

Aus der Klinik für Anästhesiologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Benedikt Pannen

**Einfluss von Anästhetika auf die pharmakologische
Präkonditionierung mit Milrinon am isoliert-perfundierten
Rattenherz**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Tobias Lill

2026

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

gez.:

Dekan/in: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: PD Dr. rer. nat. Annika Raupach

Zweitgutacher: Prof. Dr. Dr. med. André Heinen

FÜR MEINE FAMILIE

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Bunte, S., Lill, T., Falk, M., Stroethoff, M., Raupach, A., Mathes, A., Heinen, A., Hollmann, M. W., & Huhn, R. 2019. Impact of Anesthetics on Cardioprotection Induced by Pharmacological Preconditioning. Journal of clinical medicine. 2019; 8(3): 396.

Raupach A, Reinle J, Stroethoff M, Mathes A, Heinen A, Hollmann MW, Huhn R, Bunte S. 2019. Milrinone-Induced Pharmacological Preconditioning in Cardioprotection: Hints for a Role of Mitochondrial Mechanisms. Journal of clinical medicine. 2019; 8(4): 507.

Zusammenfassung

Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems waren im Jahr 2024 in Deutschland die häufigste Todesursache. Aufgrund von Myokardinfarkten notwendige koronare Bypass-Operationen (CABG) haben bis heute eine hohe Mortalitätsrate. Eine vielversprechende Strategie zur Reduktion von Myokardschädigungen stellt die pharmakologische Präkonditionierung dar. Bislang konnte ein protektiver Effekt des Pharmakons Milrinon jedoch ausschließlich im Rahmen der pharmakologischen Postkonditionierung gezeigt werden. Es besteht zudem die Hypothese, dass Anästhetika – insbesondere Propofol, Dexmedetomidin oder Sevofluran – einen Einfluss auf die pharmakologische Präkonditionierung entfalten könnten. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war zu untersuchen, ob eine pharmakologische Präkonditionierung mittels Milrinon protektiv ist und, falls zutreffend, bei welcher minimalen Konzentration der maximale protektive Effekt erzielt werden kann. In einem zweiten Teil wurde der Einfluss der Anästhetika auf die Wirkung der Milrinon-Präkonditionierung untersucht. Die Experimente wurden unter Verwendung eines Langendorff-Modells an isoliert-perfundierten Herzen von männlichen Wistar-Ratten durchgeführt. Alle Herzen durchliefen eine 15- bis 20-minütige Eingewöhnungsphase (Baseline), gefolgt von einer 33-minütigen globalen Ischämie. Im Anschluss folgte eine 60-minütige Reperusionsphase. Am Ende der Versuche erfolgte die Bestimmung der Infarktgrößen mittels einer Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung sowie die Analyse von hämodynamischen Variablen. Die statistische Analyse erfolgte mittels einer ein- bzw. zweifaktoriellen Varianzanalyse und einem anschließenden Tukey-Post-hoc-Test. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung angegeben; das Signifikanzniveau betrug für alle Versuche kleiner 0,05 ($p < 0,05$). Im ersten Versuchsteil wurden die Tiere randomisiert in fünf Gruppen mit jeweils sieben bis neun Tieren eingeteilt. Die Präkonditionierung erfolgte zehn Minuten vor Beginn der Ischämie. Die Kontrollgruppe erhielt ausschließlich modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer (KHP). Die Interventionsgruppen wurden mit 0,3 μM , 1 μM , 3 μM oder 10 μM Milrinon behandelt. Die Infarktgröße der Kontrollgruppe lag bei $63 \% \pm 8 \%$. Eine Gabe von 1 μM Milrinon führte zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße auf $32 \% \pm 6 \%$ im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p < 0,05$ vs. Kontrolle). Da die Konzentration von 1 μM Milrinon die größte Infarktreduktion bewirkte, wurde diese Konzentration für den zweiten Versuchsteil verwendet. Die Randomisierung für den zweiten Versuchsteil erfolgte in acht Gruppen mit jeweils sieben bis acht Tieren. Fünfzehn Minuten vor Induktion der Ischämie erhielten alle Herzen eine Gabe von modifiziertem KHP, 11 μM Propofol, 1,5 nM Dexmedetomidin oder 2,5 Vol.-% Sevofluran. Zehn Minuten vor Beginn der Ischämie wurde eine pharmakologische Präkonditionierung entweder mit Milrinon (1 μM) oder KHP als Kontrolle durchgeführt. Untersucht wurden die folgenden Gruppen: KHP-KHP, Propofol-KHP, Dexmedetomidin-KHP, Sevofluran-KHP, KHP-Milrinon, Propofol-Milrinon, Dexmedetomidin-Milrinon, und Sevofluran-Milrinon. Die gemessenen Infarktgrößen lagen in den jeweiligen Gruppen bei: $53 \% \pm 9 \%$ (KHP-KHP), $56 \% \pm 9 \%$ (Propofol-KHP), $53 \% \pm 9 \%$ (Dexmedetomidin-KHP), $56 \% \pm 8 \%$ (Sevofluran-KHP), $35 \% \pm 5 \%$ (KHP-Milrinon), $52 \% \pm 5 \%$ (Propofol-Milrinon), $51 \pm 8 \%$ (Dexmedetomidin-Milrinon), und $31 \% \pm 9 \%$ (Sevofluran-Milrinon). Weder 11 μM Propofol noch 1,5 nM Dexmedetomidin, allein oder in Kombination mit 1 μM Milrinon, führten zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p > 0,05$ vs. Kontrolle). Auch der alleinige Einsatz von 11 μM Propofol, 1,5 nM Dexmedetomidin oder 2,5 Vol.-% Sevofluran zeigte keinen protektiven Effekt. Eine signifikante Verminderung der Infarktgröße konnte sowohl unter der Gabe von 1 μM Milrinon als auch in Kombination mit 2,5 Vol.-% Sevofluran gezeigt werden ($p < 0,05$ vs. Kontrolle). Zusammenfassend zeigte diese Arbeit, dass eine pharmakologische Präkonditionierung mit 1 μM Milrinon an isolierten männlichen Wistar-Rattenherzen einen kardioprotektiven Effekt in Form einer signifikanten Infarktgrößenreduktion im Vergleich zu einer Kontrollgruppe hatte. Unter 11 μM Propofol und 1,5 nM Dexmedetomidin blieb eine Reduktion der Infarktgröße aus, während unter 2,5 Vol.-% Sevofluran der kardioprotektive Effekt von 1 μM Milrinon erhalten blieb.

Abstract

Cardiovascular diseases were the leading cause of death in Germany in 2024. Coronary artery bypass graft surgery (CABG) required due to myocardial infarctions still has a high mortality rate. Pharmacological preconditioning represents a potential strategy to reduce myocardial injury. Previous studies on isolated rat hearts have demonstrated cardioprotective effects of milrinone only when administered after ischemic incidence—referred to as pharmacological postconditioning. It has been hypothesized that anesthetic agents such as propofol, dexmedetomidine, and sevoflurane may influence the efficacy of pharmacological preconditioning. The present study investigated (chapter one) whether pharmacological preconditioning with milrinone prior to ischemia is effective, and (chapter two) whether propofol, dexmedetomidine, or sevoflurane modulate this effect. For the Experiments were conducted using an *ex vivo* Langendorff heart perfusion system with male Wistar rats. Hearts were perfused retrogradely at a constant pressure of 80 mmHg using modified Krebs-Henseleit buffer (KHP). After a 15–20-minute stabilization period, all hearts were exposed to 33 minutes of global ischemia followed by 60 minutes of reperfusion. Infarct size was assessed by triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining and, hemodynamic variables were analyzed. Statistical analysis was performed using one- or two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test. All results are presented as mean $\pm$ standard deviation. Statistical significance was set at $p < 0.05$. In chapter one, animals were randomized into five groups ($n = 7-9$). Preconditioning was performed 10 minutes prior to ischemia via infusion pump (1 % of coronary flow). The control group received KHP, while intervention groups received milrinone at concentrations of 0.3 μM , 1 μM , 3 μM , or 10 μM . Infarct size was significantly reduced at 1 μM milrinone ($32 \% \pm 6 \%$) compared to control group ($63 \% \pm 8 \%$, $p < 0.05$), and the dose of 1 μM milrinone was used for chapter two. In chapter two, animals were randomized into eight groups ($n = 7-8$). 15 minutes before ischemia, an "anesthetic pre-treatment" was administered: KHP, 11 μM propofol, 1.5 nM dexmedetomidine, or 2.5 Vol.-% sevoflurane, milrinone (1 μM) or buffer was then administered 10 minutes prior to ischemia. The following combinations were analyzed: KHP-KHP, Propofol-KHP, Dexmedetomidine-KHP, Sevoflurane-KHP, KHP-Milrinone, Propofol-Milrinone, Dexmedetomidine-Milrinone, Sevoflurane-Milrinone. Infarct sizes were as follows: KHP-KHP: $53 \% \pm 9 \%$, Propofol-KHP: $56 \% \pm 9 \%$, Dexmedetomidine-KHP: $53 \% \pm 9 \%$, Sevoflurane-KHP: $56 \% \pm 8 \%$, KHP-Milrinone: $35 \% \pm 5 \%$, Propofol-Milrinone: $52 \% \pm 5 \%$, Dexmedetomidine-Milrinone: $51 \% \pm 8 \%$, Sevoflurane-Milrinone: $31 \% \pm 9 \%$. Neither 11 μM propofol nor 1.5 nM dexmedetomidine, alone or combined with 1 μM milrinone, significantly reduce infarct size ($p > 0.05$ vs. control). 2.5 vol.-% sevoflurane alone also failed to reduce infarct size; however, its combination with milrinone preserved a significant cardioprotective effect ($p < 0.05$ vs. control). Pharmacological preconditioning with 1 μM milrinone significantly reduced myocardial infarct size in isolated rat hearts. The combination of 1 μM milrinone and 2.5 vol.-% sevoflurane preserved this effect. 11 μM propofol and 1.5 nM dexmedetomidine attenuated the cardioprotective effect of 1 μM milrinone. These findings suggest that the choice of anesthetic can impact the outcome when pharmacological preconditioning strategies are used.

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
Abb.:	Abbildung
ACS	<i>Acute coronary syndrome</i>
Akt/PKB	Proteinkinase B
ALDH2	Aldehyddehydrogenase 2
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
AP	Angina Pectoris
ATP	Adenosintriphosphat
BH4	Tetrahydrobiopterin
bpm	<i>Beats per minute</i>
CABG	<i>Coronary artery bypass graft</i>
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CCS	<i>Chronic coronary syndrome</i>
CF	<i>Coronary Flow</i>
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
COX-2	Cyclooxygenase 2
Dex	Dexmedetomidin
DMSO	Dimethylsulfoxid
eNOS	<i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
ERK1/2	<i>Extracellular signal-regulated kinases 1/2</i>
g	Gramm
g/mol	Gramm pro Mol
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GSK-3β	Glykogensynthase-Kinase 3 Beta
h	Stunde
i.p.	intraperitoneal
IPC	<i>Ischemic preconditioning</i>
JAK	Januskinase
K ⁺	Kaliumion
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht

KHP	Krebs-Henseleit-Puffer
Kon	Kontrolle
l	Liter
LVDP	<i>Left ventricular developed pressure</i>
LVPmax	<i>Maximal left ventricular pressure</i>
LVPmin	<i>Minimal left ventricular pressure</i>
MAC	Minimale alveoläre Konzentration
MAD	Mittlerer arterieller Druck
MAPK	<i>Mitogen-activated protein</i>
mBK_Ca	Mitochondrialer Kaliumkanal, Calciumsensitiv
MCU	Mitochondrialer Calcium-Uniporter
MEK 1/2	<i>Mitogen-activated protein kinase kinase 1/2</i>
mg	Milligramm
Mil	Milrinon
min	Minute
miRNA	Mikro-RNA
mK_ATP	Mitochondrialer Kaliumkanal, ATP-abhängig
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mol	Stoffmenge
mPTP	Mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore
MW	Mittelwert
n	Anzahl
nM	Nanomolar
Na⁺	Natriumion
NADH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NCX	Na ⁺ /Ca ²⁺ -Austauscher
NETs	<i>Neutrophil extracellular traps</i>
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
OSCP	<i>Oligomycin-sensitivity-conferring Protein</i>
pCO₂	Kohlenstoffdioxid-Partialdruck
PDK1	3-Phosphoinositid-abhängige Proteinkinase 1

PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PKG	Proteinkinase G
pO₂	Sauerstoff-Partialdruck
Pro	Propofol
PTCA	Perkutane transluminale koronare Angioplastie
RET	<i>Reverse Electron Transport</i>
RIPC	<i>Remote ischaemic preconditioning</i>
RISK	<i>Reperfusion injury salvage kinase</i>
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	<i>Reactive oxygen species</i>
s	Sekunde
SAFE	<i>Survival activating factor enhancement</i>
SD	Standardabweichung
SERCA	Sarkoplasmatische Retikulum-Ca ²⁺ -ATPase
Sev	Sevofluran
STAT	<i>Signal transducers and activators of transcription</i>
STEMI	ST-segment elevation myocardial infarction
TNF-α	Tumornekrosefaktor alpha
TNFR-2	Tumornekrosefaktor-Rezeptor 2
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
Vol.-%	Volumenprozent
vs.	Versus
ZETT	Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben Universität Düsseldorf
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Überblick	1
1.2 Myokardiale Ischämie	2
1.2.1 Ischämischer Reperfusionsschaden	3
1.2.2 Präkonditionierung	10
1.3 Konditionierung mit Milrinon.....	14
1.4 Anästhetika	15
1.4.1 Propofol	15
1.4.2 Dexmedetomidin	16
1.4.3 Sevofluran	17
1.5 Ziele der Arbeit.....	18
2. Material und Methoden	20
2.1 Material	20
2.1.1 Materialien und Geräte.....	20
2.1.2 Software	21
2.1.3 Pharmaka	22
2.1.4 Gase.....	22
2.1.5 Chemikalien.....	23
2.1.6 Versuchstiere	24
2.1.7 Krebs-Henseleit-Puffer	24
2.2 Methoden	25
2.2.1 Präparation und Herzentnahme	25

2.2.2	Langendorff-Modell	26
2.2.3	Färbung der Herzen	28
2.2.4	Infarktgrößenbestimmung	30
2.2.5	Hämodynamische Variablen	31
2.2.6	Statistische Auswertung	31
2.3	Versuchsprotokolle	32
2.3.1	Vorversuch	32
2.3.2	Erster Teilversuch	33
2.3.3	Zweiter Teilversuch	35
3.	Ergebnisse	39
3.1	Vorversuch	39
3.2	Erster Teilversuch	40
3.2.1	Infarktgrößen	40
3.2.2	Tierdaten	41
3.2.3	Hämodynamische Variablen	42
3.2.3.1	Herzfrequenz.....	43
3.2.3.2	Entwickelter linksventrikulärer Druck	43
3.2.3.3	Koronarfluss	44
3.3	Zweiter Teilversuch	46
3.3.1	Infarktgrößen	46
3.3.2	Tierdaten	47
3.3.3	Hämodynamische Variablen	48
3.3.3.1	Herzfrequenz.....	49

3.3.3.2	Entwickelter linksventrikulärer Druck	49
3.3.3.3	Koronarfluss	50
4.	Diskussion	52
4.1	Milrinon-Präkonditionierung	53
4.1.1	Infarktgröße	53
4.1.2	Hämodynamische Variablen	55
4.2	Milrinon unter dem Einfluss von Propofol	57
4.3	Milrinon unter dem Einfluss von Dexmedetomidin	61
4.4	Milrinon unter dem Einfluss von Sevofluran	65
4.5	Limitationen	68
4.6	Schlussfolgerung und Ausblick	71
5.	Literatur- und Quellenverzeichnis	74

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Pathophysiologie während der Ischämiephase.....	7
Abb. 2: Pathophysiologie während der Reperfusionsphase.....	9
Abb. 3: Langendorff-Modell	26
Abb. 4: Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung	29
Abb. 5: Triphenyltetrazoliumchlorid gefärbte Herzscheiben	30
Abb. 6: Versuchsprotokoll Vorversuch	33
Abb. 7: Versuchsprotokoll erster Teilversuch	35
Abb. 8: Versuchsprotokoll zweiter Teilversuch.....	38
Abb. 9: Infarktgrößen Vorversuch Kontrolle vs. IPC.....	39
Abb. 10: Infarktgrößen erster Teilversuch	41
Abb. 11: Infarktgrößen zweiter Teilversuch	47

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: verwendete Materialien und Geräte für die Versuche	20
Tabelle 2: verwendete Software für die Versuche	21
Tabelle 3: verwendete Pharmaka für die Versuche.....	22
Tabelle 4: verwendete Gase für die Versuche	22
Tabelle 5: verwendete Chemikalien für die Versuche	23
Tabelle 6: Herstellung von Krebs-Henseleit-Puffer	24
Tabelle 7: Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung	29
Tabelle 8: Pipettierschema Milrinon	34
Tabelle 9: Pipettierschema Propofol.....	36
Tabelle 10: Pipettierschema Dexmedetomidin	37
Tabelle 11: Tierdaten erster Teilversuch	42
Tabelle 12: Hämodynamische Variablen erster Teilversuch	45
Tabelle 13: Tierdaten zweiter Teilversuch	48
Tabelle 14: Hämodynamische Variablen zweiter Teilversuch	51

1. Einleitung

1.1 Überblick

Herz-Kreislauf-Erkrankungen stellen in Deutschland weiterhin die häufigste Todesursache dar. Im Jahr 2024 führten Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems bei 339.212 Menschen zum Tod (1). Die klinische Relevanz von Herz-Kreislauf-Erkrankungen zeigt sich ebenfalls in der hohen Anzahl an durchgeführten koronaren Bypass-Operationen (*coronary artery bypass graft*, CABG) im Jahr 2024 von 36.968 (inklusive gleichzeitiger Herzklappen- und/oder Aneurysmaversorgung) (2). Die Mortalität der CABG-Operationen betrug im Jahr 2024 etwa 2,2 % (2). Eine internationale prospektive Kohortenstudie (ISOS) aus dem Jahr 2016 von Pearse *et al.* ermittelte eine weltweite perioperative Letalität von etwa 0,5 % nach elektiven Operationen. Die Studie zeigte zudem, dass ein perioperativer Myokardinfarkt bei ca. 0,3 % aller operativen Patienten auftrat (3). Vergleicht man die Mortalitätszahlen, lässt sich feststellen, dass die Mortalität einer CABG-Operation im Jahr 2024 etwa vier bis fünfmal höher lag. Die Ursachen dieser erhöhten Mortalität sind vielfältig. Ein relevanter Punkt stellt die myokardiale Schädigung durch Ischämie und Reperfusion dar. Koronare Bypass-Operationen wurden im Jahr 2024 zu über 70 % unter dem Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine durchgeführt (2). Dies bedeutet, dass verfahrensbedingt Phasen einer Ischämie, beispielsweise durch das Unterbrechen der Perfusion der Koronararterien, und Phasen einer kontrollierten Reperfusion erwartbar und planbar sind (4). Bislang existieren allerdings nur wenige operative, interventionelle oder pharmakologische Möglichkeiten, diese myokardialen Schäden zu verhindern oder zu verringern. Die Maßnahmen beschränken sich größtenteils auf eine sorgfältige präoperative Evaluation der Patienten und die Anwendung von verschiedenen Risiko-Scores zur Einschätzung des perioperativen Risikos (5). Solche Risiko Scores, wie der *Revised Cardiac Risk Index* (RCRI) oder der *Myocardial Infarction or Cardiac Arrest Score* (MICA) sind bislang jedoch nur für nicht-kardiochirurgische Eingriffe validiert worden oder schließen diese explizit aus (6,7). Angesichts der bisher begrenzten Möglichkeiten zur Senkung der perioperativen Mortalität sowohl bei kardiochirurgischen als auch bei nicht-kardiochirurgischen Eingriffen ist es

sowohl aus wissenschaftlicher als auch aus volkswirtschaftlicher Sicht von großer Bedeutung, weitere Präventionsstrategien zur Vermeidung myokardialer Schädigungen und damit letztendlich zur Senkung der Mortalität zu erforschen. Eine vielversprechende Option zur Reduktion von myokardialen Schäden im Rahmen einer Ischämie und anschließender Reperfusion stellt die pharmakologische Präkonditionierung dar, auf die in den folgenden Abschnitten dieser Arbeit näher eingegangen wird.

1.2 Myokardiale Ischämie

Bei der myokardialen Ischämie handelt es sich um ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf im Myokard. Die Unterversorgung mit Sauerstoff führt je nach Schweregrad und Dauer zu einer Schädigung von Kardiomyozyten (8). Bis zum Jahr 2018 wurde die myokardiale Ischämie durch eine verminderte Durchblutung oder den vollständigen Verschluss eines oder mehrerer Herzkranzgefäße infolge atherosklerotischer Veränderungen definiert (9). Aktuell werden zusätzlich zu der bisherigen Erklärung strukturelle und funktionelle Störungen sowohl auf Mikro- als auch auf Makroebene in die pathophysiologischen Mechanismen einbezogen. Auf Makroebene kann eine Myokardischämie beispielsweise durch diffuse atherosklerotische Veränderungen ohne Lumenstenose, Koronaranomalien oder einen epikardialen Vasospasmus ausgelöst werden (10). Auf Mikroebene ist die koronare mikrovaskuläre Dysfunktion als Ursache einer Ischämie zu nennen (11). Des Weiteren werden extrakoronare Ursachen, die das Sauerstoffangebotsverhältnis im Myokard negativ beeinflussen, wie beispielsweise Anämie, Tachykardie, Blutdruckschwankungen oder Myokardhypertrophie, berücksichtigt (12,13). Alle Formen der myokardialen Ischämie haben gemeinsame, mehr oder weniger stark ausgeprägte Symptome, wie Angina Pectoris (AP, Brustenge), Dyspnoe (Atemnot), Angstzustände, Übelkeit oder Kaltschweißigkeit (14). Zu den Risikofaktoren für die Entstehung von Atherosklerose zählen unter anderem arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Adipositas und Nikotinkonsum (15). Die aktuelle europäische Nomenklatur unterscheidet sowohl eine chronische Form: das chronische Koronarsyndrom (*chronic coronary syndrome*, CSS) und eine akute Form: das akute Koronarsyndrom (*acute coronary syndrome*, ACS) (8,16–

18). In den aktuellen Leitlinien zur Behandlung des akuten ST-Hebungsinfarktes (ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI) im Rahmen des ACS wird eine möglichst kurze Zeit (< 90 Minuten) bis zum Beginn einer Therapie empfohlen, um die Mortalität zu senken (8,19). Therapie der Wahl ist die schnellstmögliche Wiederherstellung der Myokardperfusion (Reperfusion), zum Beispiel mittels einer perkutanen transluminalen koronaren Angioplastie (PTCA) oder, bei nicht rechtzeitiger Erreichbarkeit der PTCA, mit einer medikamentösen Fibrinolyse (20). Die CABG-Operation stellt nach entsprechender Indikationsstellung bei hämodynamisch relevanten Verschlüssen der Koronararterien die Therapie der ersten Wahl dar. Während und nach einer CABG-Operation kann es durch verschiedene, teils auch geplante Maßnahmen zu einer zusätzlichen myokardialen Ischämie, beziehungsweise einem Myokardinfarkt kommen. Für die Schwere der Ischämie und damit auch das Behandlungsergebnis nach einer CABG-Operation ist unter anderem die Klemmzeit der Aorta während der Operation entscheidend (21,22). Ein besonderes Augenmerk liegt auf der Reperfusionsphase, in der eine weitere Zunahme des myokardialen Schadens möglich ist (23). Die Phasen von Ischämie und Reperfusion treten bei einer CABG-Operation, anders als bei einem akuten Myokardinfarkt, planbar auf und eröffnen daher Möglichkeiten für eine kardioprotektive Therapie.

