106 ± 14 *	93 ± 14 *
	DexPoC	5 ± 2	5 ± 2	99 ± 18 *	89 ± 18 *
	Con	4 ± 2	4 ± 2	127 ± 29 *	109 ± 19 *
HG	DexPC	6 ± 2	7 ± 3	129 ± 17 *	111 ± 16 *
	DexPoC	4 ± 1	4 ± 3	123 ± 20 *	112 ± 19 *
dP/dt max. (mmHg/s)					
KHP	Con	4357 ± 1047	4976 ± 1097	1256 ± 313 *	1699 ± 625 *
	Con	4793 ± 1337	5356 ± 1291	2559 ± 1429 *	2230 ± 1681 *
NG	DexPC	4470 ± 1119	4805 ± 1143	1588 ± 611 *	1603 ± 362 *
	DexPoC	4974 ± 953	5055 ± 1063	2351 ± 966 *	2093 ± 923 *
	Con	5312 ± 1299	5476 ± 859	1453 ± 310 *	1726 ± 481 *
HG	DexPC	4337 ± 1089	5004 ± 1347	2242 ± 1991 *	1461 ± 259 *
	DexPoC	4834 ± 1470	5190 ± 1489	1696 ± 791 *	1821 ± 1007 *
Koronarer Fluss (ml/min)					
KHP	Con	11 ± 2	10 ± 2	8 ± 1	9 ± 3
	Con	12 ± 2	11 ± 2	9 ± 2	9 ± 2
NG	DexPC	14 ± 4	14 ± 5	10 ± 2 *	9 ± 2 *
	DexPoC	15 ± 5	14 ± 6	10 ± 1 *	9 ± 3 *
	Con	13 ± 2	13 ± 3	8 ± 2 *	7 ± 2 *
HG	DexPC	12 ± 3	12 ± 3	7 ± 2 *	7 ± 2 *
	DexPoC	14 ± 4	14 ± 4	6 ± 1 *	6 ± 1 *

Die vorliegende Tabelle zeigt die ermittelten hämodynamischen Parameter zu 4 definierten Zeitpunkten. Alle Werte sind als Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. LVDP= linksventrikuläre Druckentwicklung; LVEDP= linksventrikulärer enddiastolischer Druck; dP/dt max.= max. Anstieg des linksventrikulären Druckes; Con= Kontrollgruppe; KHP= Krebs-Henseleit-Puffer; NG= Normoglykämie; HG= Hyperglykämie; Dex= Dexmedetomidin; PC= Präkonditionierung; PoC= Postkonditionierung; $^{*}p < 0,05$ versus *baseline*; $^{\#}p < 0,05$ versus Con KHP (in Anlehnung an [85]).

3.4 Glukosewerte

In der nachfolgenden Tabelle ist die Glukosekonzentration aufgelistet, die in den einzelnen Gruppen zu drei verschiedenen Zeitpunkten gemessen wurde: während der *baseline* (Minute 10), während der ersten Behandlungsphase (PT= *Pretreatment,* Minute 19) und damit vor der Einleitung des präkonditionierenden Stimulus sowie am Ende der Reperfusion (Minute 122). Die Glukosewerte sind in mmol/L angegeben.

Zu Beginn des Versuches (*baseline*) zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

Des Weiteren zeichnete sich kein bedeutender Unterschied innerhalb der Kontrollgruppe (KHP) und der normoglykämen Gruppen (NG) zu den verschiedenen Zeitpunkten ab.

Im Gegensatz dazu wiesen die hyperglykämen Gruppen (HG) deutlich höhere Glukosekonzentrationen zum Zeitpunkt PT und Reperfusion im Vergleich zur KHP- und den NG-Gruppen auf. Diese Konzentrationen waren auch signifikant höher als die Ausgangswerte (*baseline*) der HG-Gruppe. Zwischen den einzelnen HG-Untergruppen manifestierte sich kein erheblich erkennbarer Unterschied bei den Glukosewerten zum Zeitpunkt PT und Reperfusion.

Tabelle 4 Glukosewerte in mmol/L

Untergruppe	Intervention	Baseline	PT	Reperfusion
KHP	Con	11.0 ± 0.2	10.7 ± 0.4	10.7 ± 0.2
NG	Con	11.1 ± 0.4	10.9 ± 0.3	10.9 ± 0.3
	DexPC	11.1 ± 0.3	10.9 ± 0.2	11.0 ± 0.5
	DexPoC	11.2 ± 0.2	11.1 ± 0.3	11.0 ± 0.2
HG	Con	11.0 ± 0.3	21.6 ± 0.5$^{*,\#}$	23.1 ± 2.5 $^{*,\#}$
	DexPC	11.2 ± 0.3	22.1 ± 0.7 *,§	23.2 ± 1.1 *,§
	DexPoC	11.0 ± 0.3	22.0 ± 0.5 $^{*,\$}$	23.7 ± 0.8 $^{*,\$}$

In der dargestellten Tabelle sind die zu 3 verschiedenen Zeitpunkten ermittelten Glukosewerte abgebildet. Die Werte sind in Millimol pro Liter (mmol/L) und als Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Con= Kontrollgruppe; KHP= Krebs-Henseleit-Puffer; NG= Normoglykämie; HG= Hyperglykämie; Dex= Dexmedetomidin; PT= *Pretreatment*; PC= Präkonditionierung; PoC= Postkonditionierung. $^{*}p < 0,05$ versus *baseline*, $^{\#}p < 0,05$ versus Con KHP und Con NG, $^{\S}p < 0,05$ versus DexPC NG, $^{\$}p < 0,05$ versus DexPoC NG (in Anlehnung an [85]).

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse

4.1.1 Dexmedetomidin und Hyperglykämie

Die akute Hyperglykämie ist ein wichtiger Risikofaktor für das Outcome von Betroffenen mit einem Myokardinfarkt [95], aber auch für die Personen, die sich einer herzchirurgischen Operation unterziehen [96]. Bei diesen Ereignissen können die erhöhten Blutzuckerspiegel im Zusammenhang mit metabolischen Stoffwechselstörungen stehen, wie z. B. bei einem DM [82] oder perioperativ durch eine Stressreaktion des Körpers ausgelöst werden [83].

In früheren Studien wurde ein Zusammenhang zwischen der Plasmaglukosekonzentration bei Aufnahme ins Krankenhaus und einer erhöhten Sterblichkeitsrate von Betroffenen mit einem akuten Myokardinfarkt festgestellt [97]. Die Hyperglykämie wirkt sich unter anderem negativ auf den Herzrhythmus [98], auf die Myokardleistung [99], die Blutgerinnung [100,101] und die Endothelfunktion [78,102] aus.

Darüber hinaus konnte in experimentellen Studien ein negativer Einfluss der gesteigerten Glukosewerte auf verschiedene Konditionierungsstrategien nachgewiesen werden [103,104]. Auf Grundlage dieser Daten beschäftigt sich die Arbeit mit der Fragestellung, ob eine akute Hyperglykämie einen Einfluss auf die kardioprotektive Wirkung von Dex hat.

Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten darauf hin, dass erhöhte Glukosewerte die PC mit Dex nicht beeinflussen, während die kardioprotektive Wirkung von Dex in der PoC vollständig aufgehoben wird. Eine akute Hyperglykämie allein scheint keine Auswirkungen auf die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Hyperglykämie zu haben[85].

Sowohl für die IPC [104] als auch für die RIPC [103] konnte im experimentellen Bereich bereits der negative Einfluss von erhöhten Plasmaglukosewerten demonstriert werden. Die infarktgrößenreduzierende Wirkung von IPC geht unter hyperglykämen Bedingungen verloren [104], vermutlich u.a. durch eine verminderte Akt-Phosphorylierung [105]. Verschiedene Studien konnten auch für die pharmakologische Konditionierung Einschränkungen unter diesen Bedingungen feststellen [76,106,107]. Volatile Anästhetika, wie zum Beispiel Isofluran [40], führen

zu einer Infarktgrößenreduktion. Eine akute Hyperglykämie hebt diese Kardioprotektion auf, hat jedoch an sich keine Auswirkung auf die Infarktgröße [76]. Eine mögliche Ursache für diese Beobachtung kann die vermehrte Bildung von ROS unter hyperglykämen Bedingungen sein [108,109]. Durch erhöhte Glukosewerte können vermehrte mitochondriale Stoffwechselprozesse ablaufen, wodurch ein vermehrter O_2-Verbrauch und eine erhöhte ROS-Bildung in der Zelle detektiert werden [110]. Die Studie von Kehl et al. (2003) konnte durch die Verwendung des ROS-Fängers N-Acetylcystein die Isofluran-induzierte Kardioprotektion unter einer Hyperglykämie wiederherstellen [107].
Während eine geringe ROS-Freisetzung über die Aktivierung von mitoK_{ATP} Kanälen zu einer Kardioprotektion führt [111,112], beschleunigt eine übermäßige ROS-Produktion die Öffnung der mPTP [113,114]. Dadurch kommt es zum Zusammenbruch des mitochondrialen Membranpotentials sowie zur Aktivierung pro-apoptotischer Prozesse in der Zelle [115]. Die Menge an ROS kann folglich ausschlaggebend für eine kardioprotektive oder kardiotoxische Wirkung sein.

Neben der möglichen Wirkung von gesteigerten Blutglukosewerten auf die ROS-Produktion scheinen erhöhte Glukosespiegel auch einen Einfluss auf den PI3-Akt-Signalweg, welcher Teil des RISK-Signalweges ist, zu nehmen. Jonassen et. al (2001) entdeckten, dass Insulin seine kardioprotektive Wirkung durch die Aktivierung des oben genannten Weges ausübt [116]. Unter erhöhten Glukosewerten wird die Insulin-PC jedoch durch Unterdrückung der Akt-Phosphorylierung gehemmt [117]. Weitere Hinweise auf die verminderte Expression von Akt unter hyperglykämen Bedingungen lieferten Raphael et. al (2010). Die Studiengruppe untersuchte das Verhalten von Isofluran in der PoC im Hinblick auf erhöhte Glukosespiegel. Hierbei zeigte sich eine reduzierte Expression von Akt und eNOS [118]. Dabei fördert Isofluran in der PoC unter normoglykämen Bedingungen die Phosphorylierung von Akt [119] und erhöht die eNOS-Spiegel [120], ähnlich wie es bei Dex zu beobachten ist [50,121–123].
eNOS ist seinerseits in der Lage die sGC zu aktivieren, sodass GTP zu cGMP gespalten wird. Durch diese Spaltung kann die PKG aktiviert werden [124].
Sowohl PKG als auch NO laufen in den mitoK_{ATP} Kanälen zusammen. Da die Dex-induzierte Kardioprotektion über die Aktivierung der mitoK_{ATP} Kanäle vermittelt wird [125,126], wäre es von großem Interesse, die Auswirkung einer Hyperglykämie auf diese Kanäle zu untersuchen. Denkbar wäre eine verminderte Aktivität der Kanäle,

möglicherweise über ein reduziertes Angebot von NO. Die mitoK$_{ATP}$ Kanalaktivität wird durch NO potenziert [127], und unter hyperglykämen Bedingungen ist die NO-Verfügbarkeit beeinträchtigt [128].
An der Signaltransduktion von diversen Konditionierungsstrategien ist neben Akt, als Teil des RISK-Signalweges, auch die eNOS beteiligt [124]. Der RISK-Signalweg vermittelt seine Wirkung über die Modulation der mPTP. Die Öffnung der mPTP wird durch die Aktivierung des RISK-Signalweges blockiert, wodurch Zellschädigung und Zelltod verhindert werden. In der Studie von Huhn et al. (2008) wurde die infarktgrößenreduzierende Wirkung von Sevofluran in der PoC unter akuter Hyperglykämie aufgehoben [129]. Durch Hemmung der mPTP mittels Cylosporin A konnte die Kardioprotektion wiederhergestellt werden. Die Erkenntnisse aus den oben aufgeführten Literaturen lassen vermuten, dass die mitoK$_{ATP}$ Kanäle und die Regulation der mPTP eine entscheidende Rolle in der Interaktion von Hyperglykämie und kardioprotektiven Mechanismen spielen könnten.