1.2.1 Ischämischer Reperfusionsschaden

Wie im vorherigen Kapitel beschrieben, führt eine myokardiale Ischämie, auch bei einer CABG-Operation, zu einer Schädigung von Kardiomyozyten. Bereits 1983 konnte von DeBoer *et al.* an einem Hundeherzmodell gezeigt werden, dass Ausmaß und Schwere des myokardialen Schadens maßgeblich von der Dauer und Intensität der Ischämie abhängig sind (24). Eine schnelle Wiederherstellung der Koronarperfusion scheint essenziell, um den Zellschaden an den Kardiomyozyten so gering wie möglich zu halten. Die an eine Ischämie anschließende Reperfusionsphase selbst hat allerdings auch einen schädigenden Einfluss auf die Kardiomyozyten und wird als Myokard-Ischämie-Reperfusions-Schaden (MIRI) oder Ischämie-Reperfusions-Schaden (I/R-Schaden) bezeichnet (25,26). Dieser I/R-Schaden trägt entscheidend zur

Infarktgröße bei und ist beispielsweise auch im Rahmen einer CABG-Operation nicht auszuschließen (27). In der Vergangenheit wurden bereits einige pathophysiologische Mechanismen, die im Rahmen der Ischämie-Reperfusionsphase eine Rolle spielen, aufgeklärt, der vollständige Mechanismus ist allerdings bis heute nicht bekannt. Während der Reperfusionsphase nehmen die Mitochondrien eine zentrale Rolle ein. Einige der bisher entdeckten Mechanismen, die zu einem Reperfusionsschaden führen können, sind unter anderem: ein intrazellulärer Calciumionenüberschuss, oxidativer Stress, Veränderungen des pH-Wertes und das Öffnen der sogenannten mitochondrialen Permeabilitäts-Transitions-Pore (mPTP).

Im Detail führen folgende Prozesse zu einem I/R-Schaden: Durch die ischämiebedingte Abwesenheit von Sauerstoff kommt es zu einer anaeroben Energiegewinnung, da die Mitochondrien für die oxidative Phosphorylierung Sauerstoff benötigen (28). Hierdurch kommt es zu einem Laktatanstieg und einem Konzentrationsanstieg von Wasserstoff-Ionen (H^+ , Protonen), wodurch der pH-Wert abfällt (28,29) (Abbildung 1). Der Anstieg der Protonen führt zur Aktivierung des Na^+/H^+ -Austauschers, der Protonen aus der Zelle und im Gegenzug Natriumionen (Na^+) nach intrazellulär transportiert. Hierunter kommt es zu einem Anstieg von intrazellulärem Natrium (30). Dieser Natriumionenüberschuss führt zu einer Aktivierung des 3- Na^+ /Calcium (Ca^{2+})-Austauschers (NCX). Um das Gleichgewicht der Natriumionen wiederherzustellen, werden 3 Natriumionen im Austausch mit Calciumionen transportiert, was einen Anstieg von intrazellulären Calciumionen bedingt (31). Die Natrium-Kalium-ATPase transportiert unter normalen Stoffwechselbedingungen unter Abhängigkeit von Adenosintriphosphat (ATP) 3 Natriumionen nach extrazellulär und 2 Kaliumionen nach intrazellulär (32). Unter ischämischen Bedingungen kann nicht genug ATP bereitgestellt werden, sodass die Funktion der Natrium-Kalium-ATPase eingeschränkt wird und es zu einem weiteren intrazellulären Anstieg von Natriumionen kommt. Über die vorher benannten Mechanismen kommt es durch die eingeschränkte Funktion zu einem weiteren Anstieg der intrazellulären Calciumionen (33). Die ATP-abhängige sarkoplasmatische Ca^{2+} -ATPase (SERCA) ist essenziell für das intrazelluläre Calciumionengleichgewicht und die Myokardkontraktilität (34). Unter

physiologischen Stoffwechselbedingungen transportiert die ATPase Calciumionen aus dem Intrazellulärraum in das sarkoplasmatische Retikulum, welches als Calciumspeicher für die nächste Muskelkontraktion dient (35). Während der Ischämie führt der bestehende ATP-Mangel zu einer verminderten Aktivität der SERCA (36), wodurch es zu einer weiteren intrazellulären Calciumionenakkumulation kommt. Zusätzlich hemmt die ischämiebedingte Azidose die SERCA (37) und den Ryanodinrezeptor 2, welcher Calciumionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum freisetzt (38). Mit zunehmender Ischämie kommt es durch oxidativen Stress und posttranslationale Veränderungen der SERCA zu einer weiteren intrazellulären Calciumionenüberladung (39).

Obwohl während der Ischämie ein Sauerstoffmangel besteht, werden während der Ischämiephase reaktive Sauerstoffspezies (ROS) gebildet. Die ROS-Bildung liegt vor allem an der Funktionseinschränkung der Atmungskette im Mitochondrium insbesondere an Komplex I und III, in denen ein Hypoxie bedingter Elektronenverlust zu einer Bildung von Superoxid (O_2^-) führt (40). Durch ATP-Abbau entsteht Hypoxanthin, das trotz geringer Verfügbarkeit von Sauerstoff, über die Xanthinoxidase zu Harnsäure umgewandelt wird. Bei diesem Prozess entsteht O_2^- und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) (41). Zusätzlich produziert die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (*endothelial nitric oxide synthase*, eNOS) aufgrund eines Mangels an Tetrahydrobioptin (BH4) Superoxid anstatt Stickstoffmonoxid (NO) (42,43). Aufgrund der Ischämie akkumuliert im Mitochondrium Succinat, das in der Reperfusionsphase eine weitere entscheidende Rolle spielt, auf die in den nachfolgenden Abschnitten näher eingegangen wird (42).

In der Mitochondrienmembran existiert ein unspezifischer Kanal, der für Moleküle, die kleiner als 1,5 kDa groß sind, durchlässig ist (44). Dieser Kanal wird als mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore (mPTP) bezeichnet. Zum aktuellen Zeitpunkt ist der genaue Aufbau dieses Kanals unklar. Es wird vermutet, dass der Kanal durch Untereinheiten der ATP-Synthetase und der Adeninnukleotid-Translokase (ANT) gebildet wird (45). Eine dauerhafte Öffnung der mPTP führt zu einer osmotischen Schwellung mit Ruptur der inneren Mitochondrienmembran und durch Freisetzung von Cytochrom C zu einer

Apoptose (46). Die Öffnung der mPTP führt zudem zu einer Umstellung im ATP-Stoffwechsel, es findet eine ATP-Hydrolysisierung anstelle einer ATP-Synthetisierung statt (47), der hierdurch entstehende Mangel an ATP führt wiederum zu einer, durch Energiemangel bedingten, nekrotischen Zellschädigung (48). Die Azidose während der Ischämie senkt die Wahrscheinlichkeit einer Öffnung der mPTP und verhindert damit, dass proapoptotische Faktoren freigesetzt werden. Dies wird dem Histidinrest HIS112 der Oligomycin-sensitivitätsvermittelndem Protein (OSCP)-Untereinheit der mitochondrialen ATP-Synthase auf der mPTP zugeschrieben. Unter einer Azidose bleiben die Histidinreste protoniert und die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP sinkt hierdurch (49,50). ROS sind ein Öffnungstrigger der mPTP (51). Moderate Spiegel von ROS kommen jedoch physiologisch vor und scheinen kurze und unschädliche Offenheitsphasen der mPTP zu beeinflussen, um überschüssiges Ca^{2+} und ROS als eine Art „Überdruckventil“ aus den Mitochondrien freizusetzen (52). ATP- und calciumsensitive mitochondriale Kaliumkanäle (mK_ATP und mBK_Ca) können über einen Kaliumeinstrom durch Veränderung des Membranpotentials einen ROS und Calciumionen-Einstrom vermindern und sind somit in der Lage die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP zu verringern (53–56).

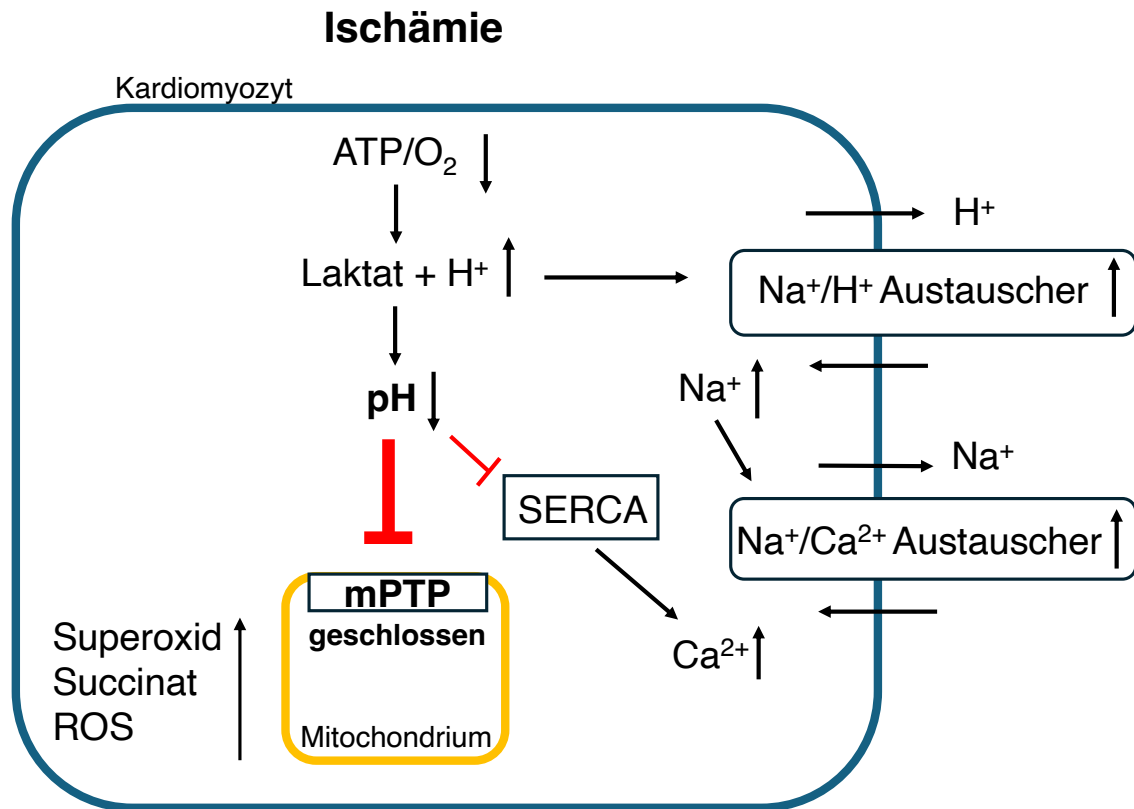


Abb. 1: Pathophysiologie während der Ischämiephase

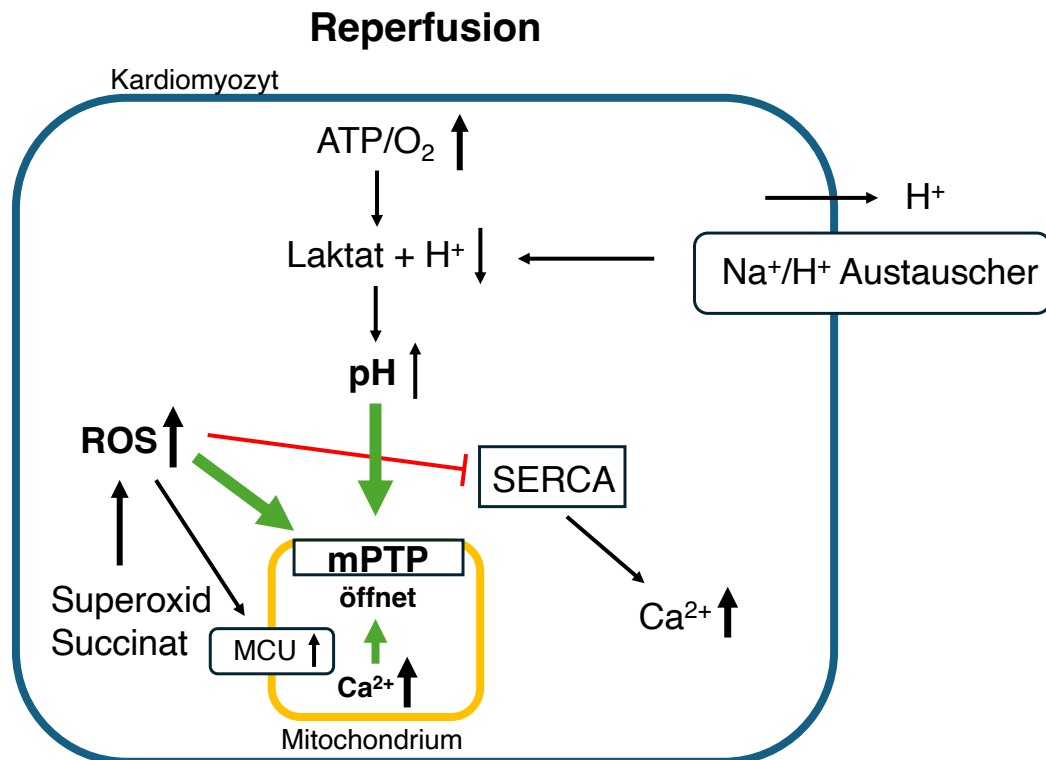
In der Abbildung sind einige Pathomechanismen während der Ischämiephase in einem Kardiomyozyt dargestellt. Im Rahmen der Ischämie resultieren ein Mangel an ATP und Sauerstoff (O_2) in der Bildung von Laktat sowie Protonen (H^+), was zu einem Abfall des pH-Wertes führt. Die Azidose senkt die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP. Darüber hinaus führt der Na⁺/H⁺-Austauscher zu einem Natriumionenüberschuss, welcher durch den (3-)Na⁺/Ca²⁺-Austauscher zu einer Calciumionenüberladung führt. Eine Blockade der SERCA wird durch die bestehende Azidose verstärkt, und die intrazelluläre Calciumionenkonzentration nimmt weiter zu. Während der Ischämie fallen darüber hinaus Succinat, Superoxid und reaktive Sauerstoffspezies (ROS) an.

ATP = Adenosintriphosphat, Ca^{2+} = Calciumion, H^+ = Proton, mPTP = mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore, Na^+ = Natriumion, O_2 = Sauerstoff, pH = pH-Wert, ROS = reaktive Sauerstoffspezies, SERCA = sarkoplasmatische Retikulum-Ca²⁺-ATPase.

Mit Einsetzen der Reperfusionsphase normalisiert sich der pH-Wert zunehmend. Dadurch entfallen die durch die Azidose beschriebenen schützenden Faktoren auf die mPTP, sodass die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP zunimmt (57). Durch die einsetzende Sauerstoffzufuhr setzt die oxidative Phosphorylierung ein und ATP wird wieder regeneriert. Durch diesen Mechanismus wäre es theoretisch möglich, den während der Ischämie entstandenen intrazellulären Calciumionenüberschuss über die Na⁺/K⁺-ATPase oder die SERCA wieder zu normalisieren. Allerdings dient unter anderem das während der Ischämiephase akkumulierte Succinat als stark reduzierendes Substrat in der Atmungskette (58).

Succinat wird über Komplex II der Atmungskette oxidiert, dient als Elektronendonator und führt unter anderem über einen „*Reverse Electron Transport*“ (RET) an Komplex I der Atmungskette zu einer ausgeprägten Bildung von ROS (42,59). Auch die eNOS und die Xanthinoxidase fördern die Bildung von ROS (60,61). Dieser massive Anstieg von ROS (*ROS-Burst*) innerhalb der ersten Minuten der Reperfusionsphase führt zu Lipid- und Proteinschädigungen durch Oxidation, zu Schädigungen der Calciumtransporter und zu einer Hemmung der SERCA (62). Hierdurch entsteht intrazellulär eine weitere Calciumionenakkumulation und über den mitochondrialen Ca^{2+} -Uniporter (MCU) werden Calciumionen in die Matrix der Mitochondrien transportiert (63). Durch den Calciumionenüberschuss wird die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP erhöht und es kommt bei einer Öffnung der mPTP zu einem mitochondrialen Membranpotentialkollaps und zu einem ATP-Mangel, der letztlich zu einem Zelluntergang führt (64,65). Der I/R-Schaden wird durch weitere Mechanismen, wie zum Beispiel entzündliche Mediatoren beeinflusst (66). *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs), Komplementaktivierung oder das *NOD-like receptor family pyrin domain containing 3* (NLRP3)-Inflammasom können den Reperfusionsschaden unter anderem über Endothelschäden, ROS-Bildung und Mikrothrombenbildung verstärken (67). Neuere experimentelle Daten an Mausherzen weisen darauf hin, dass die Ferroptose, ein eisenabhängiger Zelltod, unter anderem über eine Peroxidation von Phospholipiden an einem I/R-Schaden beteiligt sein könnte (68).

Zusammenfassend führt der myokardiale I/R-Schaden durch eine Calciumionenüberladung und einen ROS-Burst in der frühen Reperfusionsphase zu einer erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP und einem nachfolgenden Zelluntergang. Entzündungsprozesse und Ferroptose können myokardialen I/R-Schaden verstärken. Die nachfolgende Abbildung 2 zeigt die wichtigsten Mechanismen während der Reperfusionsphase.



Membranpotentialkollaps → ATP-Mangel → Zelluntergang (Nekrose/Apoptose)

Abb. 2: Pathophysiologie während der Reperfusionsphase

In der Abbildung sind einige Pathomechanismen in einem Kardiomyozyt während der Reperfusionsphase dargestellt. Durch die erneute Verfügbarkeit von Sauerstoff (O₂) findet eine Regenerierung von ATP statt. Über den Na⁺/H⁺-Austauscher werden Protonen (H⁺) aus der Zelle transportiert, wodurch der pH-Wert normalisiert wird. Unter anderem durch einen *Reverse Electron Transport* (RET) entstehen infolge der Akkumulation von Succinat hohe Mengen an reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), welche zu einer Inaktivierung der sarkoplasmatischen Retikulum-Ca²⁺-ATPase (SERCA) und einer Steigerung der Aktivität des mitochondrialen Calcium-Uniporters (MCU) führen. Dies resultiert in einer weiteren Überladung mit Calcium. Die erhöhte Menge an ROS, Calciumionen sowie eine Normalisierung des pH-Wertes erhöhen die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP. Wenn es zu einer längeren Öffnung der mPTP kommt, sind ein Membranpotentialkollaps mit Membranruptur des Mitochondriums, ATP-Mangel und ein Zelluntergang die Folge.

ATP = Adenosintriphosphat, Ca²⁺ = Calciumion, H⁺ = Proton, MCU = mitochondrialer Calcium-Uniporter, mPTP = mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore, Na⁺ = Natriumion, O₂ = Sauerstoff, pH = pH-Wert, ROS = reaktive Sauerstoffspezies, SERCA = sarkoplasmatische Retikulum-Ca²⁺-ATPase.

Zur Reduktion des I/R-Schadens wurden verschiedene protektive Konditionierungsstrategien entwickelt, die im nachfolgenden Kapitel ausführlich erläutert werden.

1.2.2 Präkonditionierung

Um den I/R-Schaden zu verringern, hat sich über Jahre das Konzept der Präkonditionierung entwickelt. Es existieren verschiedene Formen der Präkonditionierung, wie zum Beispiel die ischämische oder die pharmakologische Präkonditionierung, auf die im folgenden Abschnitt weiter eingegangen wird.

Die ischämische Präkonditionierung (*ischemic preconditioning* (IPC)) beschreibt einen effektiven endogenen Schutzmechanismus vor Ischämie bedingten Gewebeschäden, der erstmals 1986 durch Charles Murry beschrieben wurde (69). In einem Hundemodell konnten Murry *et al.* durch vier je fünf Minuten lange Ischämie-Reperfusions-Episoden an einer Koronararterie, vor einer 40-minütigen Okklusion der Koronararterie, die Größe des myokardialen Infarktareals um bis zu 75 % im Vergleich zu nicht-präkonditionierten Hundeherzen reduzieren (69). Dieser protektive Effekt konnte anschließend bei weiteren Tierarten, wie beispielsweise Ratten (70), Kaninchen (71) oder auch in unterschiedlichen Organsystemen, wie Niere (72) und Gehirn (73) beobachtet werden. An menschlichen Herzen ist der direkte Nachweis einer reduzierten Infarktgröße aus ethischen Gründen nicht möglich, jedoch führte das Konzept der ischämischen Präkonditionierung bei CABG-Operationen postoperativ zu signifikant höheren ATP-Spiegeln und signifikant niedrigen Troponin-T-Spiegeln im Vergleich zu nicht-präkonditionierten Patienten (74,75). Diese Beobachtungen können zumindest als Indikator für eine erfolgreiche Kardioprotektion betrachtet werden. Die IPC konnte sich in der Klinik jedoch aufgrund ihrer hohen Invasivität und dem hohen Risiko von thromboembolischer Komplikationen bei mehrfachen Ischämie-Reperfusionszyklen durch eine mechanische Koronarokklusion nicht durchsetzen (76). Als weniger invasive Variante wurde die *remote ischemic preconditioning* (RIPC) erforscht (79), bei der kurze Ischämie- und Reperfusionszyklen in der Peripherie (beispielsweise mittels einer Blutdruckmanschette am Oberarm) erzeugt werden. Die so ausgelöste myokardiale Kardioprotektion kann humoral oder neuronal (77) übertragen (78) werden und wurde in einigen tierexperimentellen Studien bestätigt (79). Große Studien an Menschen, wie beispielsweise die RIPHeart- (80) oder die ERICCA-

(81) Studie konnten jedoch keinen Outcome-Vorteil bei CABG-Operationen mit einer Herz-Lungen-Maschine feststellen, wenn eine RIPC angewandt wurde. Diese Diskrepanz lenkt den Fokus auf die pharmakologische Präkonditionierung, die die zellulären Signalwege der ischämischen Präkonditionierung aktiviert, ohne eine mechanische Ischämie auslösen zu müssen und so das Myokard vor I/R-Schäden schützen kann (82). Vorteile der pharmakologischen Präkonditionierung sind: die Möglichkeit der mehrfachen Verabreichung, eine kontrollierte, standardisierbare Applikation und die Anwendbarkeit bei Patienten, bei denen eine ischämische Präkonditionierung problematisch einzusetzen wäre (beispielsweise bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit) (83). Hinzu kommt, dass die meisten der für die pharmakologische Präkonditionierung in Frage kommenden Medikamente, wie etwa volatile Anästhetika, Phosphodiesterase III-Hemmer (PDE-III-Hemmer) oder Opioide bereits im klinischen Alltag etabliert und am Menschen erprobt sind. Ziel aller Konditionierungsstrategien ist es, während der Reperfusionphase den pH-Wert zu stabilisieren, einen Calciumionenüberschuss zu vermeiden, schädliche ROS-Freisetzung zu begrenzen und letztlich die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP zu senken (27). In diesem Zusammenhang wurden mehrere Signalwege, die eine Kardioprotektion vermitteln können, entdeckt, darunter der *Reperfusion Injury Salvage Kinase* (RISK)-Signalweg (84), der *Survivor Activating Factor Enhancement* (SAFE)-Signalweg (85), der endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase/Stickstoffmonoxid/zyklisches Guanosinmonophosphat-Proteinkinase G (eNOS/NO/cGMP-PKG)-Signalweg (86), sowie schützende Einflüsse durch die Proteinkinasen A und C (PKA und PKC) oder MikroRNAs.

Der RISK-Signalweg wird durch endogene Mediatoren an G-Protein-gekoppelten-Rezeptoren (Opioide (87), Adenosin (88), Bradykinin (89)) durch Wachstumsfaktoren (Insulin (90) oder *Insulin-like growth Faktor 1* (IGF-1) (91)) sowie durch ischämische Präkonditionierung (92) oder Anästhetika (93) aktiviert und führt über die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) sowie 3-Phosphoinositid-abhängiger Proteinkinase 1 (PDK1) zu einer Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) (84). Zusätzlich kommt es zu einer Aktivierung der Ras-Raf-Mitogen-aktivierte Proteinkinase-Kinase zur Mitogen-aktivierter Proteinkinase-Kinase 1/2 (*mitogen-activated protein kinase kinase 1/2* (MEK1/2)) und extrazellulär

signalregulierte Kinase-1/2 (*extracellular signal-regulated kinases 1/2* (ERK1/2)) (94). Die aktivierte Proteinkinase B phosphoryliert die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS), wodurch eine erhöhte Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) resultiert (95) und über eine Stimulation der löslichen Guanylatzyklase wird die Menge an zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) erhöht und die Proteinkinase G (PKG) aktiviert (96). Diese Mechanismen bewirken eine Öffnung von ATP- und calciumsensitiven mitochondrialen Kaliumkanälen (mK_ATP und mBK_Ca), was zu einer Stabilisierung des Membranpotentials der inneren Mitochondrienmembran und zu einer verminderten Calciumionenaufnahme in die Matrix der Mitochondrien führt (97,98). Darüber hinaus werden *RET* getriggerte ROS-Spitzen an Komplex I der Atmungskette gedämpft (99). Zudem inaktiviert der RISK-Signalpfad die Glykogensynthase-Kinase 3-Beta (GSK-3 β), was ebenfalls zu einer Verringerung der Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP führt (100). Antiapoptotische Effekte über den *apoptosis regulator B-cell lymphoma 2* (*Bcl-2*) wirken zusätzlich protektiv (101).