Ein möglicher Einfluss einer diabetischen Stoffwechsellage auf die PoC mittels Dex wurde im Jahre 2018 durch Cheng und Kollegen an diabetischen Ratten untersucht [73]. Die Ergebnisse der Versuchsreihe deuten darauf hin, dass die protektive Wirkung von Dex aufrechterhalten bleibt, und stehen damit im Gegensatz zu den Ergebnissen der Studie dieser Arbeit. Allerdings erhielten die Ratten vier Wochen vor Versuchsbeginn eine Diabetes-induzierte Behandlung, sodass die Versuchsreihe einen chronischen Prozess untersucht [73], während sich unsere Arbeit auf die akute Hyperglykämie fokussiert.

Dex vermittelt seine kardioprotektive Wirkung über Teile des RISK-Signalweges, unter anderem durch die vermehrte Phosphorylierung von Akt und eNOS. Die Aktivierung der mitoK$_{ATP}$ Kanäle und die Hemmung der mPTP sind Ziele des RISK-Signalweges. Eine akute Hyperglykämie hemmt, wie oben beschrieben, den PI3K/Akt-Signalweg, vermindert die Verfügbarkeit nachgeschalteter protektiver Moleküle wie NO und führt zu einer vermehrten Bildung von ROS. Auf Grundlage dieser Erkenntnisse ist es vorstellbar, dass eine akute Hyperglykämie auch die infarktgrößenreduzierende Wirkung von Dex beeinträchtigt.
Im Einklang hiermit wurde in unserer Studie festgestellt, dass die kardioprotektive Wirkung von Dex in der PoC durch erhöhte Glukosespiegel vollständig aufgehoben

wird. Bei der PC mit Dex konnte hingegen auch unter hyperglykämen Bedingungen eine Infarktgrößenreduktion festgestellt werden [85].
Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zur Datenlage zu erhöhten Glukosespiegeln und zur Erfahrung mit Wirkungen von Konditionierungsstrategien.
Eine mögliche Begründung für diese Beobachtung könnte die Dauer der hyperglykämen Umgebung zum Zeitpunkt der Konditionierungsstrategien darstellen. Die Verabreichung der Glukose erfolgte vor der PC mit Dex und die Glukosekonzentrationen waren zu diesem Zeitpunkt signifikant höher als in den Kontrollgruppen. Jedoch bestand die Belastung der Herzen durch die erhöhten Blutzuckerspiegel zum Zeitpunkt der PC nur für die Dauer von 5 Minuten. Möglicherweise war zu diesem Zeitpunkt der Einfluss der Hyperglykämie auf die Signalwege noch nicht gegeben, sodass Dex trotzdem seine infarktgrößenreduzierende Wirkung entfalten konnte. Im Gegensatz dazu waren die Herzen in der PoC bereits 48 Minuten lang erhöhten Zuckerwerten ausgesetzt, bevor die Konditionierungsstrategie eingeleitet wurde. In diesem verlängerten Zeitraum wurde durch die Hyperglykämie der RISK- und eNOS/PKG-Signalweg möglicherweise so stark beeinflusst, dass die PoC mit Dex keine Wirkung mehr erzielen konnte. Für die abschließende Interpretation der Ergebnisse sind jedoch weitere Studien zum Einfluss der Dauer der Hyperglykämie auf die beteiligten Signalwege notwendig.

4.1.2 Dexmedetomidin und Mannitol

Um eine vergleichbare Osmolarität in den normoglykämen und den hyperglykämen Gruppen zu gewährleisten und somit einen möglichen Einfluss der Osmolarität auf die Infarktgröße ausschließen zu können, wurden die normoglykämen Gruppen mit Mannitol behandelt. Interessanterweise zeigen unsere Ergebnisse eine signifikante Reduktion der Infarktgröße bei der alleinigen Behandlung mit Mannitol. Diese protektive Wirkung wird bei der Behandlung mit Dex in der PC aufgehoben, wobei Dex während der Reperfusion keinen Einfluss auf die Mannitol-induzierte Infarktgrößenreduktion hat [85].
Die Beobachtung, dass Mannitol kardioprotektive Wirkungen aufweist, zeigte sich bereits in verschiedenen Vorstudien. 1972 untersuchten Willerson et al. die hyperosmolare Wirkung von Mannitol auf das ischämische Herz. Dabei wurden anästhesierte Hunde vor oder während der Ischämie mit Mannitol perfundiert und

anschließend die Leistungsfähigkeit sowie der Kollateralfluss des Myokards bestimmt. Mannitol beeinflusste beide Endpunkte positiv [130].

In Folgestudien dieser Forschungsgruppe zeigte sich, dass eine PoC mit Mannitol die ventrikuläre Funktion nach einer Ischämie verbessert sowie den KF erhöht [131]. Unser Ergebnis, dass Mannitol eine Infarktgrößenreduktion hervorrufen kann, steht im Einklang mit den Beobachtungen von Kloner et al. (1976), die eine Mannitol-induzierte Infarktgrößenreduktion im Hundemodell demonstrieren [132]. Des Weiteren kann die Inzidenz von Reperfusions-induzierten Arrhythmien durch Mannitol reduziert werden [133]. Die Ergebnisse dieser Studie wurden mit der Hyperosmolarität von Mannitol begründet, wobei nicht geklärt war, wie sich die kardioprotektive Wirkung entfaltet. Pimentel et al. vermuten, dass eine Hyperosmolarität Stress in den Zellen verursacht, wodurch intrazelluläre Signalwege angeregt werden [134]. Einer dieser Signalwege scheint der Mitogen aktivierende Proteinkinase (MAP-Kinase) Weg zu sein, der wiederum zu einer Reduktion der Zytokinproduktion führt [134]. Daneben vermindern hyperosmolare Perfusate die I/R-Verletzungen in der Leber [135]. Die Entwicklung einer Entzündungsreaktion in der Leber von Ratten und Mäusen nach I/R kann unter hyperosmolaren Bedingungen gesenkt werden. Dabei lassen sich die entzündungshemmenden Wirkungen *in vivo* vermutlich auf eine erhöhte STAT3 Phosphorylierung, auf eine erhöhte Produktion von antiinflammatorischen IL-10 und auf die verminderte Expression von Adhäsionsmolekülen für Neutrophile zurückführen [135].

Chen et al. zeigten 2006 bei diabetischen Rattenherzen mit einer schweren akuten Hyperglykämie eine erhöhte Resistenz gegenüber I/R-Schäden. In dieser Studie wurde die erhöhte Resistenz mit einem Anstieg des Hitzeschockproteins (hsp) 90 assoziiert. Die Beobachtung der größeren Menge an hsp90 zeigte sich auch bei Herzen, die mit Mannitol perfundiert wurden [136].

Daraus lässt sich schließen, dass eine erhöhte Osmolarität, zum Beispiel bedingt durch die Verwendung von Mannitol, die Verbesserung der post-ischämischen Herzfunktion durch eine erhöhte Expression von hsp90 induzieren kann.

Demgegenüber steht die Versuchsreihe von Chiong et al. aus dem Jahre 2010, in der eine Sorbitol-assoziierte Hyperosmolarität eine vermehrte Apoptose von Kardiomyozyten auslöst. Dabei spielt vermutlich die intrazelluläre und mitochondriale Ca^{2+}-Konzentration eine entscheidende Rolle. Die Hyperosmolarität verursacht durch Öffnung der L-Typ-Ca^{2+}-Kanäle und durch Ca^{2+}-Freisetzung aus dem SR einen

vermehrten Ca^{2+}-Einstrom in die Zelle. Dieser führt zu einer Dysfunktion der Mitochondrien und letztlich zum Untergang der Zelle [137].
Somit bleibt der Einfluss der Hyperosmolarität auf die Kardioprotektion kontrovers diskutiert, und die Mannitol-induzierte Infarktgrößenreduktion unserer Studie scheint über weitere intrazelluläre Mechanismen bedingt zu sein. In Folgestudien unserer Arbeitsgruppe wurde dieser Aspekt näher beleuchtet. Feige und Kollegen (2021) konnten zeigen, dass die kardioprotektive Wirkung von Mannitol über mitoK_{ATP} Kanäle vermittelt wird [138]. Weiter scheint Mannitol die intrazellulären Signalwege über eine Aktivierung des Adenosin-1 Rezeptors zu induzieren [139].

Die Ergebnisse unserer Studie lassen vermuten, dass sich die PC mit Dex negativ auf die infarktgrößenreduzierende Wirkung von Mannitol auswirkt. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in der Forschungsgruppe von Zálešák et al. (2016) beobachtet [140]. Eine Hyperosmolarität, die durch Zugabe von 11 mmol/l Mannitol induziert wurde, reduzierte die Infarktgröße signifikant, kombiniert mit einer verminderten Freisetzung des Herzfettsäure-bindenden Proteins h-FABP. Die Kombination aus Hyperosmolarität und IPC zeigte hingegen keine signifikante Infarktgrößenreduktion, jedoch erhöhte h-FABP Konzentrationen [140]. Die Signalwege der Dex-induzierten PC ähneln in großen Teilen der IPC. So spielt bei beiden Konditionierungsstrategien der RISK-Signalweg eine entscheidende Rolle. Die Hyperosmolarität vermittelt ihre kardioprotektive Wirkung ebenfalls über diesen Signalweg [140,141]. Eine mögliche Ursache für die aufgehobene Kardioprotektion bei Kombination von Mannitol und Dex als PC ist die gemeinsame Nutzung des RISK-Signalweges. Hierbei könnten die negativen Einflüsse der Hyperosmolarität durch die intrazelluläre Ca^{2+}-Überlagerung mit vorzeitiger Apoptose der Zelle überwiegen. Zum aktuellen Zeitpunkt ist diese Aussage jedoch eine reine Spekulation, und weitere Folgeversuche für die Klärung des Sachverhaltes sind notwendig.
Neben der Beobachtung, dass die Mannitol-induzierte Kardioprotektion durch Dex in der PC aufgehoben wird, hat interessanterweise die Applikation von Dex zu Beginn der Reperfusion keinen Einfluss auf die infarktgrößenreduzierende Wirkung von Mannitol [85]. In der Studie von Baranyai et al. (2015) wurde die Auswirkung einer akuten Hyperglykämie auf die *remote ischemic perconditioning* (RIPerC) untersucht [103]. Ähnlich wie in unserer Studie erhielt die Kontrollgruppe Mannitol. RIPerC konnte trotz hyperosmotischen Bedingungen eine signifikante Infarktgrößenreduktion der

Herzen herbeiführen. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass perkonditionierende Stimuli und eine Behandlung mit Mannitol sich nicht grundsätzlich negativ beeinflussen, wie es bei der PC mit Dex und Hyperosmolarität der Fall zu sein scheint.

4.1.3 Hämodynamische Parameter

In Tabelle 3 (Seite 30) sind die gemessenen hämodynamischen Parameter dieser Studie aufgelistet. Dies umfasst die HF, die LVDP sowie den LVEDP, die dP/dt max. und den KF.

Die oben genannten Parameter wurden zu vier definierten Zeitpunkten in allen Gruppen gemessen ((Messung zu Beginn des Versuches (*baseline),* zum Zeitpunkt der Intervention (PC) sowie 30 und 60 Minuten nach der Ischämie)).

Zum Zeitpunkt der *baseline* und über die Versuchslänge hinweg zeigte sich in Bezug auf die HF kein signifikanter Unterschied zwischen und innerhalb der Gruppen.

Bei der Betrachtung des KF zeigte sich hingegen ein signifikanter Unterschied: Er nahm nach der Ischämie ab. Durch den Infarkt kam es zu einem Untergang von Myokardzellen, wodurch bei reduzierter Herzleistung weniger Perfusat durch die Herzkranzgefäße gepumpt wurde. Ausnahme hierbei stellten die Con KHP und die Con NG dar. Ähnlich zu unseren Ergebnissen haben bereits vorherige Experimente zeigen können, dass Mannitol den KF während der Reperfusion positiv beeinflussen kann [142,143].

Die LVDP zeigte in allen Gruppen nach der Ischämie einen signifikanten Unterschied im Vergleich zur *baseline*. Sie nahm in der Reperfusionsphase verglichen zu der *baseline* ab. Dieses Verhalten wurde außerdem bei dP/dt max. beobachtet.

Die Entwicklung des LVEDP verhielt sich hingegen umgekehrt zur LVDP und dem gemessenen dP/dt max.. Die LVEDP waren in allen Gruppen während der Reperfusion signifikant höher im Verhältnis zur *baseline*. Dies lässt sich auf den entstandenen Infarkt im Ventrikel zurückführen. Es wäre möglicherweise zu erwarten gewesen, dass die Gruppen mit signifikant geringeren Infarktarealen aufgrund der größeren Anzahl von vitalen Kardiomyozyten nicht so hohe LVEDP-Werte aufweisen würden. Dies konnte in dieser Arbeit jedoch nicht gezeigt werden. Durch die Auswertung der hämodynamischen Parameter kann somit kein direkter Rückschluss auf die Größe des Infarktareals geschlossen werden. Eine mögliche Erklärung dafür kann das sogenannte *Myokardstunning* liefern. Hierbei handelt es sich um eine vorübergehende

Funktionsdepression des überlebenden Myokardgewebes. Durch die induzierte Ischämie können myokardiale Funktionen, biochemische Prozesse und Myokardstrukturen für einen gewissen Zeitraum beeinträchtigt werden. Wie lange das Herz braucht, damit sich die kontraktile Funktion wieder erholt, ist von einigen Faktoren abhängig. Darunter zählen die Länge und die Intensität der Ischämie, der Zustand des Herzens zu Beginn der Ischämie und die Schwere der postischämischen Veränderungen [144].
Die Erholung des postischämischen, aber lebensfähigen Myokards kann Stunden bis Tage dauern [145].
Neben den hämodynamischen Parametern wurden die Tier- und Herzcharakteristika erfasst. Hierunter fallen das Körpergewicht der Tiere, das Herznassgewicht sowie der Zeitpunkt und die Höhe der max. ischämischen Kontraktur des Herzens. Innerhalb und zwischen den Gruppen konnte diesbezüglich kein signifikanter Unterschied aufgezeigt werden. Somit sind die Voraussetzungen in allen Gruppen gleich, wodurch eine adäquate Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet wurde.

4.2 Diskussion der Methodik

4.2.1 Das Langendorff-Modell und die Versuchstiere

Carl Ludwig und Elias Cyon konzipierten im Jahre 1866 das isoliert perfundierte Froschherzpräparat, welches den Ausgangspunkt zur Erforschung der Herzphysiologie darstellte [146]. Auf Grundlage dieser Methode entwickelte Oscar Langendorff das isoliert perfundierte Säugetierherz. Seine ersten Versuche fanden an Hundeherzen statt [86]. Inzwischen wird die Langendorff-Anlage bei vielen verschiedenen Säugetierherzen verwendet und zeigt damit die große Bedeutung für Experimente in diesem Bereich [147].
Die Experimente mit dieser Anlage sind technisch einfacher, fordern weniger Aufwand als *in vivo* Versuche und ermöglichen es, ein breites Spektrum an verschiedenen Parametern zu erfassen. Durch die Entnahme der Herzen sind die Organe von allen Seiten zugänglich. Hierdurch können verschiedenste Interventionen untersucht werden, auch solche die aufgrund von Arrhythmien oder Einschränkungen der Pumpfunktion in einem *in vivo* Modell das Überleben des Tieres und damit den Abschluss der Versuchsreihe gefährden könnten [147].

Durch die Isolation der Herzen sind Einflüsse anderer Organe und neurohumorale Signale ausgeschaltet. Das Anästhesieverfahren wirkt sich nur begrenzt auf die isolierten Herzen aus. In dieser Versuchsreihe wurden die Tiere zu Beginn einmalig mit einer intrapertionealen Injektion von Barbituraten betäubt [85]. Die kardiodepressive Wirkung des Medikamentes erlöscht nach ungefähr 10 Minuten, weshalb im Vergleich zu *in vivo* Modellen während der Experimente kein Einfluss der Anästhesie auf das isolierte Herz besteht [147].

Das erhöhte Risiko einer Thrombembolie wird durch die Heparinisierung der Tiere verringert [148].

Bei der Präparation der Herzen ist Präzision erforderlich, um hypoxische und mechanische Schädigungen am Herzen zu vermeiden. Mechanische Schäden können bei der Explantation und Instrumentierung der Organe durch eine Kompression der Herzen verursacht werden. Bei der Kanülierung der Aorta kann auch bei sehr vorsichtigem Vorgehen die Aortenklappe geschädigt werden. Des Weiteren ist eine zügige Anbringung an die Langendorff-Anlage sinnvoll, da die Ischämie einen präkonditionierenden Stimulus auslösen kann [25]. In allen Versuchsgruppen wurde auf eine gleichbleibend schnelle Entnahmezeit geachtet.

Darüber hinaus ist die Konstanthaltung der Perfusattemperatur von essenzieller Bedeutung. Die Temperatur des KHP orientiert sich an der Körpertemperatur der Ratten [149]. Temperaturschwankungen beeinflussen die HF [150], die Kontraktilität der Herzen [151] und können eine PC [152] auslösen. Durch das Stoppen der Perfusion wird die globale Ischämie induziert. Das Ausmaß der ischämischen Schädigung ist temperaturabhängig [153,154]. Um den Einfluss auf die Infarktgröße infolge einer Unterkühlung der Herzen zu minimieren, wird die Wärmekammer mit 37°C warmen KHP befüllt.

Die Herzen an der Langendorff-Anlage können fluss- oder druckkonstant perfundiert werden. Bei der flusskonstanten Perfusion ist die Perfusatmenge während des Experimentes gleichbleibend. Die autoregulatorischen Mechanismen der Herzkranzgefäße werden dabei außer Kraft gesetzt. Dies bedeutet, dass bei einer Änderung der kardialen Funktion keine Korrektur der Perfusatmenge stattfindet. In der vorliegenden Arbeit hätte dies bedeutet, dass nach der Ischämie das gleiche Perfusatvolumen durch ein kleineres Perfusionsbett gedrückt würde. Daher wird bei Experimenten mit Ischämiephasen, wie auch in dieser Arbeit, die druckkonstante Perfusion bevorzugt [148].

Am Ende der Versuche wurde die Infarktgröße mittels TTC-Färbung bestimmt.
In vitalem Gewebe kann die farblose TTC-Lösung durch eine Redox-Reaktion mittels Dehydrogenasen zu dem roten Farbstoff Formazan reduziert werden. Durch diesen Vorgang färben sich nur die vitalen, Dehydrogenase-enthaltenden Zellen rot, und die nekrotischen Areale nehmen nur den farblosen TTC-Farbstoff auf und verbleiben weiß [94]. Die Infarktgrößenbestimmung ist von der Reperfusionszeit abhängig. Die Myokardzellen müssen ausreichend lange reperfundiert werden (mindestens 1-2 Stunden), damit die Enzyme vollständig aus den nekrotischen Zellen ausgewaschen werden [155–157]. Eine zu kurze Reperfusion kann eine inhomogene Färbung hervorrufen, wodurch die Abgrenzung von vitalem und totem Gewebe erschwert ist [155,157]. Eine verlängerte Reperfusionszeit hat hingegen keinen Nachteil auf die Infarktgrößenbestimmung durch TTC [157].
In dieser Studie wurden junge, männliche WISTAR-Ratten verwendet. Die Verwendung männlicher Rattenherzen im Langendorff-Modell hat sich etabliert, da geschlechtsspezifische Unterschiede auf Ebene des Herzens und im Umgang mit I/R-Schäden aufgezeigt wurden. In einem gesunden Herzen gibt es bereits signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern im Bereich Wachstum, Kontraktilität, Ca^{2+}-Stoffwechsel und Mitochondrienfunktion [158].
Zudem konnten Studien zeigen, dass weibliche Herzen eine erhöhte Resistenz gegenüber I/R-Schäden besitzen [158].
Diese erhöhte Resistenz wird auf den erhöhten Östrogenspiegel zurückgeführt. 17-ß-Estradiol schützt das Herz über den Östrogenrezeptor vor I/R-Schaden und kann somit eine PC auslösen [159].
Diese Beobachtung konnte ebenfalls von Song et al. (2003) aufgezeigt werden, bei deren Versuche weibliche, unbehandelte Herzen ein besseres Outcome als männliche aufwiesen. Zugleich zeigten diese Ergebnisse, dass die IPC an männlichen, aber nicht an weiblichen Versuchstieren wirkt [160].
Die genannten Beobachtungen führten zu der Entscheidung, auch in dieser Arbeit männliche Versuchstiere zu verwenden, um eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch zyklusabhängige hormonelle Schwankungen zu vermeiden. Trotzdem ist es wichtig, die Forschung an weiblichen Versuchstieren zu forcieren, um die Ansätze vorhandener Studien zu untermauern und daraus geschlechterspezifische Therapiestrategien zu entwickeln.