Der SAFE-Signalweg wird über niedrige Tumornekrosefaktor-alpha-Spiegel (TNF- α) an den Kardiomyozyten über Tumornekrosefaktor-Rezeptoren-2 aktiviert (102–104) und führt über Januskinasen (JAK) zur Phosphorylierung an Tyrosinresten von *Signal Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT3) (105). STAT3 erhöht die Expression anti-apoptotischer Proteine (zum Beispiel *Bcl-2*) (105), bewirkt eine Hochregulation der mitochondrialen Superoxid Dismutase als antioxidativen Schutzmechanismus (106), wirkt an der inneren Mitochondrienmembran über eine Reduktion von ROS, stabilisiert das Membranpotential (107) und erhöht die Calciumtoleranz der Mitochondrien. Die durch STAT3 aktivierten Mechanismen führen zu einer verminderten Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP (108).

Beide Signalwege, RISK und SAFE, führen über eine Vernetzung der Signalwege durch eine Calciummodulation und ROS-Verminderung in den Mitochondrien zu einer verminderten Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP (85). Ein *Cross-Talk* zwischen beiden Signalwegen wird vermutet, experimentell

konnte an Mäusen gezeigt werden, dass beide Signalwege voneinander abhängig scheinen (109,110).

Der eNOS/NO/cGMP-PKG-Signalweg wird durch den RISK-Signalweg aktiviert, kann aber auch unabhängig durch Adenosin, Bradykinin oder erhöhte Scherkräfte aktiviert werden (111–113). Analog dem RISK-Signalweg wird der kardioprotektive Effekt über freigesetztes NO mit einer Aktivierung der PKG und einer Öffnung von mK_ATP-Kanälen vermittelt (114,115).

Auch die Proteinkinasen A und C (PKA und PKC) tragen zur Kardioprotektion bei. Die PKC liegt in mehreren Unterformen vor (116), besonders die PKCepsilon transloziert zur Zellmembran (zum Beispiel nach Adenosin-Stimulus) (117), kann mK_ATP-Kanäle öffnen, erzeugt moderate signalisierende Mengen an ROS, aktiviert die Aldehyddehydrogenase 2 (ALDH2) (118) und senkt so die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP (119). Die PKA kann mBK_Ca-Kanäle öffnen (120), senkt das mitochondriale Membranpotential, dämpft RET-abhängige ROS-Spitzen und begrenzt den Ca^{2+} -Einstrom (121), wodurch ebenfalls die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP sinkt (122). Zusätzlich verbessert die PKA über eine Phospholamban-Phosphorylierung die Funktion der SERCA in der Reperfusionsphase (123).

MikroRNAs (miRNA) können die schützenden Signalwege am Herzen unterstützen (124,125). MiRNA-144 beispielsweise aktiviert Akt/ERK und inaktiviert GSK-3 β (126), die miRNA-21 hemmt *Phosphatase and Tensin Homolog* (PTEN) und führt zu einer Unterstützung der Akt- und NO-abhängigen kardioprotektiven Signalwege (127,128).

Pharmakologisch lassen sich die kardioprotektiven Signalwege und deren Endstrecken gezielt aktivieren. Das atriale natriuretische Peptid (ANP) kann Teile des RISK-Signalfades aktivieren und im Ratten- und Kaninchenmodell kardioprotektiv wirken (129,130). Cyclosporin A konnte zumindest in tierexperimentellen Studien die Öffnung der mPTP modulieren (131). Auch volatile Anästhetika (Sevofluran, Isofluran, Desfluran) aktivieren RISK/SAFE/eNOS und wirken auf mitochondriale Kaliumkanäle und die mPTP (132,133). Opiode wirken unter anderem über eine Aktivierung der PKA (122)

oder Hemmung der GSK-3 β (134) kardioprotektiv. Phosphodiesterase (PDE-III)-Hemmer wie beispielsweise Milrinon, die die Endstrecke des RISK-Signalwegs über die PKA aktivieren und so kardioprotektiv wirken, kommen ebenfalls für eine pharmakologische Präkonditionierung in Frage (135). Auf der anderen Seite können Anästhetika, wie beispielsweise Propofol, schützende Signalwege abschwächen und zu einem Ausbleiben von erfolgreichen Konditionierungsstrategien beitragen (136).

Der Transfer von der präklinischen in die klinische Phase der pharmakologischen Präkonditionierung ist bislang nicht zufriedenstellend gelungen. Gerade bei CABG-Operationen sind Ischämie- und Reperfusionsphase planbar und daher prädestiniert für die pharmakologische Präkonditionierung. Gleichzeitig ist unklar, ob und wie verwendete Anästhetika einen Einfluss auf die pharmakologische Präkonditionierung haben. Hier setzt die vorliegende Arbeit an, indem zum einen eine pharmakologische Präkonditionierung mit dem PDE-III-Hemmer Milrinon untersucht und zum anderen überprüft wird, ob die Wahl des Anästhetikums einen Einfluss auf die pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon hat.

1.3 Konditionierung mit Milrinon

Bei Milrinon handelt es sich um einen Phosphodiesterase-III-Hemmer (PDE-III-Hemmer), welcher bei Kindern und Erwachsenen zur kurzzeitigen Behandlung einer schweren Herzinsuffizienz eingesetzt wird, falls die üblichen Behandlungsmethoden (Diuretika, Digitalis, Vasodilatoren) ausgeschöpft sind (137). Über eine PDE-III-Hemmung wird der Abbau von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) in Herz- und Gefäßmuskelzellen gehemmt, wodurch es zu einer Konzentrationssteigerung von cAMP kommt (138). Durch den erhöhten cAMP-Spiegel werden in der Herzmuskelzelle über eine Aktivierung der PKA vermehrt Calciumionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum ausgeschüttet, wodurch es zu einer gesteigerten Kontraktilität (Inotropie), Relaxation (Lusitropie) und einer erhöhten Erregungsbildung (Chronotropie) am Herzen kommt (135). Gleichzeitig bewirkt Milrinon in den Gefäßmuskelzellen durch die erhöhte cAMP-Konzentration eine Hemmung der Myosin-Leichtketten-Kinase, was zu einer Vasodilatation der peripheren und

pulmonalen Gefäße führt und damit zu einer Steigerung des Herzzeitvolumens mit minimaler Erhöhung der Herzfrequenz (139). Unter anderem über diese Wirkungen erscheint Milrinon für die pharmakologische Präkonditionierung besonders geeignet zu sein. Weiterhin wurde Milrinon für diese Arbeit ausgewählt, da bereits 2001 von Sanada *et al.* an Hundeherzen ein kardioprotektiver Effekt für PDE-III-Hemmer über eine PKA- und Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK-)-Aktivierung gezeigt werden konnte (135). Auch Behmenburg *et al.* zeigten 2018 an männlichen Wistar-Ratten im Langendorff-Modell, dass Milrinon eine kardioprotektive Wirkung im Rahmen einer pharmakologischen Postkonditionierung, also im Anschluss an eine Ischämie, hatte (140). Zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Arbeit war jedoch noch nicht untersucht, ob Milrinon im Rahmen der pharmakologischen Präkonditionierung an isolierten Rattenherzen einen konzentrationsabhängigen kardioprotektiven Effekt besitzt und ob dieser kardioprotektive Effekt durch die Kombination mit Anästhetika beeinflusst werden kann.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass Milrinon über eine Aktivierung von PKA und MAPK-abhängigen Signalwegen mit dem RISK-Signalweg interagiert und somit potenziell kardioprotektive Eigenschaften aufweist. Die Rolle dieser kardioprotektiven Eigenschaften für die pharmakologische Präkonditionierung bedarf weiterer Untersuchungen.

1.4 Anästhetika

1.4.1 Propofol

Propofol (2,6-Diisopropylphenol) wurde bereits in den 1970er Jahren unter dem Namen ICI 35 868 erstmals in Studien verwendet (141). Heutzutage ist Propofol ein häufig verwendetes Narkotikum, welches in unterschiedlichen Einsatzbereichen zur Anwendung kommt (142). Je nach Dosierung kann es entweder zur Sedierung, Narkoseeinleitung oder für eine total-intravenöse Anästhesie in Kombination mit einem Opioid verwendet werden. Es wurde 2011 in die Liste der unentbehrlichen Medikamente der WHO aufgenommen (143). Die Wirkmechanismen von Propofol sind bis heute nicht vollständig verstanden. Jedoch sind einige zentrale Wirkweisen bereits beschrieben: Über eine

agonistische, ligandengesteuerte Bindung an Gamma-Aminobuttersäure-A (GABA)-Rezeptoren kommt es zu einer Öffnung von Chloridkanälen an der Postsynapse. Die Öffnung der Kanäle führt zu einem Chloridionen-Einstrom mit nachgeschalteter Hyperpolarisation der postsynaptischen Membran (144). Hierdurch wird das Auslösen eines Aktionspotentials erschwert und es kommt zu einer Hemmung der Nervenzelle bzw. Reizweiterleitung (145). Studien am Mausmodell von Munoz *et al.* im Jahr 2021 konnten außerdem eine Wirkung von Propofol auf ausgewählte Glycin-Rezeptoren, die ebenfalls über einen Einstrom von Chloridionen eine Inhibition auslösen, nachgewiesen werden (146). Es wird vermutet, dass Propofol auf eine weitere Anzahl von Rezeptoren, unter anderem auf N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA) seine Wirkung entfalten kann (147). Klinisch führt Propofol dosisabhängig zu einer Atemdepression und einem möglichen Abfall des Blutdrucks durch negative Inotropie und periphere Vasodilatation (148). Mehrere klinische Studien weisen darauf hin, dass Propofol einen kardioprotektiven Effekt durch ischämische Präkonditionierung oder RIPC beeinflussen bzw. verhindern kann (136,149). Daher soll Propofol in dieser Arbeit in Kombination mit Milrinon untersucht werden.

1.4.2 Dexmedetomidin

Seit 2011 ist in Europa der selektive alpha-2-Adrenorezeptor-Agonist Dexmedetomidin unter dem Handelsnamen Dexdor verfügbar (150). Dexmedetomidin wird hauptsächlich zur Sedierung von Patienten auf der Intensivstation eingesetzt (151). Alpha-2-Rezeptoren kommen sowohl prä- und postsynaptisch im zentralen Nervensystem als auch im peripheren Nervensystem vor und entfalten aufgrund der Existenz von verschiedenen Rezeptorsubtypen (α_2A , α_2B , α_2C) eine Vielzahl an unterschiedlichen Wirkungen (152). Die Stimulation des alpha-2-Adrenorezeptors führt über eine Gi-Protein-gekoppelte Kaskade zu einer Inhibierung der Adenylatzyklase, wodurch der cAMP-Spiegel vermindert wird (153). An den glatten Muskelzellen der Gefäße kann die Aktivierung des Rezeptors konzentrationsabhängig zunächst zu einer Vasokonstriktion mit einer Erhöhung des peripheren Widerstandes führen (154–156). Demgegenüber bewirkt die Aktivierung präsynaptischer alpha-2-Rezeptoren eine Hemmung der Freisetzung von Noradrenalin, was unter

anderem zu einer Abschwächung des Sympathikus führt und mit einer Bradykardie, einem Abfall des Herzzeitvolumens und einer Hypotonie einhergeht (157,158). Dexmedetomidin wirkt am Locus coeruleus über eine Hemmung exzitatorischer Neurone und eine verstärkte Aufnahme von Glutamat, wodurch es zu einer abnehmenden synaptischen Reizweiterleitung und Sedierung kommt (159). Neben diesen klinischen Effekten wurden in experimentellen Untersuchungen auch kardioprotektive Eigenschaften für Dexmedetomidin gezeigt (160). Dexmedetomidin aktiviert unter anderem den RISK-Signalweg oder führt zu einer Aktivierung der eNOS (161,162). Zusammenfassend kann Dexmedetomidin über eine Aktivierung des RISK-Signalwegs und der eNOS kardioprotektive Effekte vermitteln und wird deswegen in dieser Arbeit bezüglich seines Einflusses auf die pharmakologische Präkonditionierung in Kombination mit Milrinon untersucht.

1.4.3 Sevofluran

Sevofluran ist ein volatiles Anästhetikum, welches 1995 in Deutschland zugelassen wurde. Sevofluran ist ein halogenierter Methyylisopropylether, der bei Raumtemperatur in flüssiger Form vorliegt (163,164). Für eine volatile Anästhesie werden inhalative Anästhetika wie Sevofluran über die Inspirationsluft verabreicht. Die Inspirationsluft wird mithilfe eines Bypass-Verdampfers mit Sevofluran (165) gesättigt, anschließend wird Sevofluran über die Lunge in den Blutkreislauf aufgenommen, im Körper verteilt und passiert die Blut-Hirn-Schranke, wodurch es hypnotisch wirkt. Die genaue Wirkungsweise ist bis heute nicht bekannt, jedoch existieren verschiedene Theorien. Zum einen die Lipidtheorie, die davon ausgeht, dass Sevofluran sich in der Zellmembran löst, dort die Funktion der Natriumkanäle beeinflusst und durch diese Natriumkanalblockade eine Membrandepolarisation verhindert wird (166). Auf der anderen Seite wird Sevofluran die Eigenschaft zugesprochen, GABA-, Glutamat- und NMDA-Rezeptoren zu beeinflussen und somit exzitatorische Signale abzuschwächen (167). Sevofluran besitzt nur eine geringe analgetische und muskelrelaxierende Wirkung, führt jedoch zu einer Vasodilatation mit Abfall des arteriellen Blutdrucks, wirkt negativ inotrop, begünstigt eine Tachykardie und bedingt einen Abfall des Herzzeitvolumens (168). Neben seiner anästhetischen

Wirkung spielt Sevofluran auch in der Kardioprotektion eine Rolle. Es konnte in mehreren tierexperimentellen Studien gezeigt werden, dass Sevofluran einen I/R-Schaden minimieren kann (169). Aufgrund dieser Beobachtungen soll im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit untersucht werden, ob Sevofluran einen Einfluss auf die pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon hat.

1.5 Ziele der Arbeit

Trotz einiger experimenteller Erfolge ist es bislang nicht gelungen, die beschriebenen pharmakologischen Konditionierungsstrategien aus der präklinischen Forschung mit vergleichbarem Erfolg in der klinischen Praxis, insbesondere im Rahmen einer CABG-Operation, einzusetzen. Der PDE-III-Hemmer Milrinon scheint ein vielversprechendes Pharmakon für eine pharmakologische Präkonditionierung zu sein, da es mit dem kardioprotektiven RISK-Signalweg interagiert. Allerdings ist bisher unklar, ob Milrinon einen konzentrationsabhängigen kardioprotektiven Effekt im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung aufweist. Bei einer CABG-Operation gilt es zudem zu bedenken, dass sich ein für die Narkose eingesetztes Anästhetikum negativ auf eine pharmakologische Präkonditionierung auswirken könnte. Es existieren Hinweise darauf, dass Anästhetika den Effekt einer pharmakologischen Präkonditionierung beeinflussen können. Eine Untersuchung in Kombination mit Anästhetika scheint daher essenziell, um den Einsatz der pharmakologischen Präkonditionierung während einer CABG-Operation weiter voranzutreiben. Die Ziele dieser Arbeit gliedern sich daher in folgende zwei Fragestellungen:

1. „Hat die pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon einen konzentrationsabhängigen kardioprotektiven Effekt auf einen Ischämie-Reperfusions-Schaden?“
2. „Wird ein möglicher kardioprotektiver Effekt von Milrinon unter der Gabe von Propofol, Dexmedetomidin oder Sevofluran beeinflusst?“

Um diese Fragestellungen beantworten zu können, wurden *ex-vivo*-Versuche mit männlichen Wistar-Rattenherzen an einer Langendorff-Anlage durchgeführt. Nach Induktion eines I/R-Schadens wurde bei allen Versuchen als primärer

Endpunkt die Infarktgröße bestimmt, als sekundärer Endpunkt wurden hämodynamische Variablen erhoben. In einem ersten Teilversuch erfolgte die Untersuchung der kardioprotektiven Wirkung von Milrinon im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung, einschließlich der Ermittlung der geringsten Konzentration mit dem größtmöglichen kardioprotektiven Effekt. In einem zweiten Teilversuch wurden die Rattenherzen unter der Gabe von Propofol, Dexmedetomidin oder Sevofluran einer pharmakologischen Präkonditionierung mit Milrinon unterzogen und der Einfluss der Anästhetika auf den Effekt von Milrinon untersucht.

2. Material und Methoden

2.1 Material

Für alle in dieser Arbeit durchgeführten Versuche wurden die in den nachfolgenden Tabellen aufgeführten Materialien, Geräte und Chemikalien verwendet.

2.1.1 Materialien und Geräte

Tabelle 1: verwendete Materialien und Geräte für die Versuche

Art	Modell	Hersteller
Analog/Digitalwandler	PowerLab 8/30 (ML870)	Fa. ADInstruments Dunedin, Neuseeland
Blutgasanalysegerät	ABL 800 Flex	Fa. Radiometer Krefeld, Deutschland
Digitalthermometer	GTH 1160	Fa. Greisinger Regenstauf, Deutschland
Drei-Wege-Hahn	Discofix®-C	Fa. B.Braun Melsungen AG Melsungen, Deutschland
Guillotine	Modell 7950	Fa. Ugo Basile Comero, Italien
Injektionskanüle	Gr. 1 0,9 x 40 mm	Fa. B.Braun Melsungen AG Melsungen, Deutschland
Laborgewindeflasche	SIMAX 5000 ml ISO 4796-1	Fa. Kavalierglass a.s. Sazava, Tschechische Republik
Laborwaage	BP 1200S	Fa. Sartorius Göttingen, Deutschland
Glasluftfalle/Wärmetauscher	Individuelle Anfertigung	Glasbläserei Verhees Neuss, Deutschland
Magnetrührer mit Heizelement	Magnetrührer MR Hei-Tec	Fa. Heidolph Schwabach, Deutschland
Perfusor	Perfusor® Space	Fa. B.Braun Melsungen AG Melsungen, Deutschland
pH-Meter	Digital pH-Meter Typ 646 #4498	Fa. Knick Berlin, Deutschland
Präzisionswaage	LA 230S	Fa. Sartorius Göttingen, Deutschland
Rollerpumpe	Minipuls® 3	Fa. Gilson Middleton, USA
Scanner	CanoScan® LIDE 700F	Fa. Canon Tokio, Japan
Schlauch für Rollerpumpe	Tubing F117949 ID 3,18 mm PVC Black/White	Fa. Gilson Middleton, USA
Schlauchsystem Anlage	Tygon® S3 E-3603	Fa. Saint-Gobain Paris, Frankreich

Transducer	MLT 844/d APT300	Fa. ADInstruments Dunedin, Neuseeland Fa. Harvard Apparatus Holliston, USA
Verstärker	Bridge Amp ML 110	Fa. ADInstruments Dunedin, Neuseeland
Wärmebad mit Heizelement	EC-5	Fa. Julabo Seelbach, Deutschland
Wärmepumpe	MW-6	Fa. Julabo Seelbach, Deutschland
Vaporizer	Dräger Vapor® 19.3 Sevofluran	Fa. Drägerwerk AG & Co. KGaA Lübeck, Deutschland
Gasüberwachung	Capnomac Ultima	Datex-Ohmeda/GE Healthcare Chicago, Illinois, USA
Eichgerät für Transducer	HSE-Druckeichgerät (Typ 367)	Fa. Hugo Sachs Elektrik March-Hugstetten, Deutschland
Spritzen	3ml/5ml Omnifix®, Original Perfusor® Spritze 20 ml	Fa. B.Braun Melsungen AG Melsungen, Deutschland
Nahtmaterial	Polyester USP 4/0	Fa. Resorba® Medical GmbH Nürnberg, Deutschland
Wasserbad	Lauda Kompaktthermostat C6 CS	Lauda Dr. R. Wobser GmbH Königshofen, Deutschland

2.1.2 Software

Tabelle 2: verwendete Software für die Versuche

Art	Name	Hersteller
Laborsoftware	LabChart® Pro 8	Fa. ADInstruments Dunedin, Neuseeland
Auswertungssoftware	SigmaScan Pro 5	Fa. SYSTAT San Jose, USA
Statistiksoftware	GraphPad Prism und StatMate	Fa. GraphPad Software San Diego, USA
Tabellenkalkulation	Excel	Fa. Microsoft Redmond, USA
Grafikerstellung	PowerPoint	Fa. Microsoft Redmond, USA
	Freeform	Fa. Apple Inc. Cupertino, USA

2.1.3 Pharmaka

Tabelle 3: verwendete Pharmaka für die Versuche

CAS = *Chemical Abstracts Service*, g = Gramm, mol = Stoffmenge.

Substanz/Summenformel/Molare Masse	CAS-Nummer	Hersteller
Dexmedetomidin Dexmedetomidin SML0956-10MG (C ₁₃ H ₁₆ N ₂ HCl), 236,74 g/mol	113775-47-6	Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH Steinheim, Deutschland
Heparin-Natrium Heparin Natrium 25.000 I.E./5 ml	9041-08-1	Fa. B.Braun Melsungen AG Melsungen, Deutschland
Milrinon Milrinon M4659-50MG (C ₁₂ H ₉ N ₃ O), 211,22 g/mol	78415-72-2	Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH Steinheim, Deutschland
Natriumchlorid 0,9 % 0,9 % NaCl Lösung 250 ml (NaCl), 58,44 g/mol	7647-14-5	Fa. Fresenius Kabi Bad Homburg, Deutschland
Pentobarbital-Natrium Narcoren 16 g/100 ml (C ₁₁ H ₁₇ N ₂ NaO ₃), 248,25 g/mol	57-33-0	Fa. Merial GmbH Hallbergmoos, Deutschland
Propofol 1 % MCT Emulsion (C ₁₂ H ₁₈ O), 178,27 g/mol	2078-54-8	Fa. Fresenius Kabi Bad Homburg, Deutschland
Sevofluran Sevorane 100 % (C ₄ H ₃ F ₇ O), 200,1 g/mol	28523-86-6	Fa. AbbVie North Chicago, Illinois, USA

2.1.4 Gase

Tabelle 4: verwendete Gase für die Versuche

CAS = *Chemical Abstracts Service*

Gas	CAS-Nummer	Hersteller
Carbogen CO ₂ 5%; O ₂ 95%	CO ₂ : 124-38-9 O ₂ : 7782-44-7	Fa. Linde AG München, Deutschland
Stickstoff 5.0 N ₂	7727-37-9	Fa. Linde AG München, Deutschland

2.1.5 Chemikalien

Tabelle 5: verwendete Chemikalien für die Versuche

CAS = *Chemical Abstracts Service*, g = Gramm, mol = Stoffmenge.

Substanz/Summenformel/Molare Masse	CAS-Nummer	Hersteller
L (+)-Natriumactat (C ₃ H ₅ NaO ₃), 112,06 g/mol	867-56-1	Fa. AppliChem GmbH Darmstadt, Deutschland
D (+)-Glukose (wasserfrei) (C ₆ H ₁₂ O ₆), 180,16 g/mol	50-99-7	Fa. Carl Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland
Dimethylsulfoxid (DMSO) (C ₂ H ₆ OS), 78,13 g/mol	67-68-5	Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH Steinheim, Deutschland
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈), 292,25 g/mol	60-00-4	Fa. Carl Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland
Formaldehyd 37% (CH ₂ O), 30,031 g/mol	50-00-0	Fa. Merck KGaA Darmstadt, Deutschland
Kaliumchlorid (KCl), 74,56 g/mol	7447-40-7	Fa. Fluka Chemie GmbH Buchs, Schweiz
Kaliumdihydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄), 136,09 g/mol	7778-77-0	Fa. Carl Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland
Kaliumhydroxid (KOH), 56,11 g/mol	1310-58-3	Fa. Merck KGaA Darmstadt, Deutschland
Calciumchlorid (CaCl ₂), 110,98 g/mol	10043-52-4	Fa. Merck KGaA Darmstadt, Deutschland
Magnesiumsulfat-Heptahydrat (MgSO ₄ · 7 H ₂ O), 246,48 g/mol	10034-99-8	Fa. Carl Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl), 58,44 g/mol	7647-14-5	Fa. VWR International bvba Leuven, Belgien
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃), 84,01 g/mol	144-55-8	Fa. Carl Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland
Salzsäure rauchend 37% (HCl), 36,461 g/mol	7647-01-0	Fa. Carl Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland
Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) (C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄), 334,79 g/mol	298-96-4	Fa. Serva Electrophoresis GmbH Heidelberg, Deutschland
Trishydroxymethylaminomethan (TRIS) (C ₄ H ₁₁ NO ₃), 121,14 g/mol	77-86-1	Fa. Carl Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland

2.1.6 Versuchstiere

Für die *ex-vivo*-Versuche wurden ausschließlich zwei bis drei Monate alte männliche Wistar-Ratten verwendet. Die Tiere wurden von der Firma Janvier Labs (Laval, Frankreich) bezogen. Die Organentnahme wurde mit Erlaubnis der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Aktenzeichen: O 27/12) durchgeführt. Die Haltung der Tiere erfolgte in der ZETT unter standardisierten Bedingungen (Temperatur $22\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, Luftfeuchtigkeit $55\% \pm 5\%$, 12-h Tag-/Nachtrhythmus, Beleuchtung $310\text{ Lux} \pm 10\text{ Lux}$, unbeschränkter Zugang zu Alleinfutter und Wasser mit einem pH-Wert von etwa 3). Die Haltung erfolgte in Käfigen mit entkeimtem Weichholzgranulat.