4.2.2 Der Krebs-Henseleit-Puffer

Bei Experimenten am isoliert perfundierten Herzen der Langendorff-Anlage wird zumeist der Bikarbonatpuffer von Krebs und Henseleit aus dem Jahre 1932 verwendet [84]. Dieser wird aus den folgenden Substraten zusammengesetzt: NaCl 118,5 mM, NaHCO3 25,0 mM, KCl 4,7 mM, MgSO4 1,2 mM, KH2PO4 1,2 mM, Glukose 11 mM und CaCl2 2,5 mM. Die zuvor beschriebene Zusammensetzung soll die Bestandteile des Blutes imitieren und wurde auch in dieser Arbeit verwendet. Dabei sind die Ionen- und Substratkonzentrationen (vor allem von K^+ und Ca^{2+}) nicht physiologisch, da sie aufgrund des Proteinmangels zur Ionenbindung dienen [161]. Normalerweise stellen die im Blut befindlichen freien Fettsäuren die präferierte Energiequelle der Myokardzellen dar [162]. In dem modifizierten KHP wird darauf zumeist verzichtet, weil freie Fettsäuren während der Oxygenierung des Puffers zu einer Schaumbildung führen können [87]. Das Myokard besitzt jedoch die Fähigkeit, auch andere Substrate effizient als Energiequelle zu nutzen [163,164]. Dies erklärt die hohe Konzentration von 11 nM Glukose, die fast schon als diabetisch angesehen werden kann, da die physiologischen Blutglukosespiegel von Ratten in einem Bereich zwischen 5-6 mmol/L liegen [87]. Der Mangel an anderen Energielieferanten muss durch diese hohe Glukosekonzentration ausgeglichen werden. Nebenbei können postprandiale Blutzuckerspiegel von Ratten auf bis zu 10,4 mmol/l ansteigen [165].

Ein weiterer Gesichtspunkt, der bei der Verwendung des KHP berücksichtigt werden sollte, ist das Fehlen von kolloidalen Molekülen wie z.B. Proteinen. Durch die Perfusion mit einer kristalloiden Lösung sinkt der osmotische Druck, und das Risiko für Gewebeödeme steigt [163,166]. Insbesondere bei Versuchen zu I/R-Schaden kann im Vergleich zu blutperfundierten Herzen eine vermehrte Akkumulation von Wasser im Gewebe aufgezeigt werden [167]. Daher wurde nach Beendigung unserer Versuche in jeder Gruppe das Herznassgewicht bestimmt. Dies ist ein indirekter Prädikator für den Wassergehalt im Herzen. Bei den Ergebnissen zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Herznassgewichte zwischen den verschiedenen Gruppen.

Des Weiteren fehlen Antioxidantien und Glukokortikoide im KHP. Das Fehlen dieser Bestandteile macht das Herz anfälliger für Immunstimuli, insbesondere für bakterielle Endotoxine, und kann zu einer Verschlechterung der Herzfunktion führen [147]. Einer möglichen Verunreinigung sollte durch täglich neues Ansetzen der Pufferlösung und regelmäßige Reinigung der Anlage entgegengewirkt werden.

Eine weitere Einschränkung des KHP sind die fehlenden Sauerstoffträger und die damit verbundene geringe Sauerstofftransportkapazität [168]. Dies hat zur Folge, dass die isolierten Herzen mit einer höheren koronaren Flussrate als *in vivo* perfundiert werden [169]. Die erhöhte Flussgeschwindigkeit verändert die Scherkräfte entlang des Endothels im Koronarsystem [147]. Durch die Begasung des Puffers mit 95% O_2 wird die Sauerstoffversorgung des Herzens gewährleistet. Die 5% CO_2 erhöhen die Pufferkapazität der verwendeten Lösung [170]. Eine regelmäßige Überwachung des pH-Wertes des modifizierten KHP ist essentiell, da sich pH-Schwankungen im Koronarsystem sowie in der Kontraktilität der Myozyten widerspiegeln [171].

4.2.3 Dexmedetomidin

Der hochselektive α2-Rezeptor Agonist Dex wird im klinischen Alltag routinemäßig als Sedativum sowie zur Vorbeugung eines postoperativen Delirs eingesetzt. Bei großen retrospektiven Studien zeigte sich bei den mit Dex behandelten Personen ein verkürzter Krankenhausaufenthalt nach einer Herzoperation verglichen zu der Patientengruppe, die nicht mit Dex therapiert wurde. Zudem reduzierten sich die Gesamtkomplikationen und die postoperative Mortalität nach einem kardialen Eingriff durch die Applikation von Dex [172,173].

Ein roter Handbrief aus dem Jahre 2022 informiert hingegen darüber, dass die Anwendung von Dex mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko bei Intensivpatienten im Alter von ≤ 65 Jahre assoziiert ist. Der rote Handbrief bezieht sich dabei auf die SPICE III Studie, welche im darauffolgenden Jahr zu unserer Arbeit veröffentlich wurde. Laut dieser Studie stellt das Alter der Patienten eine mögliche Limitierung der Dex Anwendung im klinischen Setting dar [174].

Neben diesen Effekten wirkt sich das Sedativum kardioprotektiv aus. Shenqiang Gao et al. (2022) deuteten darauf hin, dass der Troponin I Spiegel bei Patienten nach einem Herzklappenersatz bei der Behandlung mit Dex geringere Konzentrationen als die Kontrollgruppe aufwies [175]. Eine Reihe von tierexperimentellen Versuchen untermauert diese Beobachtung. Das Medikament führt in der PC und PoC zu einer signifikanten Infarktgrößenreduktion [49,121]. Ein großer Vorteil, den Dex gegenüber anderen pharmakologischen Konditionierungsstrategien aufweist, ist die Unabhängigkeit von Zeitpunkt und Dauer der Anwendung. Bei den Vorversuchen dieser Studie zeigten Bunte et al. (2020), dass zu verschiedenen

Applikationszeitpunkten während der PoC eine vergleichbare infarktgrößenreduzierende Wirkung erreicht werden konnte [49]. Viele andere Medikamente hingegen müssen unmittelbar nach Beginn der Reperfusion appliziert werden, damit sie ihre Wirkung entfalten können. Dieses Merkmal der Dex-induzierten Kardioprotektion bietet den Vorteil eines breiten Anwendungsbereiches im klinischen Setting. Die in unserer Studie verwendete Konzentration von 3 nM stützt sich auf Ergebnisse der zuvor durchgeführten Studien [42,49]. In diesen Arbeiten wurde die kardioprotektive Wirkung von Dex in der PC und PoC nachgewiesen, wobei die Rattenherzen auch hier mit dem KHP mit 11 mmol/L Glukose perfundiert wurden. Ein weiterer Vorteil von Dex im klinischen Alltag ist der Erhalt der protektiven Wirkung unter verschiedenen Komorbiditäten. Bei einer koronaren endothelialen Dysfunktion, ausgelöst durch die Verabreichung von K^+, wird die Schutzfunktion während der PC aufrecht erhalten [176].

In der Studie von Cheng et al. (2018) konnte auch bei DM2 eine signifikante Infarktgrößenreduktion mittels Dex induziert werden. Die Aktivierung des PI3K/Akt-Signalweges und die dadurch hemmende Wirkung auf die Apoptose scheinen hierbei eine Schlüsselrolle zu spielen [73].

Vor diesem Hintergrund wurde in der vorliegenden Studie der Einfluss einer weiteren Komorbidität auf die protektive Wirkung dieses Sedativums untersucht. Die Ergebnisse unserer Arbeit deuten darauf hin, dass eine akute Hyperglykämie die PC mit Dex nicht beeinflusst, wohingegen die kardioprotektive Wirkung von Dex in der PoC vollständig aufgehoben wird [85].

In den letzten Jahren wurde eine Reihe von möglichen Mechanismen eruiert, die möglicherweise an der protektiven Wirkung von Dex beteiligt sind. Dazu zählt unter anderem der PI3K/Akt/mTOR-Signalweg. Durch Anstoßen dieser Signalkaskade können die kardiale Funktion von Ratten nach I/R-Schäden verbessert, freie Sauerstoffradikale eliminiert sowie der oxidative Stress und die Entzündungsreaktion vermindert werden [177]. Innerhalb der Signalkaskade beeinflusst Dex verschiedene Kanäle. Dabei konnte unsere Forschungsgruppe die zentrale Rolle von mitoK_{ATP} und Ca^{2+}-sensitiven Kaliumkanälen (BKCa-Kanäle) an der Dex-induzierten Kardioprotektion darstellen [178,179]. Die protektive Wirkung wird darüber hinaus durch Modifizieren der Apoptose vermittelt. Der Hypoxie induzierbare Faktor 1 alpha (Hif 1-α), ein Schlüssregulator der Ischämie induzierten Apoptose, wird durch das

Sedativum auf posttranskriptioneller Ebene herunterreguliert [180]. Ferner wird die Expression Apoptose verwandter Proteine, wie Caspase 3, moduliert [180].

4.2.4 Hyperglykämie

Bei der Auswahl des Perfusats orientierte sich die Studie an der Literatur [87]. Zur Nachahmung der Normoglykämie nutzten wir den standardgemäß angerührten KHP mit 11 mmol/L Glukose. Diese Glukosekonzentration entspricht nicht dem physiologischen Blutglukosespiegel von Ratten, die in einem Bereich zwischen 5-6 mmol/L liegen [87]. Auch wenn die Glukosekonzentration von 11 mmol/L zunächst sehr hoch erscheint, kann der postprandiale Blutzuckerspiegel von Ratten tatsächlich auf bis zu 10,4 mmol/l ansteigen [165]. Die Wahl dieser sehr hohen Glukosekonzentration im KHP wird in der Literatur damit begründet, dass dadurch der Mangel an alternativen Energiesubstraten kompensiert werden soll [87]. Es besteht auch die Möglichkeit, mit einer geringeren Glukosekonzentration zu arbeiten und alternative Energiesubstrate zu verabreichen. Diese Möglichkeiten haben sich jedoch noch nicht etabliert. Somit bleibt die Konzentration von 11 mmol/L Glukose die meistverwendete für das Langendorff perfundierte Herz [87]. Deshalb wurde auch in der vorliegenden Studie auf diese Konzentration zurückgegriffen, um so eine hohe Vergleichbarkeit unserer Arbeit mit anderen Studien zum Thema Kardioprotektion zu gewährleisten.

Bei der Auswertung der Glukosewerte wiesen die hyperglykämen Gruppen signifikant höhere Glukosekonzentrationen zum Zeitpunkt PT und Reperfusion im Vergleich zur KHP- und den normoglykämen Gruppen auf. Diese Konzentrationen waren auch signifikant höher als die Ausgangswerte (*baseline*) der hyperglykämen Gruppen. Zwischen den einzelnen hyperglykämen Untergruppen manifestierte sich kein signifikanter Unterscheid bei den Glukosewerten zum Zeitpunkt PT und Reperfusion.