2.1.7 Krebs-Henseleit-Puffer

Für die Versuche wurde ein modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) verwendet (Tabelle 6) (169). Der Puffer wurde täglich frisch und unter Einbeziehung einer Präzisionswaage, eines Magnetrührers sowie Analysen der Gas- und Elektrolytwerte hergestellt. Um den Puffer zu oxygenieren und zu stabilisieren, wurde dieser permanent über eine Glasdiffusor mit Carbogen (95 % O₂ und 5 % CO₂) begast, sodass Sauerstoffpartialdrücke von $587\text{ mmHg} \pm 47\text{ mmHg}$ und pH-Werte von $7,40 \pm 0,03$ konstant gehalten werden konnten. Der Kohlenstoffdioxidpartialdruck betrug $39\text{ mmHg} \pm 3\text{ mmHg}$.

Tabelle 6: Herstellung von Krebs-Henseleit-Puffer

In der Tabelle sind die Substanzen dargestellt, die für die Herstellung einer Krebs-Henseleit-Pufferlösung von 5 Litern verwendet wurden.

g = Gramm, ml = Milliliter, mM = Millimolar.

Substanz	Stoffmenge (mM)	Menge
Aqua destillata	-	5000 ml
Calciumchlorid	2,25	1,249 g
D (+) -Glukose	11	9,909 g
Ethylendiamintetraacetat	0,5	0,731 g
Kaliumchlorid	4,7	1,751 g
Kaliumdihydrogenphosphat	1,2	0,817 g

Laktat Natriumsalz	1	0,561 g
Magnesiumsulfatheptahydrat	1,2	1,479 g
Natriumchlorid	118	34,48 g
Natriumhydrogencarbonat	25	10,501 g

2.2 Methoden

2.2.1 Präparation und Herzentnahme

Vor Beginn der Experimente wurden alle Ratten gewogen. Zur Sedierung erhielten alle Tiere eine intraperitoneale Injektion von 90 mg/kg Körpergewicht Pentobarbital-Natrium. Um eine Thrombenbildung bei der Herzentnahme zu verhindern, wurde allen Tieren 1000 I.E. Heparin-Natrium intraperitoneal injiziert. Eine ausreichende Sedierungstiefe wurde über das Fehlen von Schmerzreizen überprüft. Anschließend erfolgte eine Dekapitation mittels einer Guillotine.

Für die nachfolgende Herzentnahme erfolgte eine mediane Thorakotomie mit unmittelbarer Eröffnung des Perikards. Aorta und Vena cava wurden mit ca. 1 cm Abstand abgesetzt und das Herz entnommen. Bis zum Anschluss und Start der Perfusion an der Langendorff-Anlage, wurde das Herz in einer 37 °C warmen 0,9 % NaCl-Lösung gelagert, um eine Luftembolie in den Koronararterien zu verhindern. Über die Aorta wurde das entnommene Herz zeitnah an der Kanüle der Langendorff-Anlage mit einer Klemme fixiert und unmittelbar durch zwei chirurgische Knoten mit einer Naht aus Polyester befestigt und die Klemme wieder entfernt. Beim Platzieren des Herzens wurde darauf geachtet, die Aortenklappe nicht zu durchstoßen und die Koronarostien nicht zu okkludieren. Es erfolgte der unmittelbare Beginn der retrograden Perfusion über die Langendorff-Anlage. Die Zeitspanne bis zum Beginn der Perfusion betrug bei allen Versuchen weniger als 3 Minuten.

2.2.2 Langendorff-Modell

Das Langendorff-Modell (Abbildung 3) ist ein seit über 100 Jahren etabliertes Verfahren, um *ex-vivo*-Studien an isolierten Herzen durchzuführen (171).

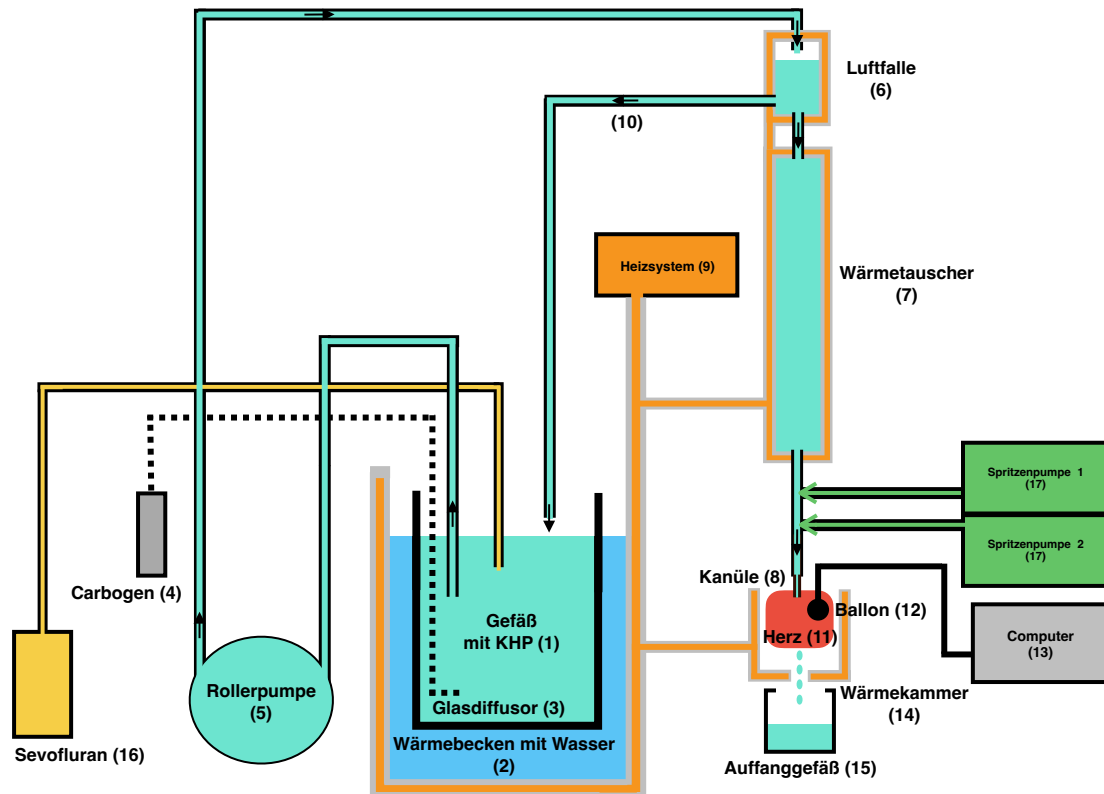


Abb. 3: Langendorff-Modell

Die Abbildung zeigt den Aufbau einer Langendorff-Anlage, die für die Experimente genutzt wurde: Ein Gefäß enthielt den nach der Rezeptur hergestellten Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) (1). Das Gefäß befand sich in einem auf 45 °C beheizten Wärmebecken (2). Über einen Glasdiffusor (3) wurde der KHP durchgehend mit Carbogen (4) begast. Über eine Rollerpumpe (peristaltisch) (5) wurde die Pufferlösung über eine Luftfalle (6) und einen Wärmetauscher (7) gepumpt, sodass die Temperatur am Austrittspunkt der sich anschließenden Kanüle (8) stets 37 °C betrug. Hierfür wurde ein eigenes Heizsystem (9) genutzt. Für die Versuche wurde eine druckkontrollierte Variante des Langendorff-Modells genutzt und mittels Wassersäule der Druck am Austrittspunkt der Kanüle auf 80 mmHg geeicht. KHP, der nicht in den Wärmetauscher gelangte, wurde mit einer separaten Leitung (10) dem Gefäß mit KHP wieder zugeführt. Das Rattenherz (11) wurde an einer Kanüle über die Aorta aufgehängt und festgeknotet. Ein über das linke Herzhorn eingeführter Ballon (12) diente als Messsonde für die hämodynamischen Variablen die über einen Transducer dem Computer (13) zugeführt und aufgezeichnet wurden. Der Puffer der das Herz perfundierte, lief über eine Wärmekammer (14) ab und wurde mit einem Auffanggefäß (15) gesammelt und als Koronarfluss ausgewertet. Für die Versuchsreihe mit Sevofluran wurde ein Sevofluranverdampfer (16) genutzt und ein zweiter Puffer mittels einer Zuleitung mit Sevofluran versetzt (aufgrund der Übersichtlichkeit ist der zweite Puffer für Sevofluran nicht dargestellt). Dieser zweite Puffer wurde zu den gegebenen Zeitpunkten der Interventionen verabreicht. Die Substanzen für die pharmakologische Präkonditionierung sowie das jeweilige Anästhetikum wurden mittels zweier Spritzenpumpen (17) verabreicht.

Alle Experimente liefen stets nach einem standardisierten Schema ab. Die Zuteilung der Ratten zu den einzelnen Versuchsgruppen erfolgte mittels computer-generierter Zufallszahl. Das Langendorff-Modell ermöglichte es, das Rattenherz retrograd über die Aorta mittels des modifizierten, auf 37 °C erwärmten, KHP zu perfundieren. In einem 45 °C warmen Wasserbad wurde der KHP inkubiert und dauerhaft über einen Glasdiffusor mit Carbogen versetzt, um stabile Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidpartialdrücke zu gewährleisten, sowie den pH-Wert zu stabilisieren. Regelmäßige Blutgasanalysen während der Versuche wurden durchgeführt, um stets konstante Bedingungen des KHP zu schaffen. Das entnommene Herz wurde, wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben an der Langendorff-Anlage befestigt und perfundiert. Ein vollständig entleerter Kunststoffballon wurde über das mit einer Schere eröffnete linke Herzhorn in den linken Ventrikel eingeführt. Nach Platzierung wurde der Ballon mit bis zu 0,2 ml einer 0,9 % Natriumchloridlösung luftblasenfrei gefüllt. Die Zeitspanne von der Dekapitation bis zur Ballonplatzierung betrug bei allen Versuchen durchgehend unter fünf Minuten. Über den platzierten und gefüllten Ballon registrierte ein vor jedem Versuch geeichter Transducer den linksventrikulären Druck. Ein Analog/Digitalwandler übertrug diese Daten an einen Computer, auf welchem die Software LabChart die Daten verarbeitete. Durch eine Anpassung der Menge an Flüssigkeit für die Ballonfüllung wurde während der Eingewöhnungsphase (Baseline) ein (enddiastolischer) linksventrikulärer Druck von 4-8 mmHg eingestellt. Die über die Aorta retrograde koronare Perfusion wurde druckkontrolliert bei 80 mmHg konstant gehalten. Eine Wärmekammer mit einer Temperatur von 37 °C umgab durchgehend das Herz. Der Fluss des KHP (Perfusat) gelangte über die beiden Koronarien in das Myokard, anschließend in den Koronarvenensinus und hierüber in den rechten Vorhof und letztlich in die Vena cava. Das hier austretende Effluent wurde über ein Auffanggefäß gesammelt. Die Eingewöhnungsphase (Baseline) betrug fünfzehn bzw. zwanzig Minuten. Anschließend wurde dem Herz mithilfe der Spritzenpumpen je nach Versuchsprotokoll das jeweilige Anästhetikum oder eine Kontrolllösung über eine Konnektionsstelle an der Kanüle verabreicht. Fünf Minuten später startete die pharmakologische Präkonditionierung oder die Gabe einer Kontrolllösung. Die Laufrate der Spritzenpumpen für die Gabe der Pharmaka wurde auf 1 % des Koronarflusses angepasst, die Bestimmung der Laufrate erfolgte durch das

Abwiegen des über eine Minute aufgefangenen Koronareffluents vor Gabe der Medikamente (Beispielberechnung: aufgefangenes Koronareffluent von 15 ml über eine Minute, bedeutete bei einer Laufrate von 1 % gleich 0,15 ml/min, was zu einer Einstellung der Stundenlaufrate an der Spritzenpumpe von 9 ml/h führte). Für die Erzeugung der sich anschließenden globalen 33-minütigen Ischämie ab der Minute 30 wurde die retrograde Perfusion über die Aorta mittels eines Drei-Wege-Hahns beendet und die Wärmekammer vollständig um das Herz herum mit einer 37 °C warmen, mit Stickstoff begasten, 0,9 % NaCl-Lösung befüllt. Die Lagerung im Stickstoffbad sollte eine Anreicherung des Herzens mit Sauerstoff aus der Umgebungsluft verhindern. Auf die Ischämiephase folgte eine 60-minütige Reperfusionsphase. Während der Reperfusionsphase wurden entweder kontinuierlich über die Spritzenpumpe die Anästhetika oder die Kontrolllösung weiter verabreicht oder es fand je nach Versuchsprotokoll keine weitere medikamentöse Gabe statt. Sollten während der Reperfusionsphase Herzrhythmusstörungen wie zum Beispiel Kammerflimmern auftreten, wurde das Herz direkt mit einem mechanischen Reiz in den Sinusrhythmus konvertiert. Herzen, bei denen die Herzrhythmusstörungen nicht unmittelbar behebbar waren, wurden von der Studie ausgeschlossen. Es wurden nur Herzen ausgewertet, die in der Eingewöhnungsphase eine durchschnittliche Herzfrequenz von über 250 bpm aufwiesen und mindestens einen entwickelten linksventrikulären Druck von 80 mmHg (LVDP > 80 mmHg) erreichten. Am Ende der Versuche wurde das Herz mit einer Kompresse getrocknet und für eine Woche bei -20 °C in einer handelsüblichen 3 ml Spritze gefroren. Im Anschluss wurde das Herz mittels einer Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung eingefärbt, die Infarktgröße bestimmt und die hämodynamischen Variablen ausgewertet.

2.2.3 Färbung der Herzen

Nach der Lagerung für mindestens eine Woche bei -20 °C erfolgte für die Infarktgrößenbestimmung bei allen Herzen eine Vitalfärbung. In dieser Arbeit wurde eine 0,75 % Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung, nach der in Tabelle 7 gezeigten Rezeptur verwendet. Bei TTC handelt es sich um einen Redox-Farbstoff, der im oxidierten Zustand farblos (Tetrazolium) und in der

reduzierten Form rot (Formazan) erscheint. Avitales Herzgewebe präsentiert sich demnach farblos, während in vitalem Herzgewebe das Tetrazolium mithilfe mitochondrialer Dehydrogenase der Atmungskette zu Formazan reduziert wird und dadurch rot erscheint. In der Abbildung 4 ist eine solche Farbreaktion beispielhaft dargestellt.

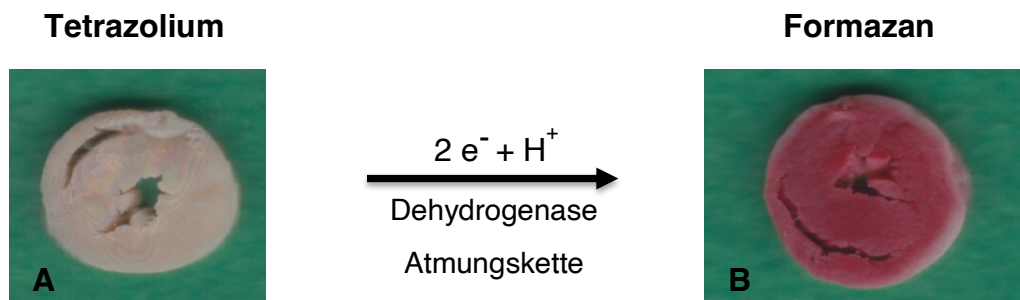


Abb. 4: Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung

Dargestellt sind zwei gefärbte Herzscheiben. Herzscheibe A stellt sich weiß dar und entspricht avitalem Gewebe; Herzscheibe B stellt sich rot dar und entspricht vitalem Gewebe.

e^- = Elektron, H^+ = Proton.

Für die Färbelösung wurden die in Tabelle 7 genannten Stoffe zusammengeführt und anschließend auf 37 °C mit einem Magnetrührer erhitzt. Dabei wurde die Lösung durch haushaltsübliche Aluminiumfolie vor Lichteinfluss geschützt. Bei einer Temperatur von 37 °C wurde anschließend mittels Salzsäure (HCl) und Kaliumhydroxid (KOH) ein pH-Wert von 7,42 eingestellt. Anschließend wurde die Lösung lichtgeschützt bei 37 °C warmgehalten.

Tabelle 7: Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung

Mengenangaben für 100 ml Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbelösung in einer Konzentration von 0,75 %.

g = Gramm, ml = Milliliter.

Substanz	Menge
Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)	0,75 g
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS)	1,41 g
NaCl 0,9 %	100 ml

Die gefrorenen Herzen wurden anschließend mit einem Skalpell in 8 gleichmäßige, ca. 2 mm dünne Scheiben geschnitten. Mit der Schnittfläche nach unten wurden die Herzscheiben mit einer Pinzette in eine 24-Lochplatte für

Zellkulturen befördert und mit 1 ml der TTC-Färbelösung bedeckt. Im Anschluss wurden die Herzscheiben mit der Färbelösung für fünfzehn Minuten bei 37 °C inkubiert. Danach wurden die Herzscheiben in gleicher Richtung in eine neue Lochplatte gelegt und mit 1 ml 4 % Formaldehyd aufgefüllt (Herstellung: 100 ml Formaldehyd 37 % mit 900 ml Leitungswasser verdünnt). Nach 24 Stunden Fixierungszeit bei 20 °C war die Färbung der Herzen abgeschlossen. Die Abbildung 5 zeigt beispielhaft die verschiedenen Färbungen bei unterschiedlich großen Infarktgrößen.

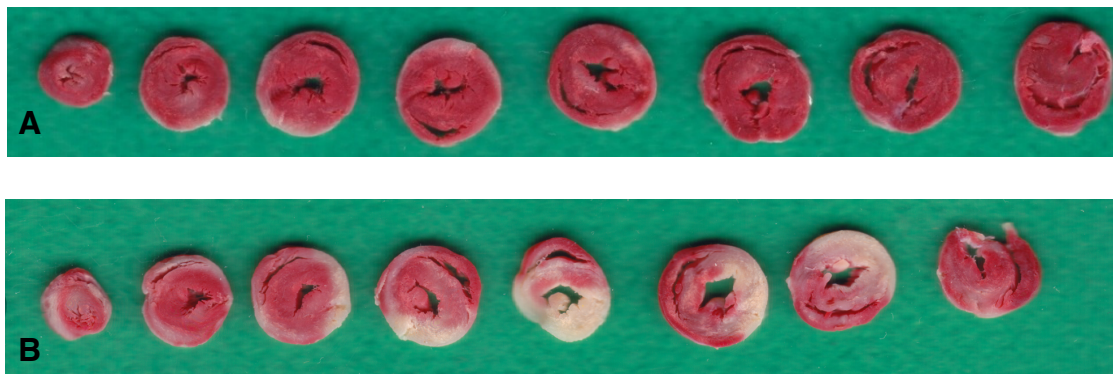


Abb. 5: Triphenyltetrazoliumchlorid gefärbte Herzscheiben

A: kleines Infarktareal; B: großes Infarktareal. Durch nicht gefärbtes (weißes = avitales) Gewebe zu unterscheiden.

2.2.4 Infarktgrößenbestimmung

Nach der Einfärbung der Herzen wurden die Herzscheiben mittels eines Flachbettscanners zwischen zwei transparenten DIN-A4-Folien digitalisiert. Die endgültige Auswertung der Infarktgröße erfolgte über die Software Sigma Scan Pro 5 mittels eines planimetrischen Verfahrens. Der Kontrast und die Farbsättigung wurden zu Beginn der Auswertung mittels der Software um je 30 % erhöht. Im Anschluss wurden jeweils die Gesamtfläche des linken Ventrikels und die der ischämischen, weißgefärbten Gebiete umfahren. Durch die Software wurden die jeweiligen umfahrenen Flächen berechnet. Mit der Software Excel (Firma Microsoft, Redmond, USA) wurden sowohl die Flächen der Infarktareale als auch die der Gesamtfläche des linken Ventrikels für alle 8 Herzscheiben addiert. Anschließend wurden die Werte in ein Verhältnis gesetzt. Die so berechnete Infarktgröße im Verhältnis zur Fläche des gesamten linken Ventrikels wurde in Prozent angegeben. Im Anschluss wurden die Herzscheiben für 7 Tage gelagert und anschließend das Trockengewicht mit einer Präzisionswaage

bestimmt. Die Infarktgrößenbestimmung erfolgte verblindet und wurde zusätzlich von zwei weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppe unabhängig und verblindet ausgewertet. Erst nach finaler Auswertung aller Daten wurde die Verblindung aufgehoben.

2.2.5 Hämodynamische Variablen

Für die Registrierung der hämodynamischen Variablen wurde über einen Transducer die Veränderung des linksventrikulären Drucks aufgezeichnet (172,173). Anhand der erhobenen Daten wurden die Herzfrequenz (HF, bpm), der minimale linksventrikuläre Druck (LVPmin), der maximale linksventrikuläre Druck (LVPmax) sowie der entwickelte linksventrikuläre Druck (LVDP, berechnet aus der Differenz zwischen LVPmax und LVPmin) ermittelt (172,173). Der Koronarfluss (CF) wurde manuell über das Sammeln des Koronareffluents zu verschiedenen Zeitpunkten per Waage bestimmt. Die Variablen wurden standardisiert in der Eingewöhnungsphase (Baseline, Minute 15), in der Ischämiephase (Minute 29) und in der Reperfusionsphase in den Minuten 30 und 60 bestimmt (172,173). Während der Ischämiephase wurden der maximale Wert des LVPmin, sowie dessen Zeitpunkt bestimmt (*maximal ischemic contracture*). Artefakte oder Arrhythmien wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

2.2.6 Statistische Auswertung

Unter Verwendung der Software GraphPad StatMate wurden für den ersten und zweiten Teilversuch die Stichprobengrößen ermittelt. Für den ersten Teilversuch wurde eine Fallzahl je Gruppe von $n = 8$ ermittelt, um einen Unterschied von 25 % in der Infarktgröße bei einer Standardabweichung von 13 % mit einer Wahrscheinlichkeit von 80 % und einem alpha-Fehlerniveau von $< 0,05$ detektieren zu können (173). Für den zweiten Teilversuch wurde ebenfalls eine Fallzahl je Gruppe von $n = 8$ festgelegt, um einen Unterschied von 25 % in der Infarktgröße bei einer Standardabweichung von 11 % mit einer Wahrscheinlichkeit von 80 % und einem alpha-Fehlerniveau von $< 0,05$ zu detektieren (172). Eine Normalverteilung der erhobenen Daten wurde mittels Kolmogorov–Smirnov-Test überprüft (172). Für eine weitere statistische Auswertung der Daten wurde die Software GraphPad Prism verwendet. Die

Infarktgrößen wurden mithilfe einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und einem anschließenden Tukey-post-hoc Test analysiert (172,173). Eventuelle Unterschiede zu verschiedenen Zeitpunkten der hämodynamischen Variablen oder unter den verschiedenen Gruppen wurden mithilfe einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit einem anschließenden Tukey-post-hoc-Test analysiert (172,173). Die Daten des Vorversuchs wurden mittels eines Student's t-Test analysiert. Eine statistische Signifikanz der Ergebnisse wurde bei einem p-Wert $< 0,05$ angenommen (172,173). Alle Daten dieser Arbeit wurden als Mittelwert (MW) mit Standardabweichung (SD) beschrieben (172,173).

2.3 Versuchsprotokolle

2.3.1 Vorversuch

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Vorversuch durchgeführt. Dieser Vorversuch diente dazu, den Umgang mit der Langendorff-Anlage zu festigen und zu zeigen, dass reproduzierbare Ergebnisse mit Hinweis auf eine Kardioprotektion erzielt werden können. Die ischämische Präkonditionierung (IPC) stellt die wirksamste Konditionierungsmaßnahme dar und wurde daher für den Vorversuch gewählt. Ziel war es, den protektiven Effekt einer IPC durch eine signifikante Reduktion der Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe zu zeigen. Dazu wurden die Ratten randomisiert in eine Kontrollgruppe (Kon) und eine Interventionsgruppe (IPC) eingeteilt (je $n = 8$). Das Versuchsprotokoll ist in der Abbildung 6 dargestellt. Nach einer 20-minütigen Eingewöhnungsphase (Baseline) folgte in der Kontrollgruppe (Kon) eine weitere 30-minütige Perfusionsphase, in der Interventionsgruppe (IPC) folgten während dieser Zeit je drei Phasen Ischämie und Reperfusion im Wechsel von fünf Minuten. Anschließend folgte bei beiden Versuchen eine 33-minütige globale Ischämie, an welche sich eine 60-minütige Reperusionsphase anschloss. Im Anschluss folgte eine Färbung der Herzen mittels einer Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung und anschließender

Infarktgrößenbestimmung. Abschließend wurden die Gruppen statistisch mittels eines Student's t-Tests verglichen.

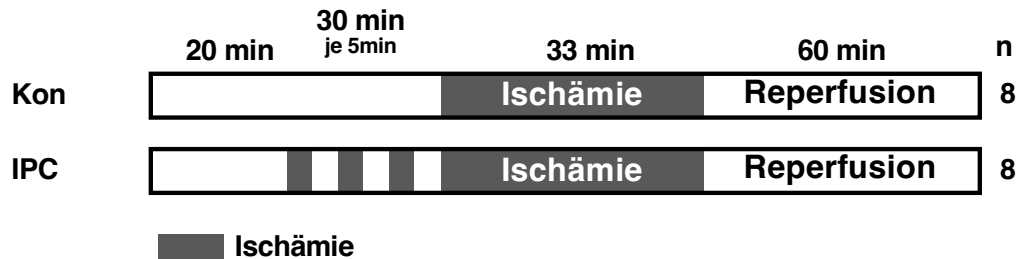


Abb. 6: Versuchsprotokoll Vorversuch

Zeitlicher Ablauf des Vorversuchs: Nach einer 20-minütigen Eingewöhnungsphase folgte in der Kontrollgruppe (Kon) eine 30-minütige Perfusionsphase. In der Interventionsgruppe (IPC) folgten im Wechsel von fünf Minuten je drei Phasen Ischämie und Reperfusion. Im Anschluss folgte bei beiden Gruppen eine 33-minütige globale Ischämie, der sich eine 60-minütige Reperusionsphase anschloss. Zum Schluss erfolgten eine Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung und eine Infarktgrößenbestimmung (zwei Gruppen mit je n = 8).

IPC = ischämische Präkonditionierung, Kon = Kontrolle, min = Minuten, n = Anzahl.

2.3.2 Erster Teilversuch

Für den ersten Teilversuch wurden die Ratten in fünf Gruppen mit je sieben bis neun Tieren randomisiert eingeteilt. Ziel dieses Teilversuchs war es, sowohl den kardioprotektiven Effekt von Milrinon, in Form einer Reduktion der Infarktgröße, im Rahmen der pharmakologischen Präkonditionierung, als auch die Konzentration mit der größtmöglichen Infarktgrößenreduktion zu ermitteln. Das Versuchsprotokoll ist in Abbildung 7 dargestellt (173). Alle Herzen durchliefen eine 20-minütige Eingewöhnungsphase (Baseline). Im Anschluss an die Eingewöhnungsphase erfolgte über einen Zeitraum von zehn Minuten entweder die Gabe eines Perfusats aus KHP mit 2,5 % Dimethylsulfoxid (DMSO) als Kontrollgruppe (Kon) oder die Gabe von Milrinon (Mil) in vier unterschiedlichen Konzentrationen von 0,3 μ M, 1 μ M, 3 μ M und 10 μ M mittels einer Spritzenpumpe. Zur Herstellung der verschiedenen Milrinon-Konzentrationen wurde zunächst eine 40 mM Stocklösung hergestellt. Hierfür wurden 50 mg

Milrinon in 5,918 ml DMSO gelöst. Aus dieser Stocklösung wurden die verschiedenen Milrinon-Konzentrationen, wie in Tabelle 8 dargestellt, hergestellt.

Tabelle 8: Pipettierschema Milrinon

Die Tabelle zeigt das Pipettierschema für die jeweiligen Milrinon-Konzentrationen. Diese wurden mithilfe einer Spritzenpumpe bei einer Laufrate von 1 % des Koronarflusses appliziert. Die Konzentration der Lösungen in der Spritze betrug jeweils die 100-fache Dosis, um bei einem Koronarfluss von 1 %, die jeweiligen Endkonzentration von 0,3 μM , 1 μM , 3 μM und 10 μM Milrinon zu erreichen (173). Die Endkonzentration von Dimethylsulfoxid (DMSO) betrug maximal 0,025 % (1 % von 2,5 %).

mM = Millimolar, μL = Mikroliter, μM = Mikromolar.

Gruppe	DMSO (μL)	Krebs-Henseleit-Puffer (μL)	Milrinon 40 mM Stocklösung (μL)
Kontrolle (Kon)	125	4875	-
30 μM Milrinon (Mil 0,3 μM)	124,625	4871,625	3,75
100 μM Milrinon (Mil 1 μM)	123,75	4863,75	12,5
300 μM Milrinon (Mil 3 μM)	121,25	4841,25	37,5
1000 μM Milrinon (Mil 10 μM)	112,5	4762,4	125

Die Laufrate der Spritzenpumpe wurde, wie in Kapitel 2.2.2 beschrieben, auf 1 % des Koronarflusses eingestellt. Im Anschluss an die Präkonditionierung folgte eine 33-minütige globale Ischämie, an die sich eine 60-minütige Reperusionsphase anschloss. Im Anschluss erfolgten eine Färbung der Herzen mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung sowie die anschließende Infarktgrößenbestimmung und Auswertung der hämodynamischen Variablen.

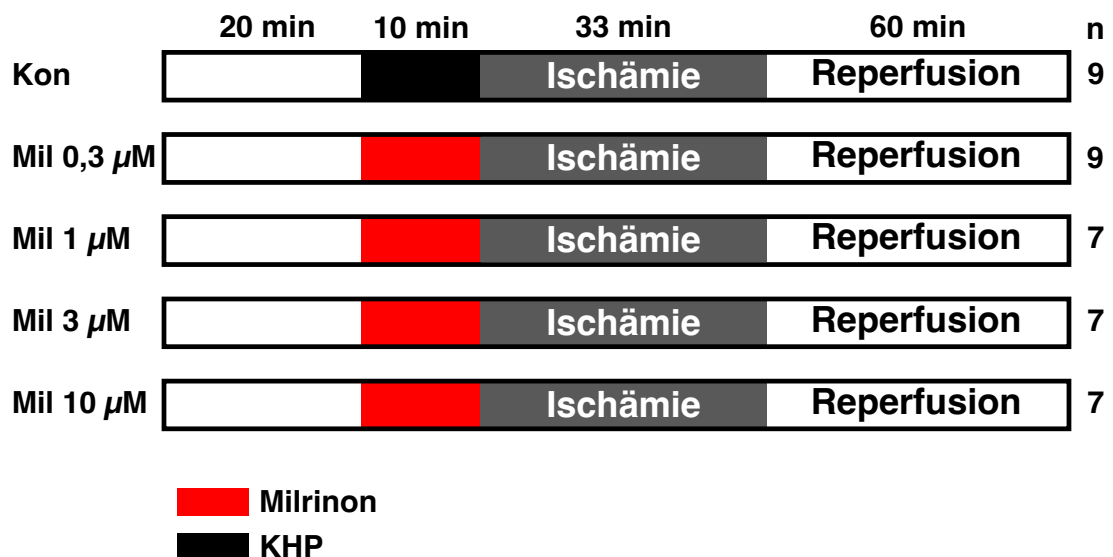


Abb. 7: Versuchsprotokoll erster Teilversuch

Dargestellt ist der Ablauf des ersten Teilversuchs. Ziel war es, einen kardioprotektiven Effekt von Milrinon im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung nachzuweisen und die Konzentration für die größtmögliche Infarktgrößenreduktion zu bestimmen. Nach 20 Minuten Eingewöhnungsphase (Baseline) folgte über 10 Minuten die Gabe von KHP in der Kontrollgruppe (Kon) oder von Milrinon (Mil) in unterschiedlichen Konzentrationen (0,3 μ M – 10 μ M). Es folgte eine 33-minütige globale Ischämie mit anschließender 60-minütiger Reperusionsphase. Zum Schluss erfolgten eine Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung und eine Infarktgrößenbestimmung. (fünf Gruppen mit je n = 7-9) modifiziert nach (173).

KHP = Krebs-Henseleit-Puffer, Kon = Kontrolle, Mil = Milrinon, , min = Minute, n = Anzahl, μ M = Mikromolar.

2.3.3 Zweiter Teilversuch

Das Ziel des zweiten Teilversuchs war es, den Einfluss der Anästhetika Propofol (Pro), Dexmedetomidin (Dex) und Sevofluran (Sev) auf den kardioprotektiven Effekt von Milrinon (Mil) im Rahmen der pharmakologischen Präkonditionierung zu untersuchen. Im ersten Teilversuch konnte gezeigt werden, dass Milrinon in einer Konzentration von 1 μ M den größtmöglichen kardioprotektiven Effekt aufwies, daher wurde für den zweiten Teilversuch eine Konzentration von 1 μ M Milrinon gewählt. Primärer Endpunkt war auch im zweiten Teilversuch die Infarktgröße. Für den zweiten Teilversuch wurden insgesamt acht Gruppen gebildet, jeder Gruppe wurden randomisiert sieben bzw. acht Tiere zugeordnet. Es wurden vier Kontrollgruppen definiert, bestehend jeweils aus einem Anästhetikum in Kombination mit KHP und eine KHP-KHP Kontrollgruppe (KHP-KHP, Pro-KHP, Dex-KHP, Sev-KHP). Der Versuch beinhaltete 4

Interventionsgruppen in denen KHP mit 1 μ M Milrinon und das jeweilige Anästhetikum mit 1 μ M Milrinon (Tabelle 8) untersucht wurde (KHP-Mil, Dex-Mil, Pro-Mil, Sev-Mil). Alle Gruppen durchliefen das in Abbildung 8 dargestellte Versuchsprotokoll (172). Die Herzen erhielten ab Minute 15 entweder 11 μ M Propofol (nach Tabelle 9 hergestellt), 1,5 nM Dexmedetomidin (nach Tabelle 10 hergestellt), 2,5 Vol.-% Sevofluran oder KHP mit 1 % des Koronarflusses mittels einer Spritzenpumpe. Ab Minute 20 wurde die pharmakologische Präkonditionierung mit 1 μ M Milrinon (je mit 1 % des Koronarflusses über die Spritzenpumpe) oder als Kontrollintervention KHP über 10 Minuten appliziert. Im Anschluss folgte die 33-minütige Ischämie, gefolgt von einer 60-minütigen Reperfusionphase. Während der Reperfusionphase wurde entweder die Gabe des jeweiligen Anästhetikums oder die KHP-Gabe fortgesetzt. Im Anschluss folgten die Infarktgrößenbestimmung und die Auswertung der hämodynamischen Variablen.

Tabelle 9: Pipettierschema Propofol

Die Tabelle zeigt das Pipettierschema für die 1,1 mM Propofol (Pro)-Lösung. Die Konzentration der Verdünnung betrug 1,1 mM Propofol, die Endkonzentration von Propofol lag bei einer Applikation von 1 % des Koronarflusses bei 11 μ M Propofol.

% = Prozent, mg = Milligramm, ml = Milliliter, mM = Millimolar, NaCl = Natriumchlorid, μ M = Mikromolar.

Gruppe	Propofol 1 % (ml)	NaCl 0,9 % (ml)
1,1 mM Propofol (Propofol 11 μ M (Pro))	1,1	55,095

Für Dexmedetomidin wurde eine Konzentration im Perfusat am Herzen von 1,5 nM angestrebt (172). Hierfür wurden zwei Stocklösungen A und B nach Tabelle 10 hergestellt. Die finale Lösung von Dexmedetomidin wies eine Konzentration von 150 nM auf. Bei einer Verabreichung mit einer Laufrate von 1 % des Koronarflusses ergab sich aus dieser Lösung eine Endkonzentration am Herzen von 1,5 nM Dexmedetomidin (172).

Tabelle 10: Pipettierschema Dexmedetomidin

Die Tabelle zeigt das Pipettierschema für die 150 nM Dexmedetomidin Lösung mit zwei Stocklösungen A und B. Die Konzentration von Dexmedetomidin in der Spritze entsprach 150 nM. Dies führte zu einer Endkonzentration bei 1 % des Koronarflusses von 1,5 nM Dexmedetomidin (172).

Aqua dest. = destilliertes Wasser, ml = Milliliter, mM = Millimolar, nM = Nanomolar.
 μ l = Mikroliter, μ M = Mikromolar.

Gruppe	Dexmedetomidin 10mg/ml (ml)	Aqua dest. (ml)
Stock A [10 mM]	1	4,224
	Dexmedetomidin Stock A (μ l)	Aqua dest. (μ l)
Stock B [100 μM]	10	990
	Dexmedetomidin Stock B (μ l)	KHP (ml)
Dexmedetomidin 1,5 nM (Dex)	75	50

Sevofluran wurde mithilfe eines Bypass-Verdampfers (Vapor® 19.3, Dräger) appliziert. Über eine separate Zuleitung des Verdampfers zu einem zweiten KHP Gefäß wurde ein zweiter KHP mit Sevofluran gesättigt. Die kontinuierliche Carbogen-Begasung erfolgte auch bei diesem Puffer, um stabile pH-Werte und Gaspartialdrücke zu gewährleisten. Vor Versuchsbeginn wurde der Bypass-Verdampfer mithilfe eines Capnomac Ultima auf eine Referenzkonzentration kalibriert, um eine reproduzierbare Messung der Sevoflurankonzentration während der Versuche zu gewährleisten. Eine Sevoflurankonzentration von 2,5 Vol.-% wurde gewählt, da diese Konzentration bei Rattenherzen in etwa der Sevoflurankonzentration von 1 MAC (minimale alveoläre Konzentration) beim Menschen entspricht (174). Die Zielkonzentration von 2,5 Vol.-% Sevofluran wurde im KHP unter durchgehender Kontrolle mittels des Capnomac Ultima mittels des Gassensors über eine Probenentnahmeleitung bei einem Gasfluss von 0,4 l/min erreicht. Es wurde angenommen, dass sich innerhalb weniger Minuten ein Gleichgewicht zwischen Gas- und Flüssigphase einstellt, sodass die im Puffergefäß gemessene Sevoflurankonzentration der Konzentration im KHP entsprach. Es erfolgte keine direkte Sevofluran Spiegel Messung im Perfusat. Der in allen Versuchen genutzte ungesättigte KHP wurde für die Sevofluran-

Versuchsreihen ab Minute 15 gemäß dem Versuchsprotokoll gegen den mit Sevofluran gesättigten KHP ausgetauscht.

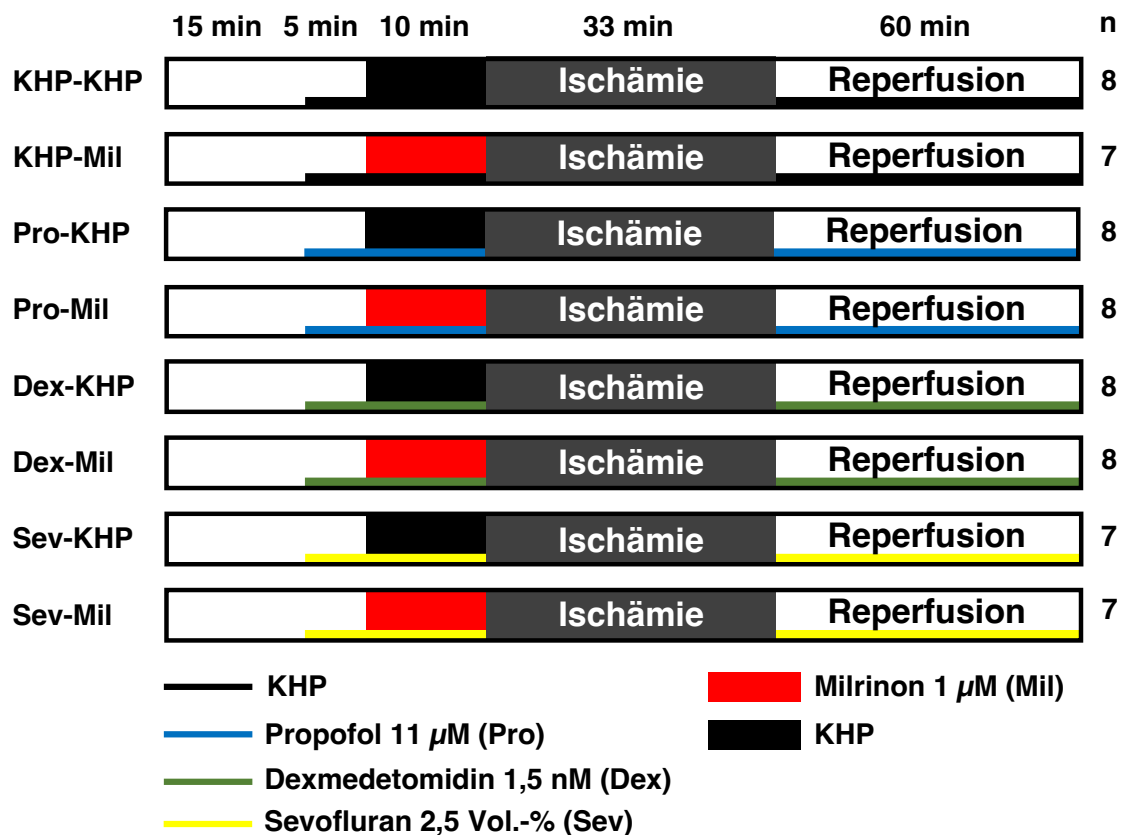


Abb. 8: Versuchsprotokoll zweiter Teilversuch

Dargestellt ist der Ablauf des zweiten Teilversuchs (acht Gruppen mit je n = 7-8). Nach 15 Minuten Eingewöhnungsphase (Baseline) erfolgte über 15 Minuten entweder die Gabe von 11 µM Propofol (Pro), 1,5 nM Dexmedetomidin (Dex), 2,5 Vol.-% Sevofluran (Sev) oder Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) mit 1 % des Koronarflusses. Für die pharmakologische Präkonditionierung wurde fünf Minuten nach Start der Anästhetika- oder Kontrollgabe, über 10 Minuten entweder KHP oder 1 µM Milrinon mit 1 % des Koronarflusses appliziert. Es folgte eine 33-minütige globale Ischämie mit anschließender 60-minütiger Reperusionsphase. Während der Reperusionsphase wurde die Anästhetika- oder KHP-Gabe mit 1 % des Koronarflusses fortgesetzt. Abschließend erfolgten eine Infarktgrößenbestimmung mittels einer Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Färbung und Auswertung der hämodynamischen Variablen. Modifiziert nach (172).

Dex = Dexmedetomidin, KHP = Krebs-Henseleit-Puffer, Mil = Milrinon, min = Minuten,
 n = Anzahl, nM = Nanomolar, Pro = Propofol, Sev = Sevofluran, Vol.-% = Volumenprozent, µM = Mikromolar.

3. Ergebnisse

3.1 Vorversuch

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zur Verifizierung, dass mit dem gewählten Versuchsdesign ein kardioprotektiver Effekt detektiert werden kann, ein Vorversuch durchgeführt. Ziel dieses Vorversuches war es zu zeigen, dass eine messbare Reduktion der Infarktgröße durch eine ischämische Präkonditionierung möglich ist. Hierzu wurden männliche Wistar-Ratten randomisiert in eine Kontrollgruppe (Kon) und eine Interventionsgruppe (IPC) eingeteilt. Die Infarktgröße der Kontrollgruppe betrug $77 \pm 9 \%$, die Infarktgröße der Interventionsgruppe $37 \pm 7 \%$. Abbildung 9 zeigt die Infarktgrößen der beiden Gruppen. Die Reduktion der Infarktgröße in der Interventionsgruppe stellte sich signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe dar ($p < 0,05$ vs. Kon).

Die Ergebnisse des Vorversuchs zeigten, dass mit dem in dieser Arbeit gewählten Versuchsdesign durch eine IPC eine signifikante Reduktion der Infarktgröße um etwa 48 % erreicht werden konnte. Somit war das gewählte Versuchsdesign geeignet, einen kardioprotektiven Effekt nachzuweisen.

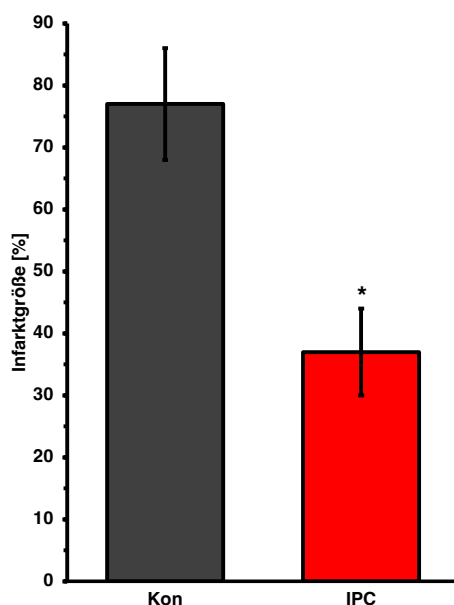


Abb. 9: Infarktgrößen Vorversuch Kontrolle vs. IPC

Die Infarktgrößen der Gruppen sind als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung dargestellt. In jede Gruppe wurden acht Rattenherzen eingeschlossen. ($n = 8$), Student's t-Test, * = ($p < 0,05$ vs. Kon).

Kon = Kontrolle, IPC = ischämische Präkonditionierung, % = Prozent.

3.2 Erster Teilversuch

3.2.1 Infarktgrößen

Die Kontrollgruppe (Kon) wies eine Infarktgröße von $63 \pm 8 \%$ auf (173). Milrinon in einer Konzentration von $0,3 \mu\text{M}$ reduzierte die Infarktgröße signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe auf $49 \pm 6 \%$ ($p < 0,05$ vs. Kon) (173). Die Infarktgrößen aller Versuchsgruppen sind in Abbildung 10 dargestellt. Eine pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon $1 \mu\text{M}$ reduzierte die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe und zur Milrinon $0,3 \mu\text{M}$ Gruppe signifikant auf $32 \pm 6 \%$ ($p < 0,05$ vs. Kon und $p < 0,05$ vs. Mil $0,3 \mu\text{M}$) (173). Auch die höheren Milrinon Konzentrationen von $3 \mu\text{M}$ und $10 \mu\text{M}$ reduzierten die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant ($p < 0,05$ vs. Kon) (173). Die Infarktgröße der Milrinon $3 \mu\text{M}$ Gruppe betrug $32 \pm 6 \%$, dieses Ergebnis stellte sich signifikant im Vergleich mit der Milrinon $0,3 \mu\text{M}$ Gruppe und der Kontrollgruppe dar ($p < 0,05$ vs. Mil $0,3 \mu\text{M}$ und $p < 0,05$ vs. Kon) (173). Die Infarktgröße der Milrinon $10 \mu\text{M}$ Gruppe lag bei $34 \pm 4 \%$, diese Reduktion der Infarktgröße war im Vergleich zu der Milrinon $0,3 \mu\text{M}$ Gruppe und der Kontrollgruppe ebenfalls signifikant ($p < 0,05$ vs. Mil $0,3 \mu\text{M}$ und $p < 0,05$ vs. Kon) (173).

Der infarktgrößenreduzierende Effekt von Milrinon im Rahmen der pharmakologischen Präkonditionierung zeigte eine konzentrationsabhängige Wirkung. Der stärkste Effekt wurde bei einer Konzentration von $1 \mu\text{M}$ Milrinon beobachtet. Die Konzentrationen von $3 \mu\text{M}$ und $10 \mu\text{M}$ Milrinon führten im Vergleich zu $1 \mu\text{M}$ Milrinon nicht zu einer weiteren Reduktion der Infarktgröße (173). Aus diesem Grund wurde für den zweiten Teilversuch die Konzentration von $1 \mu\text{M}$ Milrinon für die weiteren Versuche gewählt.