4.2.5 Mannitol

Mannitol ist ein Aldit mit 6 Kohlenstoffatomen. Die Summenformel lautet $C_6H_{14}O_6$, woraus sich eine molare Masse von 182,17 g/mol ergibt [181]. Mannitol ist ein Osmotherapeutikum, das bereits einen großen Anwendungsbereich im klinischen Alltag aufweist. Eines der Haupteinsatzgebiete von Mannitol ist die Behandlung des

erhöhten Hirndrucks [142]. Darüber hinaus weist die Substanz nephro- [182] und kardioprotektive Wirkungen [85,143] auf. Diese werden unter anderem durch die hyperosmolaren [183] und radikalfangenden Eigenschaften [142,143] sowie Erhöhungen des KF [143,181], Verringerung der Myokardödembildung [143] und Auswirkung auf die mitoK_{ATP} Kanäle [184] vermittelt.

Die Konzentration von 11 mmol/L Mannitol ergibt sich aus der Konzentration von 22 mmol/L Glukose, die üblicherweise in Experimenten verwendet wird, um den Einfluss einer akuten Hyperglykämie auf verschiedene Konditionierungsstrategien zu untersuchen [93,103,129]. Die 11 mmol/L Glukose aus dem KHP und die zugeführten 11 mmol/L Mannitol ergaben eine Monosaccharidkonzentration am Herzen von 22 mmol/L. Zudem entspricht die Mannitolkonzentration etwa 1g/kg Körpergewicht, welche die routinemäßige Dosierung im klinischen Alltag widerspiegelt [184].

Wie zuvor beschrieben, weist das Osmotherapeutikum radikalfangende Eigenschaften auf, die vermutlich über die Regulierung von ROS vermittelt werden. Ouriel und Kollegen (1985) vermuteten, dass Mannitol das Herz durch die Hyperosmolarität und möglicherweise auch durch die Bindung freier Radikale schützen kann [185]. Allerdings konnte diese Annahme der Kardioprotektion durch eine *ex vivo* Studie von Pastukh et al. (2005) nicht bestätigt werden [186]. Die osmotisch vermittelte Kardioprotektion soll vielmehr über Aktivierung des PI3/Akt-Signalweges induziert werden [186]. Da Mannitol im extrazellulären Kompartiment verbleibt, stellt sich die Frage, wie der Signalweg angestoßen wird. Torregroza et al. (2021) konnten die Beteiligung des Adenosin-1 Rezeptors nachweisen [139]. In der gleichen Studie jedoch zeigte sich unerwarteter Weise, dass die Proteinkinasen Akt und PKG nicht an der Mannitol-induzierten PC beteiligt sind [139]. Der zugrunde liegende Mechanismus des Mannitol-induzierten Myokardschutzes ist bis heute nicht abschließend geklärt.

4.3 Limitationen der Studie

In der Studie sollte der Effekt einer akuten Hyperglykämie auf die infarktgrößenreduzierende Wirkung von Dex untersucht werden. Die Studie hat nicht zur Aufklärung zugrunde liegender Mechanismen oder Signalwege beigetragen, die die kardioprotektive Wirkung von Dex vermitteln. Für die Klärung dieser Fragestellung sind weitere Folgestudien notwendig. Bezugnehmend auf die kardioprotektiven Effekte

von Mannitol konnten in zwei weiteren Studien dieser Arbeitsgruppe bereits beteiligte Signalwege und Mediatoren herausgearbeitet werden.

4.4 Schlussfolgerung

In den letzten Jahren erfährt die Studienlage zu kardioprotektiven Maßnahmen einen großen Zuwachs. Die Konditionierungsstrategien erfuhren einen Wandel von invasiven Verfahren zu pharmakologischen Interventionen. In experimentellen Studien konnte eine Vielzahl von Medikamenten mit kardioprotektiven Eigenschaften herausgestellt werden. Ein vielversprechender Ansatz ist die Verabreichung von Dex zur Kardioprotektion bei I/R-Schaden. Der hochselektive α2-Rezeptor Agonist Dex wird im klinischen Alltag bereits routinemäßig als Sedativum sowie zur Vorbeugung eines postoperativen Delirs eingesetzt. Die Übertragbarkeit der tierexperimentellen Ergebnisse in den klinischen Alltag blieb jedoch bisher ernüchternd. In diesem Zusammenhang spielen die Komorbiditäten der erkrankten Personen eine große Rolle. Insbesondere der Einfluss von DM in Verbindung mit einer akuten Hyperglykämie sollte im Kontext der Kardioprotektion sorgfältig erforscht werden.

Die Ergebnisse unserer Arbeit deuten darauf hin, dass eine akute Hyperglykämie die PC mit Dex nicht beeinflusst, wohingegen die kardioprotektive Wirkung von Dex in der PoC vollständig aufgehoben wird.

Dabei rückt vor allem die PoC im klinischen Alltag in den Vordergrund, da der Zeitpunkt einer Myokardischämie häufig nicht vorhersehbar ist. Für weitere Studien sollte das Ergebnis unserer Arbeit während der PoC mit Dex berücksichtigt werden.

Ferner konnten kardioprotektive Eigenschaften von Mannitol aufgezeigt werden. Dies ermöglicht einen weiteren vielversprechenden Ansatz in der Prävention von I/R-Schäden, da Mannitol bereits einen großen Anwendungsbereich im klinischen Alltag aufweist. Zum jetzigen Zeitpunkt sind die vorliegenden Ergebnisse ein Ansatzpunkt für weitere Forschungen, bevor eine Übertragung in den klinischen Alltag denkbar wäre.

5 Literatur- und Quellenverzeichnis

[1] Statistisches Bundesamt (Destatis). Todesursachen nach Krankheitsarten 2021. Destatis-Stat Bundesamt 2023. https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/_inhalt.html#sprg229156 (accessed March 30, 2023).

[2] Statistisches Bundesamt (Destatis). Die 10 häufigsten Todesfälle durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Destatis-Stat Bundesamt 2022. https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/sterbefaelle-herz-kreislauf-erkrankungen-insgesamt.html. (accessed March 30, 2023).

[3] Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. Science 1973;180:1332–9.

[4] Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische KHK, Version 6.0. 2022. (cited: 2022-11-21). DOI: 10.6101/AZQ/000491. www.leitlinien.de/khk.

[5] Heusch G, Gersh BJ. The pathophysiology of acute myocardial infarction and strategies of protection beyond reperfusion: a continual challenge. Eur Heart J 2017;38:774–84.

[6] Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. Arch Pathol 1960;70:68–78.

[7] Piper HM, Garcña-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury1. Cardiovasc Res 1998;38:291–300.

[8] Inserte J, Hernando V, Garcia-Dorado D. Contribution of calpains to myocardial ischaemia/reperfusion injury. Cardiovasc Res 2012;96:23–31.

[9] Piper HM, Meuter K, Schäfer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. Ann Thorac Surg 2003;75:S644–8.

[10] Cherry AD. Mitochondrial Dysfunction in Cardiac Surgery. Anesthesiol Clin 2019;37:769–85.

[11] Griffiths EJ, Ocampo CJ, Savage JS, Rutter GA, Hansford RG, Stern MD, et al. Mitochondrial calcium transporting pathways during hypoxia and reoxygenation in single rat cardiomyocytes. Cardiovasc Res 1998;39:423–33.

[12] Halestrap AP. What is the mitochondrial permeability transition pore? J Mol Cell Cardiol 2009;46:821–31.

[13] Kowaltowski AJ, Vercesi AE. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. Free Radic Biol Med 1999;26:463–71.

[14] Ruiz-Meana M, Abellán A, Miró-Casas E, Agulló E, Garcia-Dorado D. Role of sarcoplasmic reticulum in mitochondrial permeability transition and cardiomyocyte death during reperfusion. Am J Physiol-Heart Circ Physiol 2009;297:H1281–9.

[15] Siegmund B, Zude R, Piper HM. Recovery of anoxic-reoxygenated cardiomyocytes from severe Ca2+ overload. Am J Physiol-Heart Circ Physiol 1992;263:H1262–9.

[16] Venetucci LA, Trafford AW, O'Neill SC, Eisner DA. The sarcoplasmic reticulum and arrhythmogenic calcium release. Cardiovasc Res 2008;77:285–92.

[17] Ruiz-Meana Marisol, Garcia-Dorado David, Hofstaetter Bettina, Piper H.

Michael, Soler-Soler Jordi. Propagation of Cardiomyocyte Hypercontracture by Passage of Na+ Through Gap Junctions. Circ Res 1999;85:280–7.
[18] Tanveer A, Virji S, Andreeva L, Totty NF, Hsuan JJ, Ward JM, et al. Involvement of cyclophilin D in the activation of a mitochondrial pore by Ca2+ and oxidant stress. Eur J Biochem 1996;238:166–72.
[19] Chen Y-R, Zweier JL. CARDIAC MITOCHONDRIA AND ROS GENERATION. Circ Res 2014;114:524–37.
[20] Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the Myocardium: From Cellular Physiology to Clinical Cardiology. Physiol Rev 2003;83:1113–51.
[21] Cao C, Wang S, Fan L, Wan X, Liu X, Chen X. Renal protection by ischemic preconditioning is associated with p50/p50 homodimers. Am J Nephrol 2010;31:1–8.
[22] Clavien P-A, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective Effects of Ischemic Preconditioning for Liver Resection Performed Under Inflow Occlusion in Humans. Ann Surg 2000;232:155–62.
[23] Wu C, Zhan RZ, Qi S, Fujihara H, Taga K, Shimoji K. A forebrain ischemic preconditioning model established in C57Black/Crj6 mice. J Neurosci Methods 2001;107:101–6.
[24] Yellon DM, Hausenloy DJ. Realizing the clinical potential of ischemic preconditioning and postconditioning. Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2005;2:568–75.
[25] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986;74:1124–36.
[26] Marongiu E, Crisafulli A. Cardioprotection Acquired Through Exercise: The Role of I schemic Preconditioning. Curr Cardiol Rev 2014;10:336–48.
[27] Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the Myocardium: From Cellular Physiology to Clinical Cardiology. Physiol Rev 2003;83:1113–51.
[28] Crisostomo PR, Wairiuko GM, Wang M, Tsai BM, Morrell ED, Meldrum DR. Preconditioning versus postconditioning: mechanisms and therapeutic potentials. J Am Coll Surg 2006;202:797–812.
[29] Zhao Z-Q, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang N-P, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003;285:H579-588.
[30] Lupi Herrera E, Gaspar J, González Pacheco H, Martínez Sánchez C, Pastelín Hernández G, Luna Ortiz P, et al. [Reperfusion and postconditioning in acute ST segment elevation myocardial infarction. A new paradigm for the treatment of acute myocardial infarction. From bench to bedside?]. Arch Cardiol Mex 2006;76 Suppl 4:S76-101.
[31] Baxter GF, Ebrahim Z. Role of bradykinin in preconditioning and protection of the ischaemic myocardium. Br J Pharmacol 2002;135:843–54.
[32] Heusch G. Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic. The Lancet 2013;381:166–75.
[33] Bourke L, McCormick J, Taylor V, Pericleous C, Blanchet B, Costedoat-Chalumeau N, et al. Hydroxychloroquine Protects against Cardiac Ischaemia/Reperfusion Injury In Vivo via Enhancement of ERK1/2 Phosphorylation. PloS One 2015;10:e0143771.
[34] Weerateerangkul P, Chattipakorn S, Chattipakorn N. Roles of the nitric oxide signaling pathway in cardiac ischemic preconditioning against myocardial ischemia-reperfusion injury. Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res 2011;17:RA44–52.