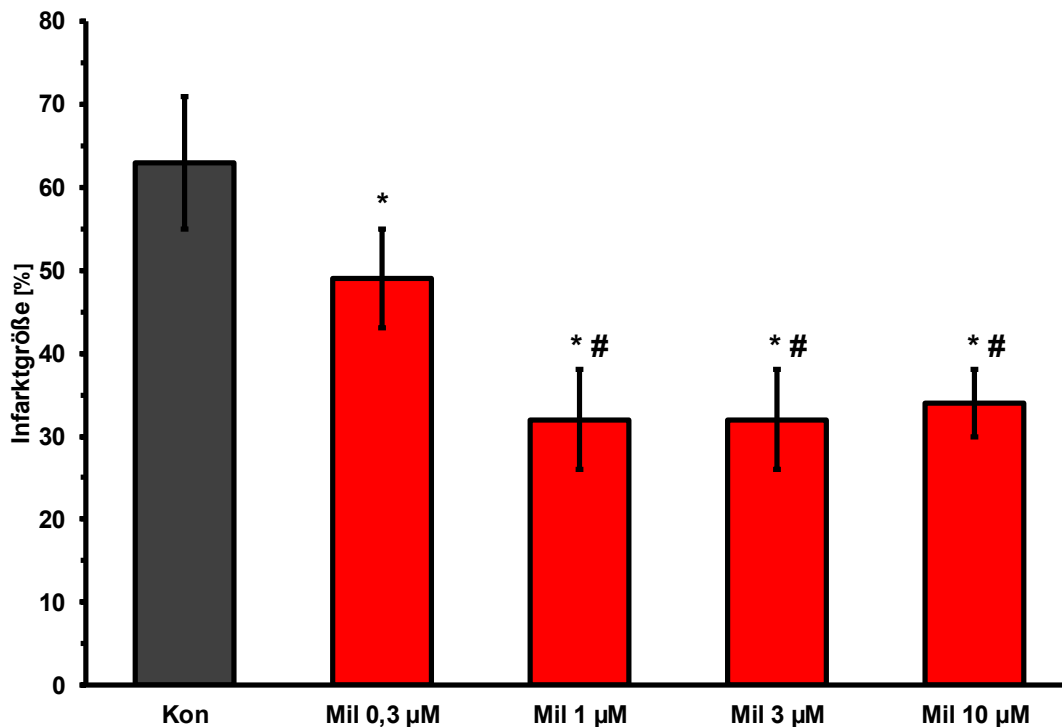


Abb. 10: Infarktgrößen erster Teilversuch

Die Infarktgrößen des ersten Teilversuchs sind als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung dargestellt. Es wurden je Gruppe sieben bis neun Tiere eingeschlossen ($n = 7-9$). Der Kontrollversuch (Kon) wurde mit KHP durchgeführt, die pharmakologische Präkonditionierung erfolgte mittels Milrinon (Mil) in unterschiedlichen Konzentrationen von 0,3 μM , 1 μM , 3 μM und 10 μM . Statistisch wurden die Infarktgrößen mittels einer einfaktoriellen ANOVA und einem anschließenden Tukey-post-hoc-Test analysiert. * = $p < 0,05$ vs. Kontrolle, # = $p < 0,05$ vs. Milrinon 0,3 μM , modifiziert nach (173).

Kon = Kontrolle, Mil = Milrinon, μM = Mikromolar, % = Prozent.

3.2.2 Tierdaten

Zur Sicherstellung der Vergleichbarkeit der Versuchsgruppen wurden das Körpergewicht der Tiere sowie das Herzgewicht (nass und trocken) zwischen den Gruppen analysiert. Die entsprechenden Daten sind in Tabelle 11 dargestellt. Die Tiere der Kontrollgruppe (Kon) wiesen ein Durchschnittsgewicht von 284 ± 22 g auf (173). Das Herznassgewicht betrug in dieser Gruppe $1,27 \pm 0,13$ g, das Herztrockengewicht $0,12 \pm 0,02$ g (173). Zwischen den einzelnen Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede im Hinblick auf das Körper- oder Herzgewicht (173). Auch der Zeitpunkt der maximalen ischämischen Kontraktur von 16 ± 2 min in der Kontrollgruppe war ohne signifikanten Unterschied zu den untersuchten Gruppen mit den Milrinon Konzentrationen 0,3 μM , 1 μM , 3 μM oder 10 μM (173). Ebenso die Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur von

69 ± 25 mmHg der Kontrollgruppe wies keinen signifikanten Unterschied zu den untersuchten Gruppen mit den Milrinon Konzentrationen 0,3 µM, 1 µM, 3 µM, 10 µM auf (173).

Insgesamt unterschieden sich die Versuchsgruppen weder in Bezug auf die Körper- und Herzgewichte noch im Hinblick auf den Zeitpunkt und die Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur.

Tabelle 11: Tierdaten erster Teilversuch

Die Tabelle zeigt das Körpergewicht der Ratten, das Herzgewicht nass direkt nach der Entnahme, sowie das Gewicht der Herzen nach einer sieben-tägigen Trocknungsphase. Erfasst wurden Zeitpunkt und Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur während der ischämischen Phase. Die Daten der einzelnen Gruppen unterschieden sich untereinander nicht signifikant ($p > 0,05$, die Statistikauswertung erfolgte mittels einer einfaktoriellen ANOVA und einem Tukey-post-hoc-Test). Alle Daten wurden als Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben (173). Tabelle modifiziert nach (173).

g = Gramm, Kon = Kontrolle; Mil = Milrinon in jeweiliger Konzentration in µM, min = Minute, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, n = Anzahl, µM = Mikromolar.

Gruppe	Gewicht Tiere (g)	Herzgewicht nass (g)	Herzgewicht trocken (g)	Maximale ischämische Kontraktur (min)	Maximale ischämische Kontraktur (mmHg)	n
Kon	284 ± 22	1,27 ± 0,13	0,12 ± 0,02	16 ± 2	69 ± 25	9
Mil 0,3 µM	287 ± 14	1,37 ± 0,07	0,13 ± 0,01	16 ± 2	58 ± 12	9
Mil 1 µM	285 ± 20	1,33 ± 0,11	0,13 ± 0,01	17 ± 2	55 ± 12	7
Mil 3 µM	278 ± 18	1,36 ± 0,19	0,13 ± 0,02	18 ± 4	74 ± 22	7
Mil 10 µM	286 ± 28	1,33 ± 0,20	0,14 ± 0,01	17 ± 3	60 ± 18	7

3.2.3 Hämodynamische Variablen

Die hämodynamischen Variablen, darunter die Herzfrequenz, der entwickelte linksventrikuläre Druck (LVDP) und der Koronarfluss wurden zu den Zeitpunkten der Eingewöhnungsphase in Minute 15 (Baseline), während der pharmakologischen Präkonditionierung in Minute 25 und in Minute 30 und 60 während der Reperfusionsphase ausgewertet und in Tabelle 12 zusammengefasst (173).

3.2.3.1 Herzfrequenz

In der Kontrollgruppe betrug die Herzfrequenz in der Eingewöhnungsphase (Baseline) 311 ± 37 bpm und während der Präkonditionierungsphase 302 ± 30 bpm (173). Die Herzfrequenzen zu diesen beiden Zeitpunkten unterschieden sich zwischen den einzelnen Gruppen nicht signifikant voneinander (173). In allen Gruppen nahm die Herzfrequenz nach der Ischämie im Vergleich zur Baseline ab (173). Statistisch signifikant zeigte sich diese Abnahme jedoch nur in der Kontrollgruppe (Kon) während der Reperfusion in Minute 30 (244 ± 46 bpm) und Minute 60 (248 ± 34 bpm) im Vergleich zur Baseline ($p < 0,05$ vs. Baseline) (173). In einem Vergleich unter allen untersuchten Gruppen konnte kein Unterschied der Herzfrequenz zu den einzelnen Zeitpunkten festgestellt werden (173).

Zusammenfassend traten signifikante Veränderungen der Herzfrequenz im Vergleich zur Baseline nur in der Kontrollgruppe auf.

3.2.3.2 Entwickelter linksventrikulärer Druck

Der entwickelte linksventrikuläre Druck (LVDP = Differenz aus LVPmax und LVPmin) betrug in der Kontrollgruppe während der Eingewöhnungsphase (Baseline) 117 ± 20 mmHg (173) und während der Präkonditionierungsphase 125 ± 23 mmHg (173). Die LVDP-Werte unterschieden sich zwischen den einzelnen Gruppen nicht signifikant. In der Reperfusion kam es in der Kontrollgruppe zu beiden Messzeitpunkten zu einer signifikanten Reduktion des LVDP auf 26 ± 12 mmHg (Minute 30) und 27 ± 12 mmHg (Minute 60) im Vergleich zur Baseline ($p < 0,05$ vs. Baseline) (173). In allen für die Studie verwendeten Milrinon Konzentrationen ($0,3 \mu\text{M}$, $1 \mu\text{M}$, $3 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{M}$) kam es in der Reperfusion zu einem signifikanten Abfall des LVDP im Vergleich zur Baseline ($p < 0,05$ vs. Baseline) (173). In der Milrinon $1 \mu\text{M}$ Gruppe betrug der LVDP beispielsweise zu Beginn der Versuche während der Baseline 137 ± 9 mmHg und blieb während der Präkonditionierung unverändert bei 138 ± 12 mmHg (173). In der Reperfusion fiel der LVDP unter $1 \mu\text{M}$ Milrinon-Präkonditionierung auf 17 ± 5 mmHg während Minute 30 und stieg dann auf 29 ± 5 mmHg in der Minute 60 der Reperfusion (173). In einem Vergleich

unter allen Gruppen konnte kein Unterschied des LVDPs zu den einzelnen Zeitpunkten festgestellt werden (173).

Insgesamt zeigte sich in allen Gruppen ein signifikanter LVDP-Abfall während der Reperfusionsphase im Vergleich zur Baseline. Zwischen der Kontrollgruppe und den einzelnen getesteten Milrinon Konzentrationen ergab sich zu keinem Messzeitpunkt ein Unterschied.

3.2.3.3 Koronarfluss

Der Koronarfluss betrug in der Kontrollgruppe (Kon) während der Eingewöhnungsphase (Baseline) 13 ± 3 ml/min. In der Kontrollgruppe reduzierte sich der Koronarfluss in der Reperfusionsphase bei Minute 30 auf 7 ± 2 ml/min, um dann bei Minute 60 der Reperfusion auf 6 ± 1 ml/min abzufallen (173). Insgesamt zeigte sich eine signifikante Reduktion des Koronarflusses (CF) in allen Gruppen im Anschluss an die Ischämie im Vergleich zu dem Koronarfluss während der Baseline ($p < 0,05$ vs. Baseline) (173). In der Interventionsgruppe Milrinon $0,3 \mu\text{M}$ zeigte sich sowohl in der Eingewöhnungsphase (Baseline) ein Koronarfluss von 17 ± 2 ml/min, als auch während der Präkonditionierung ein Koronarfluss von 17 ± 2 ml/min und damit eine signifikante Abweichung zur Kontrollgruppe mit einem Koronarfluss von 13 ± 3 ml/min, beziehungsweise 13 ± 2 ml/min in der Präkonditionierung ($p < 0,05$ vs. Kontrolle) (173). In der Gruppe Milrinon $10 \mu\text{M}$ betrug der Koronarfluss zum Zeitpunkt der Präkonditionierung 16 ± 2 ml/min (173). Dieser Wert unterschied sich signifikant zur Kontrollgruppe mit einem Wert von 13 ± 2 ml/min ($p < 0,05$ vs. Kontrolle) (173). In einem Vergleich unter allen untersuchten Gruppen gab es keinen Unterschied in Bezug auf den Koronarfluss zu den einzelnen Zeitpunkten (173).

Zusammenfassend zeigte sich in allen Gruppen im Anschluss an die Ischämie eine signifikante Reduktion des Koronarflusses während der Reperfusionsphase im Vergleich zur Baseline.

Tabelle 12: Hämodynamische Variablen erster Teilversuch

Die Tabelle zeigt die Herzfrequenz in bpm, den entwickelten linksventrikulären Druck (LVDP in mmHg) und den Koronarfluss in ml/min zu den verschiedenen Zeitpunkten. Die Auswertung der Baseline erfolgte nach 15 Minuten, die der Präkonditionierung nach 25 Minuten und die der Reperfusion nach 30 sowie nach 60 Minuten in der Reperfusionphase. Alle Daten wurden als Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung angegeben. * $p < 0.05$ vs. Baseline, ° $p < 0.05$ vs. Kontrolle, die Statistikauswertung erfolgte mittels einer zweifaktoriellen ANOVA und einem Tukey post-hoc Test. Tabelle modifiziert nach (173).

bpm = *beats per minute*, Kon = Kontrolle, LVDP = entwickelter linksventrikulärer Druck, Mil = Milrinon in jeweiliger Konzentration in μM , min = Minute, ml = Milliliter, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, μM = Mikromolar.

Gruppe	Zeitpunkt			
	Baseline	Präkonditionierung	Reperfusion (min)	
			30	60
Herzfrequenz (bpm)				
Kon	311 ± 37	302 ± 30	244 ± 46*	248 ± 34*
Mil 0,3 µM	313 ± 27	316 ± 32	262 ± 54	285 ± 47
Mil 1 µM	301 ± 21	282 ± 36	252 ± 36	232 ± 68
Mil 3 µM	315 ± 32	344 ± 38	231 ± 78	275 ± 72
Mil 10 µM	325 ± 61	328 ± 45	258 ± 43	263 ± 40
entwickelter linksventrikulärer Druck (LVDP) (mmHg)				
Kon	117 ± 20	125 ± 23	26 ± 12*	27 ± 12*
Mil 0,3 µM	123 ± 16	123 ± 15	24 ± 11*	22 ± 7*
Mil 1 µM	137 ± 9	138 ± 12	17 ± 5*	29 ± 5*
Mil 3 µM	129 ± 21	131 ± 19	31 ± 11*	36 ± 8*
Mil 10 µM	118 ± 21	130 ± 28	22 ± 14*	25 ± 12*
Koronarfluss (ml/min)				
Kon	13 ± 3	13 ± 2	7 ± 2*	6 ± 1*
Mil 0,3 µM	17 ± 2°	17 ± 2°	9 ± 2*	7 ± 2*
Mil 1 µM	14 ± 2	14 ± 2	8 ± 1*	6 ± 1*
Mil 3 µM	13 ± 4	15 ± 3	8 ± 1*	7 ± 1*
Mil 10 µM	14 ± 2	16 ± 2°	8 ± 1*	7 ± 1*

3.3 Zweiter Teilversuch

3.3.1 Infarktgrößen

Die Kontrollgruppe (KHP-KHP) wies eine Infarktgröße von $53 \pm 9 \%$ auf (172). Die pharmakologische Präkonditionierung mit $1 \mu\text{M}$ Milrinon (KHP-Mil) reduzierte die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant auf $35 \pm 5 \%$ ($p < 0,05$ vs. KHP-KHP) (172). Die Gabe von $11 \mu\text{M}$ Propofol in der Kontrollgruppe (Pro-KHP) führte zu einer Infarktgröße von $56 \pm 9 \%$. Die Kombination aus $11 \mu\text{M}$ Propofol und $1 \mu\text{M}$ Milrinon zur Präkonditionierung (Pro-Mil) reduzierte die Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe mit $52 \pm 8 \%$ nicht ($p > 0,05$ vs. Pro-KHP) (172). Die Infarktgröße der Sevofluran-Kontrollgruppe (Sev-KHP) bei einer Konzentration von 2,5 Vol.-% Sevofluran betrug $56 \pm 8 \%$ (172). Die Kombination von 2,5 Vol.-% Sevofluran und $1 \mu\text{M}$ Milrinon zur Präkonditionierung (Sev-Mil) reduzierte die Infarktgröße signifikant auf $31 \pm 9 \%$ im Vergleich zur Sevofluran-Kontrollgruppe ($p < 0,05$ vs. Sev-KHP) (172). Auch die alleinige Gabe von $1,5 \text{ nM}$ Dexmedetomidin in Kombination mit KHP als Kontrollgruppe (Dex-KHP) lag mit einer Infarktgröße von $53 \pm 9 \%$ in der Größenordnung der anderen Kontrollgruppen (172). Die Gabe von $1,5 \text{ nM}$ Dexmedetomidin konnte in Kombination mit $1 \mu\text{M}$ Milrinon (Dex-Mil) die Infarktgröße ($51 \pm 8 \%$) im Vergleich zur Kontrollgruppe ($53 \pm 9 \%$) nicht reduzieren ($p > 0,05$ vs. Dex-KHP) (172). Die Infarktgrößen der einzelnen Gruppen wurden in Abbildung 11 dargestellt.

Zusammenfassend zeigte sich, dass weder $11 \mu\text{M}$ Propofol noch $1,5 \text{ nM}$ Dexmedetomidin bei alleiniger Gabe oder in Kombination mit $1 \mu\text{M}$ Milrinon die Infarktgröße reduzieren konnten. Auch eine alleinige Verabreichung von 2,5 Vol.-% Sevofluran hatte keinen infarktgrößenreduzierenden Effekt. Nur die Kombination aus KHP und $1 \mu\text{M}$ Milrinon sowie eine pharmakologische Präkonditionierung mit $1 \mu\text{M}$ Milrinon bei gleichzeitiger Gabe von 2,5 Vol.-% Sevofluran konnten die Infarktgröße reduzieren.

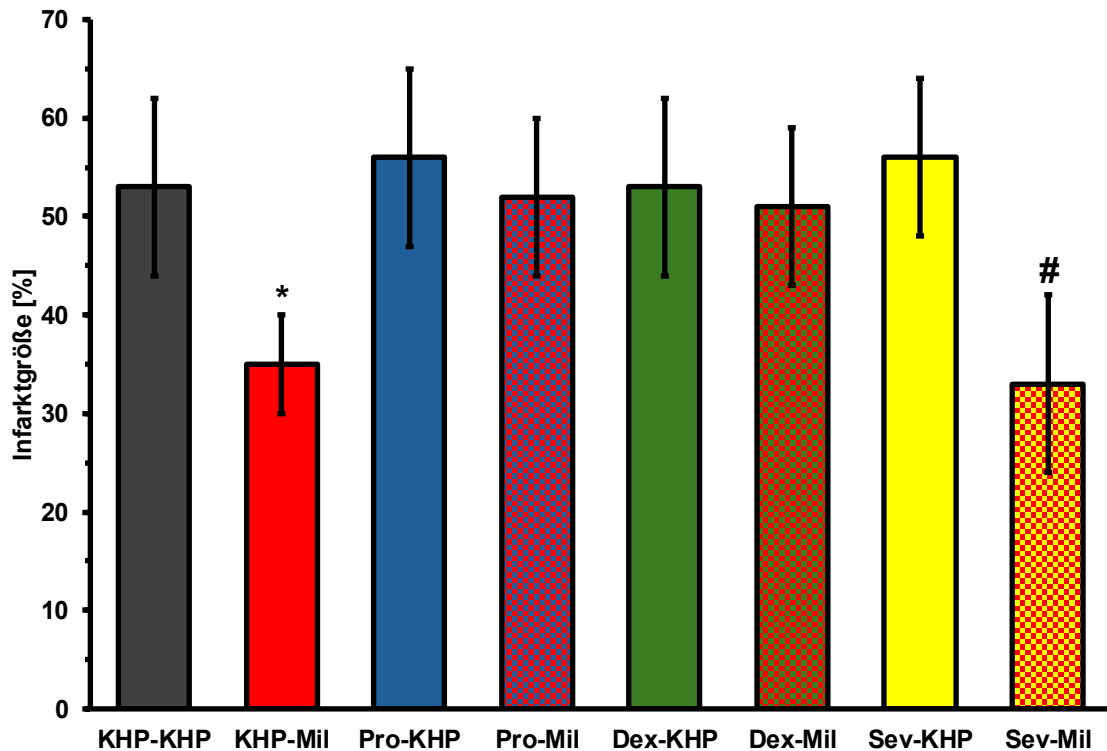


Abb. 11: Infarktgrößen zweiter Teilversuch

Die Infarktgrößen des zweiten Teilversuchs wurden als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung dargestellt. Jede Gruppe enthielt sieben bis acht eingeschlossene Ratten ($n = 7-8$). Die Kontrollversuche wurden in Kombination mit KHP durchgeführt. Eine statistische Auswertung erfolgte mittels einer einfaktoriellen ANOVA und einem Tukey-Post-hoc-Test. * = ($p < 0,05$ vs. KHP-KHP), # = ($p < 0,05$ vs. Sev-KHP). Modifiziert nach (172).

Dex = 1,5 nM Dexmedetomidin, KHP = Krebs-Henseleit-Puffer, Mil = 1 μ M Milrinon, Pro = 11 μ M Propofol, Sev = 2,5 Vol.-% Sevofluran, % = Prozent.

3.3.2 Tierdaten

Im zweiten Teilversuch wurden zwecks Vergleichbarkeit die Körpergewichte der Tiere und die Gewichte der Herzen (nass und trocken) ausgewertet (172). Die Daten sind in der Tabelle 13 zusammengefasst. Das Durchschnittsgewicht der Tiere in der KHP-Kontrollgruppe (KHP-KHP) betrug 301 ± 10 g (172). Das Herznassgewicht betrug in dieser Gruppe $1,47 \pm 0,12$ g, das Herztrockengewicht $0,14 \pm 0,02$ g (172). Unter allen untersuchten Gruppen gab es keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe in Bezug auf die Körpergewichte und die Herzgewichte (nass und trocken) (172). Auch der Zeitpunkt der maximalen ischämischen Kontraktur von $15:46 \pm 1:42$ min in der Kontrollgruppe wies keinen Unterschied zu den anderen untersuchten Gruppen auf (172).

Ebenso die Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur von 54 ± 7 mmHg der Kontrollgruppe wies keinen Unterschied zu den anderen Gruppen auf (172).

Insgesamt unterschieden sich die Versuchsgruppen weder in Bezug auf die Körper- und Herzgewichte noch im Hinblick auf den Zeitpunkt und die Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur.

Tabelle 13: Tierdaten zweiter Teilversuch

Die Tabelle zeigt das Körpergewicht der Tiere, das Herzgewicht sowohl nass direkt nach der Entnahme als auch nach einer sieben-tägigen Trocknungsphase. Zeitpunkt und Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur sind ebenfalls dargestellt. Alle Daten wurden als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung angegeben. Die Daten der einzelnen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant untereinander ($p > 0,05$ vs. KHP-KHP), die Statistikauswertung erfolgte mittels einer zweifaktoriellen ANOVA und einem Tukey-Post-hoc-Test. Tabelle modifiziert nach (172).

Dex = 1,5 nM Dexmedetomidin, g = Gramm, KHP = Krebs-Henseleit-Puffer, Mil = 1 μ M Milrinon, min = Minute, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, n = Anzahl, Pro = 11 μ M Propofol, Sev = 2,5 Vol.-% Sevofluran, μ M = Mikromolar.

Gruppe		Gewicht Tiere (g)	Herzgewicht nass (g)	Herzgewicht trocken (g)	Maximale ischämische Kontraktur (min)	Maximale ischämische Kontraktur (mmHg)	n
KHP-	KHP	301 $\pm$ 10	1,47 $\pm$ 0,12	0,14 $\pm$ 0,02	15:46 $\pm$ 1:42	54 $\pm$ 7	8
	Mil	299 $\pm$ 23	1,46 $\pm$ 0,11	0,15 $\pm$ 0,01	16:27 $\pm$ 1:18	54 $\pm$ 11	7
Pro-	KHP	286 $\pm$ 17	1,44 $\pm$ 0,11	0,13 $\pm$ 0,02	16:17 $\pm$ 1:05	59 $\pm$ 12	8
	Mil	303 $\pm$ 23	1,46 $\pm$ 0,08	0,16 $\pm$ 0,02	16:00 $\pm$ 1:10	55 $\pm$ 4	8
Dex-	KHP	293 $\pm$ 18	1,42 $\pm$ 0,09	0,14 $\pm$ 0,03	15:21 $\pm$ 2:10	67 $\pm$ 17	8
	Mil	290 $\pm$ 19	1,41 $\pm$ 0,07	0,14 $\pm$ 0,02	16:16 $\pm$ 1:54	55 $\pm$ 9	8
Sev-	KHP	300 $\pm$ 8	1,34 $\pm$ 0,06	0,12 $\pm$ 0,01	14:26 $\pm$ 0:23	82 $\pm$ 13	7
	Mil	298 $\pm$ 19	1,30 $\pm$ 0,06	0,13 $\pm$ 0,01	15:05 $\pm$ 1:53	70 $\pm$ 13	7

3.3.3 Hämodynamische Variablen

Wie bereits im ersten Teilversuch wurden die hämodynamischen Variablen, darunter die Herzfrequenz, der entwickelte linksventrikuläre Druck und der Koronarfluss ausgewertet. Die Auswertung erfolgte zu den identischen Zeitpunkten in der Eingewöhnungsphase (Baseline, Minute 15), während der pharmakologischen Präkonditionierung (Minute 25) und während der Reperfusionsphase (Minute 30 und 60) (172). Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 dargestellt.

3.3.3.1 Herzfrequenz

In der Kontrollgruppe ohne die Gabe von Anästhetika (KHP-KHP) betrug die Herzfrequenz während der Eingewöhnungsphase (Baseline) 333 ± 40 bpm (172) und während der Präkonditionierungsphase 314 ± 42 bpm (172). Die Herzfrequenzen aller untersuchten Gruppen unterschieden sich während der Eingewöhnungsphase (Baseline) und während der Präkonditionierung untereinander nicht (172). Die Herzfrequenz sank in allen Versuchsreihen im Anschluss an die Ischämiephase ab (172). In der Kontrollgruppe lag die Herzfrequenz 30 Minuten nach Beginn der Reperfusion bei 279 ± 92 bpm und nach 60 Minuten bei 275 ± 62 bpm (172). In der Propofol-Kontroll-Gruppe (Pro-KHP) betrug die Herzfrequenz während der Baseline 308 ± 32 bpm und während der Präkonditionierung 294 ± 32 bpm (172). Die Herzfrequenz fiel in der Gruppe Pro-KHP in Minute 30 der Reperfusionsphase auf 183 ± 69 bpm und in Minute 60 auf 180 ± 67 bpm ab (172). Der Herzfrequenzabfall in der Pro-KHP Gruppe zu den beiden Messzeitpunkten in Minute 30 und 60 in der Reperfusionsphase war signifikant im Vergleich zu der Baseline ($p < 0,05$ vs. Baseline) (172). In einem Vergleich unter allen untersuchten Gruppen konnte kein Unterschied der Herzfrequenz zu den einzelnen Zeitpunkten festgestellt werden (172).

Zusammenfassend zeigte sich die Herzfrequenz in allen Gruppen während der Baseline und der Präkonditionierung vergleichbar zur Kontrollgruppe und sank nach der Ischämie ab. Allein in der Gruppe Pro-KHP war der Abfall der Herzfrequenz während der Reperfusionsphase signifikant im Vergleich zur Baseline.

3.3.3.2 Entwickelter linksventrikulärer Druck

Der entwickelte linksventrikuläre Druck (LVDP) betrug in der Kontrollgruppe während der Eingewöhnungsphase (Baseline) 117 ± 16 mmHg (172). In der Präkonditionierungsphase stieg der LVDP in der Kontrollgruppe auf 122 ± 10 mmHg (172). Der entwickelte linksventrikuläre Druck war während der Baseline und der Präkonditionierung in allen getesteten Gruppen ohne einen Unterschied im Vergleich zu der Kontrollgruppe (172). In der Reperfusionsphase betrug der LVDP der Kontrollgruppe während der Minute 30 17 ± 8 mmHg und in

der Minute 60 22 ± 7 mmHg (172). Der LVDP reduzierte sich während der Reperfusionsphase signifikant im Vergleich zum LVDP während der Baseline ($p < 0,05$ vs. Baseline) (172). Die Beobachtung, dass der LVDP, während der Reperfusionsphase im Vergleich zur Baseline abfiel galt für alle untersuchten Gruppen (172). In einem Vergleich unter allen Gruppen konnte kein Unterschied in der Höhe des LVDPs zu den einzelnen Zeitpunkten festgestellt werden (172).

Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass der entwickelte linksventrikuläre Druck in allen untersuchten Gruppen einen signifikanten Abfall während der Reperfusionsphase im Vergleich zur Baseline zeigte.

3.3.3.3 Koronarfluss

Der Koronarfluss (CF) in der Kontrollgruppe betrug zum Ende der Eingewöhnungsphase (Baseline) 17 ± 3 ml/min (172). In der Präkonditionierungsphase lag der Koronarfluss bei 15 ± 4 ml/min (172). Sowohl in der Sevofluran-Kontrollgruppe (Sev-Kon) (CF = 14 ± 3 ml/min) als auch in der Sevofluran-Milrinon Gruppe (Sev-Mil) (CF = 18 ± 3 ml/min) wichen die Koronarflüsse während der Präkonditionierungsphase signifikant im Vergleich zur Baseline ab ($p < 0,05$ vs. Baseline) (172). Die weiteren Gruppen wiesen keinen signifikanten Unterschied während der Präkonditionierungsphase im Vergleich zur Baseline auf ($p > 0,05$ vs. Baseline) (172). Der Koronarfluss reduzierte sich signifikant bei allen untersuchten Gruppen im Anschluss an die Ischämie während der Reperfusionsphase im Vergleich zur Baseline ($p < 0,05$ vs. Baseline) (172). In der Kontrollgruppe konnte ein Koronarfluss 30 Minuten nach der Ischämie von 10 ± 1 ml/min und nach 60 Minuten von 8 ± 1 ml/min gemessen werden (172). In einem Vergleich unter allen untersuchten Gruppen konnte kein Unterschied in Bezug auf den Koronarfluss zu den einzelnen Zeitpunkten festgestellt werden (172).

Zusammenfassend zeigte sich in allen Gruppen im Anschluss an die Ischämie eine signifikante Reduktion des Koronarflusses während der Reperfusionsphase im Vergleich zur Baseline.

Tabelle 14: Hämodynamische Variablen zweiter Teilversuch

Die Tabelle zeigt die Herzfrequenz (bpm), den entwickelten linksventrikulären Druck (LVDP, mmHg) und den Koronarfluss (ml/min). Die Daten der Baseline wurden nach 15 Minuten, die der Präkonditionierung nach 25 Minuten und die der Reperfusion in Minute 30 und 60 der Reperfusion ausgewertet. Alle Daten wurden als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung dargestellt. * = ($p < 0,05$ vs. Baseline), die Statistikauswertung erfolgte mittels einer zweifaktoriellen ANOVA und einem Tukey-Post-hoc Test. Tabelle modifiziert nach (172).

bpm = *beats per minute*, Dex = 1,5 nM Dexmedetomidin, KHP = Krebs-Henseleit-Puffer, LVDP = entwickelter linksventrikulärer Druck, Mil = 1 μ M Milrinon, min = Minute, ml = Milliliter, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, Pro = 11 μ M Propofol, Sev = 2,5 Vol.-% Sevofluran.

Gruppe		Zeitpunkt			
		Baseline	Präkonditionierung	Reperfusion (min)	
				30	60
Herzfrequenz (bpm)					
KHP	KHP	333 ± 40	314 ± 42	279 ± 92	275 ± 62
	Mil	327 ± 48	347 ± 44	242 ± 61	275 ± 43
Pro	KHP	308 ± 32	294 ± 32	183 ± 69*	180 ± 67*
	Mil	313 ± 30	293 ± 27	237 ± 46	212 ± 54
Dex	KHP	308 ± 27	286 ± 15	248 ± 53	247 ± 28
	Mil	318 ± 43	309 ± 39	257 ± 46	264 ± 26
Sev	KHP	296 ± 23	271 ± 28	246 ± 20	215 ± 45
	Mil	345 ± 38	367 ± 32	221 ± 60	266 ± 63
entwickelter linksventrikulärer Druck (LVDP) (mmHg)					
KHP	KHP	117 ± 16	122 ± 10	17 ± 8*	22 ± 7*
	Mil	130 ± 16	115 ± 13	15 ± 5*	19 ± 6*
Pro	KHP	132 ± 20	126 ± 20	17 ± 8*	28 ± 14*
	Mil	118 ± 18	119 ± 19	20 ± 4*	31 ± 11*
Dex	KHP	124 ± 16	113 ± 20	21 ± 10*	29 ± 12*
	Mil	123 ± 15	125 ± 17	27 ± 13*	30 ± 8*
Sev	KHP	144 ± 17	145 ± 23	25 ± 14*	32 ± 10*
	Mil	129 ± 19	143 ± 24	26 ± 13*	39 ± 18*
Koronarfluss (ml/min)					
KHP	KHP	17 ± 3	15 ± 4	10 ± 1*	8 ± 1*
	Mil	18 ± 2	16 ± 2	9 ± 2*	8 ± 2*
Pro	KHP	17 ± 1	16 ± 1	9 ± 1*	7 ± 1*
	Mil	16 ± 2	18 ± 3	10 ± 1*	8 ± 2*
Dex	KHP	16 ± 3	14 ± 4	8 ± 1*	6 ± 1*
	Mil	16 ± 2	14 ± 2	7 ± 3*	7 ± 1*
Sev	KHP	15 ± 3	14 ± 3*	9 ± 2*	7 ± 2*
	Mil	17 ± 3	18 ± 3*	11 ± 4*	9 ± 3*

4. Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ein Vorversuch sowie zwei aufeinander aufbauende Teilversuche durchgeführt. Für alle Versuche wurden isolierte Rattenherzen *ex vivo* in einem Langendorff-Modell untersucht.

Der Vorversuch diente der Verifizierung der Nachweisbarkeit eines kardioprotektiven Effekts unter Anwendung des geplanten Versuchsdesigns im Langendorff-Modell. Die Ergebnisse des Vorversuchs zeigten eine signifikante und reproduzierbare Reduktion der Infarktgröße um 48 % durch eine ischämische Präkonditionierung im Vergleich zu einer Kontrollgruppe. Aufgrund der Beobachtungen des Vorversuchs wurde das Langendorff-Modell für die beiden weiteren Teilversuche dieser Arbeit als geeignet befunden.

Im ersten Versuchsteil wurde untersucht, ob 1. eine pharmakologische Präkonditionierung mit dem PDE-III-Hemmer Milrinon einen kardioprotektiven Effekt aufweist und 2. bei welcher minimalen Konzentration dieser Effekt am größten ist. Zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Arbeit war, soweit bekannt, diese Fragestellung noch ungeklärt. Aufbauend auf den Ergebnissen des ersten Teilversuchs wurde anschließend im zweiten Versuchsteil ein möglicher Einfluss der klinisch häufig verwendeten Anästhetika Propofol, Dexmedetomidin oder Sevofluran auf den kardioprotektiven Effekt von Milrinon überprüft.

Im Rahmen des ersten Teilversuchs konnte gezeigt werden, dass der Einsatz von Milrinon im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung an isolierten Rattenherzen einen kardioprotektiven Effekt hat, da Milrinon die Infarktgröße im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant reduzierte (173). Der kardioprotektive Effekt war konzentrationsabhängig, wobei eine Konzentration von 1 μ M Milrinon die niedrigste Konzentration mit der größtmöglichen Infarktgrößenreduktion darstellte. Höhere Milrinon-Konzentrationen führten zu keiner weiteren Infarktgrößenreduktion (173).

Im zweiten Versuchsteil wurde der Einfluss der Anästhetika Propofol, Dexmedetomidin und Sevofluran auf die Infarktgröße unter einer pharmakologischen Präkonditionierung mit 1 μ M Milrinon auf die Infarktgröße

untersucht. Zunächst wurde untersucht, ob die Anästhetika einen Einfluss auf die Infarktgröße haben. Dies konnte ausgeschlossen werden, da die alleinige Verabreichung von 11 μ M Propofol, 1,5 nM Dexmedetomidin oder 2,5 Vol.-% Sevofluran keine Infarktgrößenreduktion an isolierten Rattenherzen im Vergleich zur Kontrollgruppe verursachte (172). Zudem konnte gezeigt werden, dass unter der simultanen Verabreichung von 11 μ M Propofol oder 1,5 nM Dexmedetomidin in Kombination mit 1 μ M Milrinon eine Infarktgrößenreduktion ausblieb und es zu einer Inhibition des kardioprotektiven Effekts von Milrinon kam. Lediglich unter der kombinierten Gabe von 2,5 Vol.-% Sevofluran und 1 μ M Milrinon blieb der kardioprotektive Effekt von Milrinon erhalten. Dies spricht dafür, dass Sevofluran die kardioprotektiven Effekte von Milrinon im Rahmen der pharmakologischen Präkonditionierung an isolierten Rattenherzen nicht inhibiert (172).

4.1 Milrinon-Präkonditionierung

4.1.1 Infarktgröße

Ziel des ersten Teils dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob eine pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon einen protektiven Effekt auf das Myokard unter einem I/R Schaden hat. Als primärer Endpunkt wurde hierfür die Infarktgröße gewählt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit, wurde spezifisch ein möglicher kardioprotektiver Effekt von Milrinon untersucht, da bereits in einer früheren Studie von Behmenburg *et al.* eine pharmakologische Postkonditionierung mit 3 μ M Milrinon einen kardioprotektiven Effekt vor I/R Schaden gezeigt hatte (140). In dieser Arbeit wurde vermutet, dass die protektive Wirkung von Milrinon über eine Aktivierung der PKA- und MAPK-Signalwege vermittelt wird (140).

Die vorliegende Arbeit erweitert diese bisherigen Erkenntnisse um den Nachweis eines kardioprotektiven Effekts von Milrinon im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung. Die Bedeutung eines Effekts durch eine pharmakologische Präkonditionierung wäre von großem Nutzen bei CABG-Operationen. Bei diesen Eingriffen kommt es regelhaft zu einer myokardialen Ischämie- und Reperusionsphase. Eine erfolgreiche pharmakologische Präkonditionierung könnte einen so entstehenden I/R-Schaden reduzieren. In

den durchgeführten Experimenten konnte gezeigt werden, dass 1 μM Milrinon im Vergleich zu Kontrollherzen (KHP-KHP) die Infarktgröße an isolierten Rattenherzen signifikant um etwa 50 % reduzieren konnte. Hervorzuheben ist, dass der protektive Effekt im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung von Milrinon bereits in einer dreifach niedrigeren Konzentration als in der Studie von Behmenburg *et al.* zu beobachten war (173). Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Konzentration von 1 μM Milrinon (entsprechen 211 ng/ml) liegt im Bereich einer klinisch erreichbaren Steady-State-Plasmakonzentration von etwa 200 ng/ml, die unter einer Dauerinfusion von 0,5 $\mu\text{g/kg/min}$ Milrinon über 6–12 Stunden erzielt werden kann (175). Somit ist die verwendete Konzentration von 1 μM Milrinon als klinisch relevant einzustufen. Eine niedrigere Konzentration von 0,3 μM Milrinon führte lediglich zu einer Infarktgrößenreduktion von 22 % im Vergleich zur Kontrollgruppe (173). Mit steigenden Konzentrationen von 3 μM und 10 μM Milrinon war keine weitere Reduktion der Infarktgröße im Vergleich zu 1 μM Milrinon detektierbar (173). Dieses Ergebnis deutet auf einen konzentrationsabhängigen Sättigungseffekt (*Ceiling*-Effekt) von Milrinon hin. Ein solcher *Ceiling*-Effekt von Milrinon konnte bereits in einer Studie an pädiatrischen Patienten, die sich einer kongenitalen Herzoperation unterziehen mussten, beobachtet werden. In dieser Studie wurden die cAMP-Spiegel unter verschiedenen Milrinon-Konzentrationen gemessen, wobei unter einer steigenden Milrinon-Konzentration kein weiterer Anstieg des gemessenen cAMP-Spiegels beobachtet werden konnte. Die Autoren schlossen daher auf einen konzentrationsabhängigen Sättigungseffekt von Milrinon (176). Auch der protektive Nutzen von Milrinon während einer CABG-Operation bei Erwachsenen wurde bereits in Studien untersucht. Ren *et al.* zeigten in einer Meta-Analyse, dass eine Behandlung mit Milrinon eine myokardiale Ischämie bei Patienten, die sich einer CABG-Operation unterzogen, vermindern konnte. Als Indikatoren für den protektiven Effekt von Milrinon wurden niedrigere Plasmaspiegel für die Kreatinkinase (CK) und deren Isoenzym MB (*muscle brain type*, CK-MB) im Vergleich zu Patienten, die kein Milrinon erhielten, benannt (177). Möllhoff *et al.* konnten ebenfalls einen kardioprotektiven Effekt von Milrinon während einer CABG-Operation bei Erwachsenen zeigen. In dieser Studie wurde Milrinon den Patienten kontinuierlich mit einer Konzentration von 0,375 $\mu\text{g/kg/min}$ verabreicht und mit Nifedipin behandelten Patienten verglichen. Unter den mit

Milrinon behandelten Patienten zeigten sich niedrigere Spiegel von CK-MB und Troponin sowie weniger EKG-Veränderungen (178). Die Autoren der beiden Studien schlossen aufgrund der niedrigeren Labormarker unter einer Milrinon Verabreichung auf einen kardioprotektiven Effekt von Milrinon.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass Milrinon die Infarktgröße an isolierten Rattenherzen konzentrationsabhängig reduzieren kann. Die maximale Reduktion der Infarktgröße wurde bei einer Konzentration von 1 μ M Milrinon erreicht. Da im Rahmen einer CABG-Operation eine Anästhesie erforderlich ist, ergab sich für den zweiten Teil dieser Arbeit die Fragestellung, ob die gezeigte kardioprotektive Wirkung von 1 μ M Milrinon unter der gleichzeitigen Verabreichung der Anästhetika Propofol, Dexmedetomidin oder Sevofluran erhalten bleibt.

4.1.2 Hämodynamische Variablen

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich, dass die hämodynamischen Variablen in allen untersuchten Gruppen nach der Ischämie abnahmen. Die Herzfrequenz verringerte sich nach der Ischämie um etwa 20 % (173). Darüber hinaus nahm sowohl der entwickelte linksventrikuläre Druck (LVDP) als auch der gemessene Koronarfluss in allen Gruppen während der Reperfusionsphase ab (173). Trotz einer Steigerung der Milrinon-Konzentration bis zu 10 μ M zeigten die hämodynamischen Variablen unter den verschiedenen Gruppen keinen Unterschied zur Kontrollgruppe. Die pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon konnte zwar die Infarktgröße erfolgreich senken, führte aber in vorliegender Arbeit nicht zu einer Veränderung der hämodynamischen Variablen. Ein höherer LVDP unter Milrinon wäre aufgrund der geringeren Infarktgröße im Vorfeld der Studie erwartbar gewesen, konnte jedoch nicht gezeigt werden. Die Diskrepanz zwischen der Infarktgrößenreduktion und der fehlenden Veränderung der Hämodynamik könnte darauf hindeuten, dass Milrinon seinen kardioprotektiven Effekt nicht über eine Steigerung der Herzleistung ausübt, sondern primär über zelluläre Effekte protektiv wirken kann.

Auch Huang *et al.* konnten in einem *in-vivo*-Experiment ähnliche Ergebnisse zeigen. Die Autoren untersuchten den Effekt von Milrinon und Esmolol auf

Rattenherzen in einem I/R-Modell. Unter Milrinon konnte eine Infarktgrößenreduktion ohne eine relevante Veränderung der Hämodynamik gezeigt werden (179). Ähnlich zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zeigten Behmenburg *et al.*, dass eine Präkonditionierung mit Milrinon trotz einer Reduktion der Infarktgröße keinen relevanten Einfluss auf die hämodynamischen Variablen hatte (140,173). Auch in der Studie von Behmenburg *et al.* wurde ein Abfall der Herzfrequenz, des LVDP und des Koronarflusses im Anschluss an die Ischämie beobachtet (140). Die beiden Studien und die hier vorliegenden Arbeit zeigen ähnliche Ergebnisse der hämodynamischen Variablen, was die Vermutung zulässt, dass Milrinon seine protektiven Effekte unabhängig von einer Veränderung der Hämodynamik ausübt.

Die in allen Gruppen im Anschluss an die Ischämie beobachtete Reduktion des Koronarflusses ist ein häufig beobachtetes Phänomen. Diese postischämische Hypoperfusion wird als *no-Reflow*-Phänomen bezeichnet, welches erstmals 1974 bei Hunden beschrieben wurde (180). Mechanistisch ist das *no-Reflow*-Phänomen ist unter anderem auf eine Endothelzellschwellung, eine Beschädigung der Kapillarwände und Mikroembolien zurückzuführen. Reffelmann *et al.* konnten bei einem *in-vivo*-Versuch an Rattenherzen zeigen, dass dieses Phänomen über Wochen nach der Ischämie anhalten kann (181). Vor diesem Hintergrund erscheint es plausibel, dass eine Reduktion der Infarktgröße durch Milrinon nicht zwingend mit einer Steigerung des Koronarflusses einhergehen muss.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass eine pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon vermutlich primär über zelluläre Effekte protektiv wirkt, ohne relevante Veränderung der hämodynamischen Variablen zu verursachen. Die Infarktgrößenreduktion ist in der vorliegenden Arbeit nicht mit einer messbaren Verbesserung der Herzleistung einhergehend. Klinisch wäre dies bedeutsam, da Milrinon einen kardioprotektiven Effekt ausüben kann, ohne das Risiko einer hämodynamischen Instabilität zu erhöhen. Dies könnte insbesondere bei einer pharmakologischen Präkonditionierung mit Milrinon vor einer CABG-Operation von Vorteil sein, um stabile Kreislaufverhältnisse zu erhalten. Vor diesem Hintergrund stellt sich die

Frage, inwieweit der protektive Effekt von Milrinon durch die gleichzeitige Gabe der gängigen Anästhetika Propofol, Dexmedetomidin oder Sevofluran beeinflusst wird.

4.2 Milrinon unter dem Einfluss von Propofol

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass 11 μM Propofol die pharmakologische Präkonditionierung mit 1 μM Milrinon vollständig aufhob (172). Soweit bekannt, wurde dieser Effekt erstmals *ex vivo* beobachtet.

Vergleichsstudien hierzu liegen, soweit bekannt, zum aktuellen Zeitpunkt nicht vor. Mechanistisch erscheint eine Inhibition der Milrinon-Präkonditionierung über ROS-eliminierenden Eigenschaften von Propofol plausibel (83). Geringe Mengen an ROS gelten als notwendiger (Start-)Trigger für die kardioprotektiven Signalkaskaden (51). Durch ROS wird unter anderem die Aktivierung des RISK-Signalwegs (PI3K/Akt und p38MAPK) initiiert (51,182). Durch ein Propofol bedingtes ROS-*Scavenging* könnte die Aktivierung der Milrinon induzierten kardioprotektiven Signalkaskaden abgeschwächt und so die Kardioprotektion von Milrinon durch Propofol blockiert worden sein (83). Ergänzend kommt hinzu, dass Propofol eine Öffnung der mitochondrialen Kaliumkanäle (mK_{ATP} und mBK_{Ca} Kanäle) hemmen kann, wodurch die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP zunehmen und so ein größerer myokardialer Schaden resultieren könnte (183). Es ist denkbar, dass diese beiden Mechanismen in der vorliegenden Arbeit dazu beigetragen haben, dass die Kardioprotektion durch Milrinon unter Propofol aufgehoben wurde.

Die in dieser Arbeit verwendete Konzentration von 11 μM Propofol ist eine klinisch relevante Konzentration und entspricht etwa 2 $\mu\text{g/ml}$. Im Vergleich liegt die Konzentration damit in etwa der für Erwachsenen empfohlenen Zielkonzentration (3-6 $\mu\text{g/ml}$) während einer Anästhesie ohne simultane Verabreichung von Opioiden, mit Opioidgabe liegt die Zielkonzentration von Propofol etwas niedriger bei 2,5-4 $\mu\text{g/ml}$ (184).