[35] Soares ROS, Losada DM, Jordani MC, Évora P, Castro-e-Silva O. Ischemia/Reperfusion Injury Revisited: An Overview of the Latest Pharmacological Strategies. Int J Mol Sci 2019;20.
[36] Hausenloy D. The mitochondrial permeability transition pore: its fundamental role in mediating cell death during ischaemia and reperfusion. J Mol Cell Cardiol 2003;35:339–41.
[37] Perrelli M-G, Pagliaro P, Penna C. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species. World J Cardiol 2011;3:186–200.
[38] Rosenberg JH, Werner JH, Moulton MJ, Agrawal DK. Current Modalities and Mechanisms Underlying Cardioprotection by Ischemic Conditioning. J Cardiovasc Transl Res 2018;11:292–307.
[39] Caricati-Neto A, Errante PR, Menezes-Rodrigues FS. Recent Advances in Pharmacological and Non-Pharmacological Strategies of Cardioprotection. Int J Mol Sci 2019;20.
[40] Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Isoflurane Mimics Ischemic Preconditioning via Activation of KATPChannels : Reduction of Myocardial Infarct Size with An Acute Memory Phase. Anesthesiology 1997;87:361–70.
[41] Huhn R, Heinen A, Weber NC, Hollmann MW, Schlack W, Preckel B. Hyperglycaemia blocks sevoflurane-induced postconditioning in the rat heart in vivo: cardioprotection can be restored by blocking the mitochondrial permeability transition pore. Br J Anaesth 2008;100:465–71.
[42] Behmenburg F, Pickert E, Mathes A, Heinen A, Hollmann MW, Huhn R, et al. The Cardioprotective Effect of Dexmedetomidine in Rats Is Dose-Dependent and Mediated by BKCa Channels. J Cardiovasc Pharmacol 2017;69:228–35.
[43] Belleville JP, Ward DS, Bloor BC, Maze M. Effects of Intravenous Dexmedetomidine in Humans: I. Sedation, Ventilation, and Metabolic Rate. Anesthesiology 1992;77:1125–33.
[44] Segal IS, Vickery RG, Walton JK, Doze VA, Maze M. Dexmedetomidine Diminishes Halothane Anesthetic Requirements in Rats Through a Postsynaptic Alpha2 Adrenergic Receptor. Anesthesiology 1988;69:818–23.
[45] Weerink MAS, Struys MMRF, Hannivoort LN, Barends CRM, Absalom AR, Colin P. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine. Clin Pharmacokinet 2017;56:893–913.
[46] Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colinco MD. The Effects of Increasing Plasma Concentrations of Dexmedetomidine in Humans. Anesthesiology 2000;93:382–94.
[47] Bao N, Tang B. Organ-Protective Effects and the Underlying Mechanism of Dexmedetomidine. Mediators Inflamm 2020;2020:6136105.
[48] Hall JE, Uhrich TD, Barney JA, Arain SR, Ebert TJ. Sedative, Amnestic, and Analgesic Properties of Small-Dose Dexmedetomidine Infusions. Anesth Analg 2000;90:699–705.
[49] Bunte S, Behmenburg F, Majewski N, Stroethoff M, Raupach A, Mathes A, et al. Characteristics of Dexmedetomidine Postconditioning in the Field of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. Anesth Analg 2020;130:90–8.
[50] 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. Biochim Biophys Acta 2012;1822:537–45.
[51] Turan A, Bashour CA, You J, Kirkova Y, Kurz A, Sessler DI, et al.

Dexmedetomidine sedation after cardiac surgery decreases atrial arrhythmias. J Clin Anesth 2014;26:634–42.
[52] Bunte S, Behmenburg F, Majewski N, Stroethoff M, Raupach A, Mathes A, et al. Characteristics of Dexmedetomidine Postconditioning in the Field of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. Anesth Analg 2020;130:90–8.
[53] Castillo RL, Ibacache M, Cortínez I, Carrasco-Pozo C, Farías JG, Carrasco RA, et al. Dexmedetomidine Improves Cardiovascular and Ventilatory Outcomes in Critically Ill Patients: Basic and Clinical Approaches. Front Pharmacol 2019;10:1641.
[54] Dj H, L C, R E, C A, Dp J, S K, et al. Effect of Remote Ischaemic preconditioning on Clinical outcomes in patients undergoing Coronary Artery bypass graft surgery (ERICCA study): a multicentre double-blind randomised controlled clinical trial. Effic Mech Eval 2016;3.
[55] Meybohm P, Bein B, Brosteanu O, Cremer J, Gruenewald M, Stoppe C, et al. A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. N Engl J Med 2015;373:1397–407.
[56] Garratt KN, Whittaker P, Przyklenk K. Remote Ischemic Conditioning and the Long Road to Clinical Translation: Lessons Learned From ERICCA and RIPHeart. Circ Res 2016;118:1052–4.
[57] Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations. J Am Coll Cardiol 1999;34:1348–59.
[58] Behmenburg F, Heinen A, Bruch L vom, Hollmann MW, Huhn R. Cardioprotection by Remote Ischemic Preconditioning is Blocked in the Aged Rat Heart in Vivo. J Cardiothorac Vasc Anesth 2017;31:1223–6.
[59] Huhn R, Weber NC, Preckel B, Schlack W, Bauer I, Hollmann MW, et al. Age-related loss of cardiac preconditioning: Impact of protein kinase A. Exp Gerontol 2012;47:116–21.
[60] Ferdinandy P, Hausenloy DJ, Heusch G, Baxter GF, Schulz R. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning. Pharmacol Rev 2014;66:1142–74.
[61] Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. Pharmacol Rev 2007;59:418–58.
[62] Aguilar D, Solomon SD, Køber L, Rouleau J-L, Skali H, McMurray JJV, et al. Newly Diagnosed and Previously Known Diabetes Mellitus and 1-Year Outcomes of Acute Myocardial Infarction. Circulation 2004;110:1572–8.
[63] Singer DE, Moulton AW, Nathan DM. Diabetic myocardial infarction. Interaction of diabetes with other preinfarction risk factors. Diabetes 1989;38:350–7.
[64] Zairis MN, Lyras AG, Makrygiannis SS, Psarogianni PK, Adamopoulou EN, Handanis SM, et al. Type 2 Diabetes and Intravenous Thrombolysis Outcome in the Setting of ST Elevation Myocardial Infarction. Diabetes Care 2004;27:967–71.
[65] Abbott RD, Donahue RP, Kannel WB, Wilson PWF. The Impact of Diabetes on Survival Following Myocardial Infarction in Men vs Women: The Framingham Study. JAMA 1988;260:3456–60.
[66] Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and AtherosclerosisEpidemiology, Pathophysiology, and Management. JAMA 2002;287:2570–81.
[67] Ärzteblatt DÄG Redaktion Deutsches. Diabetes mellitus: Inzidenz und Prävalenz steigen in Deutschland. Dtsch Ärztebl 2017.

https://www.aerzteblatt.de/archiv/187959/Diabetes-mellitus-Inzidenz-und-Praevalenz-steigen-in-Deutschland (accessed December 5, 2020).
[68] Ma G, Al-Shabrawey M, Johnson JA, Datar R, Tawfik HE, Guo D, et al. Protection against myocardial ischemia/reperfusion injury by short-term diabetes: enhancement of VEGF formation, capillary density, and activation of cell survival signaling. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2006;373:415–27.
[69] Tosaki A, Engelman DT, Engelman RM, Das DK. The evolution of diabetic response to ischemia/reperfusion and preconditioning in isolated working rat hearts. Cardiovasc Res 1996;31:526–36.
[70] Kristiansen SB, Løfgren B, Støttrup NB, Khatir D, Nielsen-Kudsk JE, Nielsen TT, et al. Ischaemic preconditioning does not protect the heart in obese and lean animal models of type 2 diabetes. Diabetologia 2004;47:1716–21.
[71] Ravingerova T, Stetka R, Volkovova K, Pancza D, Dzurba A, Ziegelhöffer A, et al. Acute diabetes modulates response to ischemia in isolated rat heart. Mol Cell Biochem 2000;210:143–51.
[72] Lee T-M, Chou T-F. Impairment of myocardial protection in type 2 diabetic patients. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:531–7.
[73] Cheng X, Hu J, Wang Y, Ye H, Li X, Gao Q, et al. Effects of Dexmedetomidine Postconditioning on Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Diabetic Rats: Role of the PI3K/Akt-Dependent Signaling Pathway. J Diabetes Res 2018;2018:3071959.
[74] Ceriello A. Acute hyperglycaemia: a “new” risk factor during myocardial infarction. Eur Heart J 2005;26:328–31.
[75] Weber NC, Goletz C, Huhn R, Grueber Y, Preckel B, Schlack W, et al. Blockade of anaesthetic-induced preconditioning in the hyperglycaemic myocardium: the regulation of different mitogen-activated protein kinases. Eur J Pharmacol 2008;592:48–54.
[76] Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Hyperglycemia prevents isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction. Anesthesiology 2002;96:183–8.
[77] Marfella R, Nappo F, De Angelis L, Siniscalchi M, Rossi F, Giugliano D. The effect of acute hyperglycaemia on QTc duration in healthy man. Diabetologia 2000;43:571–5.
[78] Williams SB, Goldfine AB, Timimi FK, Ting HH, Roddy MA, Simonson DC, et al. Acute hyperglycemia attenuates endothelium-dependent vasodilation in humans in vivo. Circulation 1998;97:1695–701.
[79] Ceriello A. Acute hyperglycaemia and oxidative stress generation. Diabet Med J Br Diabet Assoc 1997;14 Suppl 3:S45-49.
[80] Meybohm P, Kohlhaas M, Stoppe C, Gruenewald M, Renner J, Bein B, et al. RIPHeart (Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery) Study: Myocardial Dysfunction, Postoperative Neurocognitive Dysfunction, and 1 Year Follow-Up. J Am Heart Assoc 2018;7.
[81] Khalfallah M, Abdelmageed R, Elgendy E, Hafez YM. Incidence, predictors and outcomes of stress hyperglycemia in patients with ST elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. Diab Vasc Dis Res 2020;17:1479164119883983.
[82] Norhammar A, Tenerz A, Nilsson G, Hamsten A, Efendíc S, Rydén L, et al. Glucose metabolism in patients with acute myocardial infarction and no previous diagnosis of diabetes mellitus: a prospective study. Lancet Lond Engl 2002;359:2140–4.

[83] Marik PE, Bellomo R. Stress hyperglycemia: an essential survival response! Crit Care 2013;17:305.
[84] Krebs HA, Henseleit K. Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. Klin Wochenschr 1932;11:757–9.
[85] 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. J Clin Med 2020; 13;9(5):1445.
[86] Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen. Arch Für Gesamte Physiol Menschen Tiere 1895;61:291–332.
[87] Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. J Mol Cell Cardiol 2011;50:940–50.
[88] Behmenburg F, Pickert E, Mathes A, Heinen A, Hollmann MW, Huhn R, et al. The Cardioprotective Effect of Dexmedetomidine in Rats Is Dose-Dependent and Mediated by BKCa Channels. J Cardiovasc Pharmacol 2017;69:228–35.
[89] Bunte S, Behmenburg F, Majewski N, Stroethoff M, Raupach A, Mathes A, et al. Characteristics of Dexmedetomidine Postconditioning in the Field of Myocardial Ischemia–Reperfusion Injury. Anesth Analg 2020;130:90–8.
[90] Fang W. Effect of dexmedetomidine postconditioning on mitochondria injury during myocardial ischemiia-reperfusion in isolated rat hearts, 2011.
[91] Baranyai T, Nagy CT, Koncsos G, Onódi Z, Károlyi-Szabó M, Makkos A, et al. Acute hyperglycemia abolishes cardioprotection by remote ischemic perconditioning. Cardiovasc Diabetol 2015;14:151.
[92] Kristiansen SB, Pælestik KB, Johnsen J, Jespersen NR, Pryds K, Hjortbak MV, et al. Impact of hyperglycemia on myocardial ischemia-reperfusion susceptibility and ischemic preconditioning in hearts from rats with type 2 diabetes. Cardiovasc Diabetol 2019;18:66.
[93] Goergens JI, Heinen NM, Zoller J, Preckel B, Bauer I, Huhn R, et al. Influence of Hyperglycemia During Different Phases of Ischemic Preconditioning on Cardioprotection-A Focus On Apoptosis and Aggregation of Granulocytes. Shock Augusta Ga 2019.
[94] Klein HH, Puschmann S, Schaper J, Schaper W. The mechanism of the tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction. Virchows Arch A 1981;393:287–97.
[95] Ainla T, Baburin A, Teesalu R, Rahu M. The association between hyperglycaemia on admission and 180-day mortality in acute myocardial infarction patients with and without diabetes. Diabet Med 2005;22:1321–5.
[96] Doenst T, Wijeysundera D, Karkouti K, Zechner C, Maganti M, Rao V, et al. Hyperglycemia during cardiopulmonary bypass is an independent risk factor for mortality in patients undergoing cardiac surgery. J Thorac Cardiovasc Surg 2005;130:1144.e1-1144.e8.
[97] Oswald GA, Smith CC, Betteridge DJ, Yudkin JS. Determinants and importance of stress hyperglycaemia in non-diabetic patients with myocardial infarction. Br Med J Clin Res Ed 1986;293:917–22.
[98] Gokhroo R, Mittal SR. Electrocardiographic correlates of hyperglycemia in acute myocardial infarction. Int J Cardiol 1989;22:267–9.
[99] Ishihara M, Inoue I, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, Nishioka K, et al. Impact of acute hyperglycemia on left ventricular function after reperfusion therapy in patients with a first anterior wall acute myocardial infarction. Am Heart J 2003;146:674–8.
[100] Oswald GA, Smith CC, Delamothe AP, Betteridge DJ, Yudkin JS. Raised concentrations of glucose and adrenaline and increased in vivo platelet

activation after myocardial infarction. Br Heart J 1988;59:663–71.
[101] Sakamoto T, Ogawa H, Kawano H, Hirai N, Miyamoto S, Takazoe K, et al. Rapid change of platelet aggregability in acute hyperglycemia. Detection by a novel laser-light scattering method. Thromb Haemost 2000;83:475–9.
[102] Giugliano D, Marfella R, Coppola L, Verrazzo G, Acampora R, Giunta R, et al. Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine. Evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. Circulation 1997;95:1783–90.
[103] Baranyai T, Nagy CT, Koncsos G, Onódi Z, Károlyi-Szabó M, Makkos A, et al. Acute hyperglycemia abolishes cardioprotection by remote ischemic perconditioning. Cardiovasc Diabetol 2015;14:151.
[104] Kersten JR, Schmeling TJ, Orth KG, Pagel PS, Warltier DC. Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning in vivo. Am J Physiol 1998;275:H721-725.
[105] Yang Z, Tian Y, Liu Y, Hennessy S, Kron IL, French BA. Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning by inhibiting Akt phosphorylation: normalizing blood glucose before ischemia restores ischemic preconditioning. Oxid Med Cell Longev 2013;2013:329183.
[106] Chen L, Chen M, Du J, Wan L, Zhang L, Gu E. Hyperglycemia attenuates remifentanil postconditioning-induced cardioprotection against hypoxia/reoxygenation injury in H9c2 cardiomyoblasts. J Surg Res 2016;203:483–90.
[107] Kehl F, Krolikowski JG, Weihrauch D, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. N-acetylcysteine restores isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction during hyperglycemia. Anesthesiology 2003;98:1384–90.
[108] Hu Y, Block G, Norkus EP, Morrow JD, Dietrich M, Hudes M. Relations of glycemic index and glycemic load with plasma oxidative stress markers. Am J Clin Nutr 2006;84:70–6; quiz 266–7.
[109] Yang Z, Laubach VE, French BA, Kron IL. Acute hyperglycemia enhances oxidative stress and exacerbates myocardial infarction by activating nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase during reperfusion. J Thorac Cardiovasc Surg 2009;137:723–9.
[110] Sedlic F, Muravyeva M, Sepac A, Sedlic M, Williams AM, Yang M, et al. Targeted modification of mitochondrial ROS production converts high glucose-induced cytotoxicity to cytoprotection: Effects on anesthetic preconditioning. J Cell Physiol 2017;232:216–24.
[111] Queliconi BB, Wojtovich AP, Nadtochiy SM, Kowaltowski AJ, Brookes PS. Redox regulation of the mitochondrial K(ATP) channel in cardioprotection. Biochim Biophys Acta 2011;1813:1309–15.
[112] Vanden Hoek TL, Becker LB, Shao Z, Li C, Schumacker PT. Reactive oxygen species released from mitochondria during brief hypoxia induce preconditioning in cardiomyocytes. J Biol Chem 1998;273:18092–8.
[113] Rottenberg H, Hoek JB. The path from mitochondrial ROS to aging runs through the mitochondrial permeability transition pore. Aging Cell 2017;16:943–55.
[114] Saotome M, Katoh H, Yaguchi Y, Tanaka T, Urushida T, Satoh H, et al. Transient opening of mitochondrial permeability transition pore by reactive oxygen species protects myocardium from ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol-Heart Circ Physiol 2009;296:H1125–32.
[115] Weiss JN, Korge P, Honda HM, Ping P. Role of the Mitochondrial Permeability Transition in Myocardial Disease. Circ Res 2003;93:292–301.
[116] Jonassen AK, Sack MN, Mjøs OD, Yellon DM. Myocardial protection by insulin

at reperfusion requires early administration and is mediated via Akt and p70s6 kinase cell-survival signaling. Circ Res 2001;89:1191–8.
[117] Nakadate Y, Sato H, Oguchi T, Sato T, Kawakami A, Ishiyama T, et al. Glycemia and the cardioprotective effects of insulin pre-conditioning in the isolated rat heart. Cardiovasc Diabetol 2017;16:43.
[118] Raphael J, Gozal Y, Navot N, Zuo Z. Hyperglycemia inhibits anesthetic-induced postconditioning in the rabbit heart via modulation of phosphatidylinositol-3-kinase/Akt and endothelial nitric oxide synthase signaling. J Cardiovasc Pharmacol 2010;55:348–57.
[119] Chiari PC, Bienengraeber MW, Pagel PS, Krolikowski JG, Kersten JR, Warltier DC. Isoflurane Protects against Myocardial Infarction during Early Reperfusion by Activation of Phosphatidylinositol-3-Kinase Signal Transduction: Evidence for Anesthetic-induced Postconditioning in Rabbits. Anesthesiology 2005;102:102–9.
[120] Krolikowski JG, Weihrauch D, Bienengraeber M, Kersten JR, Warltier DC, Pagel PS. Le rôle des Erk1/2, p70s6K et eNOS dans la cardioprotection induite par l'isoflurane pendant la reperfusion in vivo précoce. Can J Anesth 2006;53:174–82.
[121] Cheng XY, Gu XY, Gao Q, Zong QF, Li XH, Zhang Y. Effects of dexmedetomidine postconditioning on myocardial ischemia and the role of the PI3K/Akt-dependent signaling pathway in reperfusion injury. Mol Med Rep 2016;14:797–803.
[122] Riquelme JA, Westermeier F, Hall AR, Vicencio JM, Pedrozo Z, Ibacache M, et al. Dexmedetomidine protects the heart against ischemia-reperfusion injury by an endothelial eNOS/NO dependent mechanism. Pharmacol Res 2016;103:318–27.
[123] Sun Y, Jiang C, Jiang J, Qiu L. Dexmedetomidine protects mice against myocardium ischaemic/reperfusion injury by activating an AMPK/PI3K/Akt/eNOS pathway. Clin Exp Pharmacol Physiol 2017;44:946–53.
[124] Heusch G. Molecular Basis of Cardioprotection. Circ Res 2015;116:674–99.
[125] Jiang C, Xia M, Wang M, Chen S. [Dexmedetomidine preconditioning protects isolated rat hearts against ischemia/reperfusion injuries and its mechanism]. Zhejiang Xue Xue Bao Yi Xue Ban J Zhejiang Univ Med Sci 2013;42:326–30.
[126] Yuan F, Fu H, Sun K, Wu S, Dong T. Effect of dexmedetomidine on cerebral ischemia-reperfusion rats by activating mitochondrial ATP-sensitive potassium channel. Metab Brain Dis 2017;32:539–46.
[127] Shinbo A, Iijima T. Potentiation by nitric oxide of the ATP-sensitive K+ current induced by K+ channel openers in guinea-pig ventricular cells. Br J Pharmacol 1997;120:1568–74.
[128] Giugliano D, Marfella R, Coppola L, Verrazzo G, Acampora R, Giunta R, et al. Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine. Evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. Circulation 1997;95:1783–90.
[129] Huhn R, Heinen A, Weber NC, Hollmann MW, Schlack W, Preckel B. Hyperglycaemia blocks sevoflurane-induced postconditioning in the rat heart in vivo: cardioprotection can be restored by blocking the mitochondrial permeability transition pore. Br J Anaesth 2008;100:465–71.
[130] Willerson JT, Powell WJ, Guiney TE, Stark JJ, Sanders CA, Leaf A. Improvement in myocardial function and coronary blood flow in ischemic myocardium after mannitol. J Clin Invest 1972;51:2989–98.
[131] Willerson JT, Watson JT, Hutton I, Fixler DE, Curry GC, Templeton GH. The

influence of hypertonic mannitol on regional myocardial blood flow during acute and chronic myocardial ischemia in anesthetized and awake intact dogs. J Clin Invest 1975;55:892–902.
[132] Kloner RA, Reimer KA, Willerson JT, Jennings RB. Reduction of Experimental Myocardial Infarct Size with Hyperosmolar Mannitol. Proc Soc Exp Biol Med 1976;151:677–83.
[133] Yeatman M, Bernier M, Hearse DJ. Mannitol and reperfusion-induced arrhythmias: possible mechanisms of action in the isolated rat heart. Can J Cardiol 1988;4:287–94.
[134] Pimentel RN, Petroni RC, Barbeiro HV, Barbeiro DF, Andrade MM, Ariga SK, et al. Hypertonic solution-induced preconditioning reduces inflammation and mortality rate. J Inflamm 2019;16:16.
[135] Oreopoulos GD, Wu H, Szaszi K, Fan J, Marshall JC, Khadaroo RG, et al. Hypertonic preconditioning prevents hepatocellular injury following ischemia/reperfusion in mice: a role for interleukin 10. Hepatol Baltim Md 2004;40:211–20.
[136] Chen H, Shen W-L, Wang X-H, Chen H-Z, Gu J-Z, Fu J, et al. Paradoxically enhanced heart tolerance to ischaemia in type 1 diabetes and role of increased osmolarity. Clin Exp Pharmacol Physiol 2006;33:910–6.
[137] Chiong M, Parra V, Eisner V, Ibarra C, Maldonado C, Criollo A, et al. Parallel activation of Ca(2+)-induced survival and death pathways in cardiomyocytes by sorbitol-induced hyperosmotic stress. Apoptosis Int J Program Cell Death 2010;15:887–903.
[138] Feige K, Rubbert J, Raupach A, Stroethoff M, Heinen A, Hollmann MW, et al. Cardioprotective Properties of Mannitol-Involvement of Mitochondrial Potassium Channels. Int J Mol Sci 2021;22:2395.
[139] Torregroza C, Glashoerster CO, Feige K, Stroethoff M, Raupach A, Heinen A, et al. Mediation of the Cardioprotective Effects of Mannitol Discovered, with Refutation of Common Protein Kinases. Int J Mol Sci 2021;22:12471.
[140] Zálešák M, BlaŽíček P, Pancza D, Gablovský I, Štrbák V, Ravingerová T. Hyperosmotic environment blunts effectivity of ischemic preconditioning against ischemia-reperfusion injury and improves ischemic tolerance in non-preconditioned isolated rat hearts. Physiol Res 2016;65:1045–51.
[141] Pastukh V, Ricci C, Solodushko V, Mozaffari M, Schaffer SW. Contribution of the PI 3-kinase/Akt survival pathway toward osmotic preconditioning. Mol Cell Biochem 2005;269:59–67.
[142] Davis M, Lucatorto M. Mannitol revisited. J Neurosci Nurs J Am Assoc Neurosci Nurses 1994;26:170–4.
[143] Magovern GJ, Bolling SF, Casale AS, Bulkley BH, Gardner TJ. The mechanism of mannitol in reducing ischemic injury: hyperosmolarity or hydroxyl scavenger. Circulation 1984;70:I91-5.
[144] Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. Circulation 1982;66:1146–9.
[145] Bolli R, Zhu WX, Thornby JI, O'Neill PG, Roberts R. Time course and determinants of recovery of function after reversible ischemia in conscious dogs. Am J Physiol 1988;254:H102-114.
[146] Zimmer H-G. The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers. Physiology 1998;13:203–10.
[147] Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szelag A, Schulz R. Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium. J Pharmacol Toxicol Methods 2007;55:113–26.

[148] Sutherland FJ, Hearse DJ. THE ISOLATED BLOOD AND PERFUSION FLUID PERFUSED HEART. Pharmacol Res 2000;41:613–27.
[149] Gordon CJ. 24-hour control of body temperature in rats. I. Integration of behavioral and autonomic effectors. Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol 1994;267:R71–7.
[150] Sutherland FJ, Shattock MJ, Baker KE, Hearse DJ. Mouse isolated perfused heart: Characteristics and cautions. Clin Exp Pharmacol Physiol 2003;30:867–78.
[151] Fukunami M, Hearse DJ. The inotropic consequences of cooling: studies in the isolated rat heart. Heart Vessels 1989;5:1–9.
[152] Khaliulin I, Clarke SJ, Lin H, Parker J, Suleiman M-S, Halestrap AP. Temperature preconditioning of isolated rat hearts – a potent cardioprotective mechanism involving a reduction in oxidative stress and inhibition of the mitochondrial permeability transition pore. J Physiol 2007;581:1147.
[153] Hörmann P, Wanitschek M, Metzler B, Alber H. Milde therapeutische Hypotherapie beim Myokardinfarkt. J Für Kardiologie - Austrian J Cardiol 2012:19 (9-10),274-276.
[154] Chien GL, Wolff RA, Davis RF, van Winkle DM. “Normothermic range” temperature affects myocardial infarct size. Cardiovasc Res 1994;28:1014–7.
[155] Basalay MV, Yellon DM, Davidson SM. Targeting myocardial ischaemic injury in the absence of reperfusion. Basic Res Cardiol 2020;115:63.
[156] Ferrera R, Benhabbouche S, Bopassa JC, Li B, Ovize M. One Hour Reperfusion is Enough to Assess Function and Infarct Size With TTC Staining in Langendorff Rat Model. Cardiovasc Drugs Ther 2009;23:327–31.
[157] Schwarz ER, Somoano Y, Hale SL, Kloner RA. What is the Required Reperfusion Period for Assessment of Myocardial Infarct Size Using Triphenyltetrazolium Chloride Staining in the Rat? J Thromb Thrombolysis 2000;10:181–7.
[158] Ostadal B, Netuka I, Maly J, Besik J, Ostadalova I. Gender differences in cardiac ischemic injury and protection--experimental aspects. Exp Biol Med Maywood NJ 2009;234:1011–9.
[159] Booth EA, Marchesi M, Kilbourne EJ, Lucchesi BR. 17Beta-estradiol as a receptor-mediated cardioprotective agent. J Pharmacol Exp Ther 2003;307:395–401.
[160] Song X, Li G, Vaage J, Valen G. Effects of sex, gonadectomy, and oestrogen substitution on ischaemic preconditioning and ischaemia-reperfusion injury in mice. Acta Physiol Scand 2003;177:459–66.
[161] Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szelag A, Schulz R. Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium. J Pharmacol Toxicol Methods 2007;55:113–26.
[162] Bing RJ, Siegel A, Ungar I, Gilbert M. Metabolism of the human heart. II. Studies on fat, ketone and amino acid metabolism. Am J Med 1954;16:504–15.
[163] Bing RJ. Some aspects of biochemistry of myocardial infarction. Cell Mol Life Sci CMLS 2001;58:351–5.
[164] Sutherland FJ, Hearse DJ. The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. Pharmacol Res 2000;41:613–27.
[165] Wang Z, Yang Y, Xiang X, Zhu Y, Men J, He M. [Estimation of the normal range of blood glucose in rats]. Wei Sheng Yan Jiu 2010;39:133–7, 142.
[166] Salisbury PF, Cross CE, Katsuhara K, Rieben PA. Factors Which Initiate or Influence Edema in the Isolated Dog’s Heart. Circ Res 1961;9:601–6.
[167] Qiu Y, Hearse DJ. Comparison of ischemic vulnerability and responsiveness to

cardioplegic protection in crystalloid-perfused versus blood-perfused hearts. J Thorac Cardiovasc Surg 1992;103:960–8.
[168] Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. J Mol Cell Cardiol 2011;50:940–50.
[169] Liao R, Podesser BK, Lim CC. The continuing evolution of the Langendorff and ejecting murine heart: new advances in cardiac phenotyping. Am J Physiol - Heart Circ Physiol 2012;303:H156–67.
[170] Bailey LE, Ong SD. Krebs-Henseleit solution as a physiological buffer in perfused and superfused preparations. J Pharmacol Methods 1978;1:171–5.
[171] Kammermeier H, Rudroff W. Funktion und Energiestoffwechsel des isolierten Herzens bei Variation von pH, PCO2 und HCO3−. Pflüg Arch 1972;334:50–61.
[172] Ji F, Li Z, Nguyen H, Young N, Shi P, Fleming N, et al. Perioperative dexmedetomidine improves outcomes of cardiac surgery. Circulation 2013;127:1576–84.
[173] Peng K, Ji F, Liu H, Zhang J, Chen Q, Jiang Y. Effects of Perioperative Dexmedetomidine on Postoperative Mortality and Morbidity: A Systematic Review and Meta-analysis. Clin Ther 2019;41:138-154.e4.
[174] Shehabi Y, Serpa Neto A, Howe BD, Bellomo R, Arabi YM, Bailey M, et al. Early sedation with dexmedetomidine in ventilated critically ill patients and heterogeneity of treatment effect in the SPICE III randomised controlled trial. Intensive Care Med 2021;47:455–66.
[175] Gao S, Ma G, Zhou L, Guan S, Zhang J. Effects of Dexmedetomidine Pretreatment, Posttreatment, and Whole-Course Pumping on Myocardial Damage during Cardiac Valve Replacement. Int Heart J 2022;63:837–42.
[176] He L, Hao S, Wang Y, Yang W, Liu L, Chen H, et al. Dexmedetomidine preconditioning attenuates ischemia/reperfusion injury in isolated rat hearts with endothelial dysfunction. Biomed Pharmacother 2019;114:108837.
[177] Zhang J, Jiang H, Liu D-H, Wang G-N. Effects of dexmedetomidine on myocardial ischemia-reperfusion injury through PI3K-Akt-mTOR signaling pathway. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2019;23:6736–43.
[178] Behmenburg F, Pickert E, Mathes A, Heinen A, Hollmann MW, Huhn R, et al. The Cardioprotective Effect of Dexmedetomidine in Rats Is Dose-Dependent and Mediated by BKCa Channels. J Cardiovasc Pharmacol 2017;69:228–35.
[179] Raupach A, Karakurt E, Torregroza C, Bunte S, Feige K, Stroethoff M, et al. Dexmedetomidine Provides Cardioprotection During Early or Late Reperfusion Mediated by Different Mitochondrial K+-Channels. Anesth Analg 2021;132:253–60.
[180] Peng K, Chen W-R, Xia F, Liu H, Meng X-W, Zhang J, et al. Dexmedetomidine post-treatment attenuates cardiac ischaemia/reperfusion injury by inhibiting apoptosis through HIF-1α signalling. J Cell Mol Med 2020;24:850–61.
[181] Poullis M. Mannitol and Cardiac Surgery. Thorac Cardiovasc Surg 1999;47:58–62.
[182] O'Kane D, Baldwin GS, Bolton DM, Ischia JJ, Patel O. Preconditioning against renal ischaemia reperfusion injury: the failure to translate to the clinic. J Nephrol 2019;32:539–47.
[183] Falck G, Schjott J, Jynge P. Hyperosmotic pretreatment reduces infarct size in the rat heart. Physiol Res 1999;48:331–40.
[184] Feige K, Rubbert J, Raupach A, Stroethoff M, Heinen A, Hollmann MW, et al. Cardioprotective Properties of Mannitol—Involvement of Mitochondrial Potassium Channels. Int J Mol Sci 2021;22:2395.
[185] Ouriel K, Ginsburg ME, Patti CS, Pearce FJ, Hicks GL. Preservation of

myocardial function with mannitol reperfusate. Circulation 1985;72:II254-8.
[186] Pastukh V, Ricci C, Solodushko V, Mozaffari M, Schaffer SW. Contribution of the PI 3-kinase/Akt survival pathway toward osmotic preconditioning. Mol Cell Biochem 2005;269:59–67.