Die alleinige Verabreichung von 11 μM Propofol führte in der Kontrollgruppe (Pro-KHP) nicht zu einer Reduktion der Infarktgröße (172). Propofol nimmt in der

pharmakologischen Kardioprotektion eine komplexe und widersprüchliche Rolle ein. Obwohl in der vorliegenden Arbeit bei einer Konzentration von 11 μM Propofol keine Infarktgrößenreduktion beobachtet wurde, wird Propofol in der Literatur abhängig vom Versuchsdesign eine kardioprotektive Wirkung zugeschrieben. Tao *et al.* beschrieben in einem *in-vivo*-Experiment an männlichen Wistar-Ratten eine erfolgreiche pharmakologische Präkonditionierung mit Propofol, die zu einer Infarktgrößenreduktion führte. In dem Versuchsaufbau wurde Propofol zweimal über je 10 Minuten vor einer 60-minütigen regionalen Ischämie der linken Koronararterie verabreicht, gefolgt von einer jeweils 5-minütigen Auswaschphase. Im Anschluss an die Ischämie folgte eine 120-minütiger Reperfusionsphase. Die verwendete Propofol Konzentration der Studie betrug 37,5 mg/(kg/h), was je nach *Clearance* etwa 8 μM bis 16 μM Propofol entsprach. (185). Auch Kamada *et al.* konnten durch eine pharmakologische Präkonditionierung mit Propofol an isoliert perfundierten Meerschweinchenherzen in einem Langendorff-Modell eine Infarktgrößenreduktion von ca. 46 % beobachten. Vor einer 25-minütigen globalen Ischämiephase, auf die eine 35-minütige Reperfusionsphase folgte, wurde eine 10-minütige Präkonditionierung mit Propofol durchgeführt. Für die Präkonditionierung verwendeten Kamada *et al.* Propofol Konzentrationen von 25 μM und 50 μM (186). Die Studien von Tao *et al.* und Kamada *et al.* konnten eine Reduktion der Infarktgröße durch eine Präkonditionierung mit Propofol demonstrieren. Beide Studien zeigten jedoch einige Unterschiede in Bezug auf das Versuchsdesign im Vergleich zu der hier vorliegenden Arbeit. In der Studie von Tao *et al.* erfolgte die Verabreichung von Propofol über 20 Minuten, aufgeteilt auf zwei Gaben von jeweils zehn Minuten mit Auswaschphase. In der vorliegenden Arbeit wurde Propofol über einen Zeitraum von 15 Minuten kontinuierlich und ohne Auswaschphasen verabreicht. Damit war die kontinuierliche Gabe von Propofol in der vorliegenden Arbeit 5 Minuten länger als bei Tao *et al.*, deren Gesamtverabreichungszeit von Propofol vor der Ischämie aber insgesamt 5 Minuten länger war (20 statt 15 Minuten). Der wesentliche Unterschied in der hier vorliegenden Arbeit bestand jedoch in der weiteren Verabreichung von Propofol während der Reperfusionsphase und den Verzicht auf eine Auswaschphase. Auch Kamada *et al.* verabreichten Propofol 5 Minuten kürzer und nicht während der Reperfusionsphase. Hervorzuheben ist, dass die

Autoren für die Präkonditionierung deutlich höhere Propofol Konzentrationen von 25 μM und 50 μM verwendeten als in der vorliegenden Arbeit (11 μM Propofol). Vor diesem Hintergrund könnten sowohl die Konzentration als auch die Applikationsdauer von Propofol und die Gabe während der Reperfusionsphase das Ausbleiben einer Infarktgrößenreduktion in der vorliegenden Arbeit erklären. Mehrere tierexperimentelle Studien geben Hinweise auf einen konzentrationsabhängigen kardioprotektiven Effekt von Propofol. Ko *et al.* demonstrierten an isolierten Rattenherzen einen konzentrationsabhängigen kardioprotektiven Effekt von Propofol während einer 10-minütigen Präkonditionierung (187). Sie schlussfolgerten über einen gesteigerten LVDP im Anschluss an die Ischämiephase auf einen kardioprotektiven Effekt von Propofol im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe. Die Studie zeigte, dass der protektive Effekt einer Präkonditionierung mit Propofol nur bei einer Propofol Konzentration von 30 μM und 100 μM beobachtet wurde, eine Konzentration von 10 μM Propofol besaß keinen protektiven Effekt (187). Auch in dieser Studie wurde Propofol nicht während der Reperfusionsphase verabreicht (187). Eine weitere experimentelle Studie mit Propofol wurde an isolierten Rattenherzen von Zaugg *et al.* durchgeführt. Hier wurde mit einer Konzentration von 10 μM Propofol eine 15-minütige Präkonditionierung vor einer 20-minütigen globalen Ischämie mit anschließender 30 Minuten Reperfusionsphase. Analog zu der hier vorliegenden Arbeit verabreichten Zaugg *et al.* Propofol auch während der Reperfusionsphase und zeigten, dass die Konzentration von 10 μM Propofol keine kardioprotektive Wirkung hatte (188). Vor dem Hintergrund der vergleichbaren Propofol-Konzentrationen von Zaugg *et al.* und dieser Arbeit (11 μM vs. 10 μM Propofol) erscheint es möglich, dass die Propofol Konzentration in vorliegender Arbeit unter einer Konzentrationsschwelle lag, die keine Kardioprotektion bewirkt. Diese Vermutung würde auch die Studie von Ko *et al.* stützen, dass kardioprotektive Effekte erst bei höheren Propofol-Konzentrationen von 30 μM und 100 μM detektiert werden können. Zudem gilt zu berücksichtigen, dass das bei dieser Arbeit verwendete *ex-vivo* Verfahren die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Propofol durch die fehlende Albuminbindung oder fehlende humorale Faktoren verändern kann.

Eine Inhibition kardioprotektiver Präkonditionierungsstrategien durch Propofol wurde auch in anderen Studien berichtet. Bunte *et al.* zeigten, dass der kardioprotektive Effekt einer *remote ischemic preconditioning* (RIPC) unter einer Anästhesie mit Propofol verloren ging und auf einer Hemmung der Freisetzung von humoralen Faktoren beruhte (189). Auch klinische Studien untersuchten im Rahmen von herzchirurgischen Eingriffen die Auswirkung einer RIPC-Behandlung unter einer Anästhesie mit Propofol auf verschiedene Endpunkte (80,81). Einer der Endpunkte der Studien bezog sich auf die Inzidenz an postoperativen myokardialen Infarkten. Die RIPHeart-Studie untersuchte Patienten, die sich einer elektiven CABG-Operation unterzogen. Die Patienten erhielten eine total-intravenöse Anästhesie mit Propofol und eine RIPC-Behandlung vor der CABG-Operation. Die RIPC-Behandlung wurde mittels einer Oberarmischämie durch eine Blutdruckmanschette mit vier 5-minütigen Zyklen ausgelöst, denen sich jeweils eine 5-minütige Reperusionsphase anschloss. Die Studie verglich die RIPC behandelten Patienten mit einer Kontrollgruppe, die keine RIPC-Behandlung bekam. Dabei zeigte sich kein Vorteil durch die RIPC-Behandlung hinsichtlich der untersuchten Endpunkte, einschließlich postoperativer myokardialer Infarkte (80). Eine Subanalyse der RIPHeart-Studie deutete darauf hin, dass das Ausbleiben eines Effekts der RIPC-Behandlung möglicherweise auf die Verwendung von Propofol zurückzuführen war, da unter Propofol die Aktivierung kardioprotektiver Signalwege auf molekularer Ebene nicht nachweisbar war (136).

Zusammenfassend zeigte die vorliegende Arbeit, dass 11 μM Propofol den kardioprotektiven Effekt von 1 μM Milrinon in der Präkonditionierung aufhob und eine alleinige Gabe von 11 μM Propofol keinen infarktgrößenreduzierenden Effekt erzielte. Als Ursache der aufgehobenen protektiven Wirkung unter der simultanen Gabe von Milrinon und Propofol könnte ein durch Propofol erfolgtes ROS-Scavenging und eine hemmende Wirkung auf die mitochondrialen Kaliumkanäle plausibel sein. Hierdurch könnten die kardioprotektiven Schutzmechanismen von Milrinon abgeschwächt worden sein. Das Ausbleiben des kardioprotektiven Effekts unter alleiniger Verabreichung von 11 μM Propofol könnte möglicherweise auch auf eine zu geringe Konzentration von Propofol zurückzuführen sein. Weitere Studien sollten den Einfluss von Konzentration,

Verabreichungsdauer und Verabreichungszeitpunkt von Propofol, auch in Kombination mit Milrinon, untersuchen. Ziel wäre es zu klären, ob höhere Konzentrationen von Propofol eine erfolgreiche pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon ermöglichen. Zudem sollten weitere Studien klären, ob sich die kontinuierliche Gabe von Propofol während der Reperusionsphase negativ auf den protektiven Effekt einer pharmakologischen Präkonditionierung mit Milrinon auswirkt. Vor dem Hintergrund der klinischen Relevanz könnten diese Forschungsergebnisse für Patienten von Bedeutung sein, die sich einer Anästhesie und pharmakologischen Präkonditionierung im Rahmen einer CABG-Operation unterziehen müssen. Sollte in der klinischen Praxis eine pharmakologische Präkonditionierung mit Milrinon angewendet werden, so sollte die Kombination von Milrinon und Propofol zum aktuellen Zeitpunkt kritisch hinterfragt werden.

4.3 Milrinon unter dem Einfluss von Dexmedetomidin

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass der infarktgrößenreduzierende Effekt von 1 μ M Milrinon bei einer gleichzeitigen Gabe von 1,5 nM Dexmedetomidin aufgehoben wurde (172). Zum aktuellen Zeitpunkt liegen, soweit bekannt, keine weiteren Vergleichsstudien vor, die die Auswirkung von Dexmedetomidin auf Milrinon untersucht haben. Dies gilt sowohl für die pharmakologische Prä- als auch Postkonditionierung.

Aus theoretischer Perspektive weist Dexmedetomidin grundsätzlich ein kardioprotektives Potenzial auf. In der Literatur werden für Dexmedetomidin unter anderem die Aktivierung des RISK-Signalwegs mit Akt und ERK1/2, der SAFE-Signalweg mit STAT3-Phosphorylierung und die Öffnung von mK_ATP und mBK_Ca-Kanälen beschrieben (161,162,190). Zusätzlich wurde eine Stimulation der eNOS mit NO-Freisetzung sowie eine Proteinkinase G Aktivierung berichtet (161). Diese Mechanismen von Dexmedetomidin könnten zu einer reduzierten Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP führen und somit könne Dexmedetomidin kardioprotektive Effekte vermitteln (191).

Eine Erklärung, warum in der vorliegenden Arbeit der kardioprotektive Effekt von 1 μ M Milrinon unter der gleichzeitigen Gabe von 1,5 nM Dexmedetomidin

aufgehoben wurde, könnte der Wirkmechanismus der beiden Pharmaka erklären. Dexmedetomidin senkt über einen α -2-Rezeptor-Agonismus den intrazellulären cAMP-Spiegel durch eine G_i -Protein-vermittelte Hemmung der Adenylatzyklase (192). Das Ausbleiben des kardioprotektiven Effekts von Milrinon in Kombination mit Dexmedetomidin lässt sich durch den gegenseitigen Wirkmechanismus erklären. Während Milrinon seine kardioprotektive Wirkung über eine cAMP-Erhöhung mit nachfolgender Aktivierung der PKA vermittelt, senkt Dexmedetomidin über eine Hemmung der Adenylatzyklase die erforderliche cAMP-Konzentration. Der reduzierte cAMP-Spiegel verhindert vermutlich die für die Kardioprotektion notwendige Aktivierung der PKA durch Milrinon. Dieser Mechanismus könnte erklären, warum in der vorliegenden Arbeit die pharmakologische Präkonditionierung mit 1 μ M Milrinon durch 1,5 nM Dexmedetomidin aufgehoben wurde.

Die in dieser Arbeit genutzte Konzentration von 1,5 nM Dexmedetomidin ist klinisch relevant, sie entspricht etwa 0,35 ng/ml und liegt damit im Zielbereich einer Plasmakonzentration für eine Sedierung von Erwachsenen (0,2 ng/ml – 0,3 ng/ml) (193).

In den weiteren Versuchsreihen konnte gezeigt werden, dass durch eine alleinige Gabe von 1,5 nM Dexmedetomidin keine Reduktion der Infarktgröße möglich war (172). Mehrere tierexperimentelle *in-vivo* und *ex-vivo*-Studien zeigen allerdings kardioprotektive und/oder infarktgrößenreduzierende Eigenschaften in Ischämie-Reperusionsversuchen bei alleiniger Gabe von Dexmedetomidin (194,195). Behmenburg *et al.* führten eine pharmakologische Präkonditionierung mit Dexmedetomidin an isolierten Rattenherzen in einem I/R-Versuchsmodell durch. Für die pharmakologische Präkonditionierung verabreichten die Autoren Dexmedetomidin in einer Konzentration von 1 nM über 5 Minuten. Unter diesem Versuchsdesign konnten die Autoren eine Infarktgrößenreduktion um etwa 15 % zeigen. Höhere Konzentrationen bis zu 10 nM Dexmedetomidin konnten die Infarktgröße in dieser Studie noch weiter reduzieren (ca. 24 %) (195). In vorliegender Arbeit konnte eine Infarktgrößenreduktion in der Kontrollgruppe Dex-KHP unter alleiniger Gabe von Dexmedetomidin trotz einer zu Behmenburg *et al.* ähnlich hohen Dexmedetomidin Konzentration von 1,5 nM nicht

reproduziert werden. Möglicherweise könnte die Applikationsdauer von Dexmedetomidin einen Einfluss auf das Ausbleiben eines kardioprotektiven Effekts in der vorliegenden Arbeit gehabt haben. Behmenburg *et al.* verabreichten Dexmedetomidin lediglich über einen Zeitraum von fünf Minuten, was einer Verkürzung von zehn Minuten im Vergleich zur vorliegenden Arbeit entsprach, und führten zusätzlich eine Auswaschphase von Dexmedetomidin vor der Ischämie durch (195). Außerdem erfolgte bei der Studie von Behmenburg *et al.* keine Gabe während der Reperfusionsphase. Aufgrund der kürzeren Verabreichungsdauer, der Auswaschphase sowie des Fehlens einer dauerhaften Dexmedetomidin Gabe während der Reperfusion unterscheidet sich das Studienprotokoll von Behmenburg *et al.* wesentlich von dem der hier vorliegenden Arbeit. Die Ergebnisse sind daher nur eingeschränkt vergleichbar. In der Literatur existieren abweichende Aussagen bezüglich des optimalen Zeitpunktes und des Zeitraums einer Dexmedetomidin Verabreichung. Bunte *et al.* untersuchten eine Dexmedetomidin Postkonditionierung in einem I/R-Versuchsmodell an isolierten Rattenherzen (196). Es konnte gezeigt werden, dass eine Postkonditionierung mit Dexmedetomidin konzentrationsabhängig war und 3 μ M Dexmedetomidin eine Infarktgrößenreduktion auf ca. 24 % im Vergleich zu einer Kontrollgruppe bewirken konnte. In einem zweiten Teil der Studie wurden verschiedene Verabreichungszeitpunkte und -Zeiträume von Dexmedetomidin während der Reperfusionsphase überprüft. Weder die Dauer der Verabreichung noch der Zeitpunkt der Gabe von Dexmedetomidin hatten in der Studie von Bunte *et al.* einen Einfluss auf die Infarktgröße (196). Analog zu der hier vorliegenden Arbeit wurde in der Studie von Bunte *et al.* Dexmedetomidin während der gesamten Reperfusionsphase verabreicht. Dies deutet darauf hin, dass die Verabreichung während der Reperfusionsphase in der hier vorliegenden Arbeit wahrscheinlich nicht allein für das Ausbleiben einer Infarktgrößenreduktion verantwortlich ist. Da bei Bunte *et al.* jedoch keine Präkonditionierung mit Dexmedetomidin durchgeführt wurde, ist eine direkte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die vorliegende Arbeit nur eingeschränkt möglich. Auf der anderen Seite zeigte eine Studie von Mimuro *et al.* an isolierten Rattenherzen, dass eine Verabreichung von Dexmedetomidin in einer Konzentration von 1 nM als auch 10 nM während der Reperfusionsphase über 25 Minuten die Infarktgröße ansteigen ließ (197). Dies unterstützt die Annahme, dass die in

dieser Arbeit genutzte Konzentration von 1,5 nM Dexmedetomidin in einem Bereich liegen könnte, in welchem keine Infarktgrößenreduktion möglich ist. Es erscheint plausibel, dass der aufgehobene kardioprotektive Effekt von Milrinon in Kombination mit Dexmedetomidin teilweise auch auf eine direkte Wirkung von Dexmedetomidin zurückzuführen sein könnte.

Die in der vorliegenden Arbeit angewandten Verabreichungszeitpunkte und die Verabreichungsdauer von Dexmedetomidin (15 Minuten vor Ischämie und während der gesamten Reperfusionphase) weichen von den in der Literatur beschriebenen erfolgreichen Kardioprotektionsstudien mit Dexmedetomidin ab. Bislang existieren, soweit bekannt, keine Studien, die einen vergleichbaren Versuchsablauf wie in der vorliegenden Arbeit untersucht haben. Eine direkte Vergleichbarkeit mit den existierenden Studien ist daher nicht gegeben. Der abweichende Verabreichungszeitraum, die abweichende Verabreichungsdauer sowie die Auswaschphasen von Dexmedetomidin vor der Ischämie bieten eine mögliche Erklärung, warum die alleinige Gabe von 1,5 nM Dexmedetomidin in der vorliegenden Arbeit keinen kardioprotektiven Effekt hatte.

Zusammenfassend zeigte die vorliegende Arbeit, dass der kardioprotektive Effekt von 1 µM Milrinon im Rahmen der pharmakologischen Präkonditionierung in der Kombination mit 1,5 nM Dexmedetomidin aufgehoben wurde. Auch die alleinige Gabe von 1,5 nM Dexmedetomidin konnte keine Infarktgrößenreduktion bewirken. Wahrscheinlich beeinflusst Dexmedetomidin den cAMP-abhängigen kardioprotektiven Wirkmechanismus von Milrinon. Die simultane Anwendung von Milrinon und Dexmedetomidin ist in der klinischen Praxis relevant, beispielsweise in der Intensivmedizin zur Behandlung einer akuten Herzinsuffizienz unter Dexmedetomidin Sedierung. Basierend auf den vorliegenden Daten sollte der Einsatz von Milrinon in Kombination mit Dexmedetomidin in diesem Anwendungsbereich kritisch evaluiert werden. Zukünftige Studien sollten die Interaktion von Milrinon und Dexmedetomidin hinsichtlich Konzentration, Verabreichungsdauer und Verabreichungszeitpunkt weiter untersuchen.

4.4 Milrinon unter dem Einfluss von Sevofluran

Der kardioprotektive Effekt einer pharmakologischen Präkonditionierung mit 1 μ M Milrinon wurde durch die simultane Gabe von 2,5 Vol.-% Sevofluran im Rahmen der vorliegenden Ischämie-Reperfusionsstudie nicht aufgehoben (172). Damit war Sevofluran das einzige untersuchte Anästhetikum, welches die Kardioprotektion durch 1 μ M Milrinon nicht negativ beeinflusste. Hierbei handelt es sich, soweit bekannt, um die Erstbeschreibung dieser Wirkung im Tiermodell.

Die bisher beschriebenen kardioprotektiven Mechanismen von Milrinon scheinen durch die gleichzeitige Gabe von Sevofluran nicht beeinträchtigt worden zu sein. Sevofluran übt seine schützende Wirkung auf das Myokard vermutlich über andere Signalwege als Milrinon aus. Sevofluran moduliert ROS-abhängige Signale, aktiviert unter anderem die Proteinkinase C, Anteile der RISK- und SAFE-Signalkaskaden, sowie die eNOS/NO/PKG-Kaskade (198). Milrinon und Sevofluran scheinen unterschiedliche (Start-)Trigger der Kardioprotektion zu nutzen, wirken jedoch synergistisch auf den gemeinsamen Endstrecken der Kardioprotektion auf mitochondrialer Ebene. Hierzu zählen unter anderem die Öffnung mitochondrialer Kaliumkanäle (mK_ATP- und mBK_Ca-Kanäle), die Stabilisierung des mitochondrialen Membranpotentials, die Verringerung eines Calciumioneneinstroms und letztlich eine verringerte Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP (169,199,200). Ein wesentlicher Unterschied zwischen Sevofluran und Milrinon liegt in der Aktivierung der unterschiedlichen Proteinkinasen. Sevofluran wirkt über eine Aktivierung der Proteinkinase C (PKC), PI3K/Akt und eNOS (201), während Milrinon vorwiegend über die Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) kardioprotektiv wirkt. Da sich die Signalwege der PKA und PKC nicht gegenseitig inhibieren und eine ähnliche Endstrecke nutzen, könnte dies erklären, warum der kardioprotektive Effekt unter 1 μ M Milrinon in Kombination mit 2,5 Vol.-% Sevofluran in der vorliegenden Arbeit erhalten blieb.

Die Annahme von unterschiedlichen (Start-)Triggern der Kardioprotektion von Sevofluran und Milrinon konnte auch die Studie von Tosaka *et al.* zeigen. Die Autoren konnten zeigen, dass eine erfolgreiche Präkonditionierung durch Sevofluran abhängig von der Cyclooxygenase-2 (COX-2) war, während eine

erfolgreiche Präkonditionierung durch Olprinon, einen PDE-III-Hemmer der Milrinon ähnelt, unabhängig von der COX-2 vermittelt wurde. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass Sevofluran und Milrinon zwar unterschiedliche Startmechanismen der Kardioprotektion nutzen, diese (Start-)Trigger sich aber nicht gegenseitig inhibieren und beide Pharmaka vermutlich eine gemeinsame Endstrecke der Kardioprotektion nutzen (202).

Auch auf Ebene der MikroRNA (miRNA) finden sich Hinweise, dass Sevofluran und Milrinon gemeinsame Signalwege nutzen. Sevofluran reduziert die Expression der miRNA-1, was zu einer vermehrten Aktivierung von MAPK3 und PI3K/Akt und damit zu einer kardioprotektiven Wirkung führt (203). Da Olprinon ebenfalls Teile des PI3K/Akt-Signalwegs aktiviert und diese Mechanismen vermutlich auch auf Milrinon übertragbar sind (173,204), könnte man vermuten, dass Milrinon und Sevofluran gemeinsam über PI3K/Akt eine Protektion vermitteln und vielleicht sogar so eine Kardioprotektion verstärken könnten (203).

Die in der vorliegenden Arbeit gewählte Konzentration von 2,5 Vol.-% Sevofluran entspricht einer minimalen alveolären Konzentration (MAC) von ca. 1. Der MAC-Wert beschreibt die Wirkstärke eines Inhalationsanästhetikums und die alveoläre Konzentration eines Inhalationsanästhetikums in 100 % Sauerstoff, angegeben in Volumenprozent (Vol.-%), bei denen 50 % aller Patienten eine chirurgische Hautinzision tolerieren. Kashimoto *et al.* ermittelten für 9 Wochen alte Ratten für 1 MAC Sevofluran eine Konzentration von 2,68 Vol.-% $\pm$ 0,19 Vol.-% Sevofluran und für 13 Monate alte Ratten eine Konzentration von 2,29 Vol.-% $\pm$ 0,19 Vol.-% Sevofluran (174). Beim Menschen liegt die Sevofluran Konzentration für 1 MAC im Mittel bei etwa 2,0 Vol.-% Sevofluran und ist unter anderem auch vom Patientenalter abhängig (164). Somit ist die in der vorliegenden Arbeit gewählte Sevofluran Konzentration von 2,5 Vol.-% in einem klinisch relevanten Bereich einzuordnen.

Die alleinige Verabreichung von 2,5 Vol.-% Sevofluran führte in dieser Arbeit nicht zu einer Infarktgrößenreduktion (172). Dieses Ergebnis spiegelt die Beobachtungen einer konzentrations- und zeitabhängigen Kardioprotektion von Sevofluran in der Literatur wider. Obal *et al.* zeigten in einem *in-vivo* I-/R-

Versuchsmodell an Rattenherzen, dass Sevofluran signifikant die Infarktgröße senken konnte. Die Infarktgröße war abhängig von der gewählten Sevofluran Konzentration, wobei eine Infarktgrößenreduktion erst ab 1 MAC detektierbar war und weitere Konzentrationssteigerungen von Sevofluran bis 2 MAC nicht zu einer weiteren Infarktgrößenreduktion führten (199). Qian *et al.* beobachteten in einem isolierten Rattenherz-Modell während eines I/R-Versuchs unter einer 15-minütigen Präkonditionierung mit 2,5 Vol.-% Sevofluran eine Infarktgrößenreduktion um mehr als 50 %. In dieser Studie wurde Sevofluran im Gegensatz zu der hier vorliegenden Arbeit vor der Ischämie für 15 Minuten ausgewaschen und während der Reperfusionsphase nicht weiter verabreicht (205). Auch wenn in beiden Studien ähnliche Konzentrationen von Sevofluran verwendet wurden, bestehen deutliche Unterschiede in der Verabreichungsdauer zu der hier vorliegenden Arbeit. Sevofluran wurde in der hier vorliegenden Arbeit im Gegensatz zu den beiden Studien, mit Ausnahme der Ischämiephase, kontinuierlich bis zum Ende der Reperfusionsphase verabreicht und nicht vor der Ischämie ausgewaschen. Es ist denkbar, dass eine kontinuierliche Verabreichung von Sevofluran über einen längeren Zeitraum nicht in der Lage ist, die Infarktgröße zu reduzieren.

Auch klinisch finden sich Hinweise, dass Sevofluran einen kardioprotektiven Effekt ausüben kann. Es konnte in Studien bei Patienten, die sich einer CABG-Operation unterzogen und mit Sevofluran anstatt mit Propofol anästhesiert wurden, ein kardioprotektiver Effekt unter der Verabreichung von Sevofluran aufgrund geringerer postoperativer Plasmaspiegel für Troponin gezeigt werden (206,207).

Zusammenfassend zeigte die vorliegende Arbeit, dass eine pharmakologische Präkonditionierung mit 1 μ M Milrinon durch die Gabe von 2,5 Vol.-% Sevofluran nicht aufgehoben wurde. Vermutlich wirken Milrinon und Sevofluran auf gemeinsamen Endstrecken der Kardioprotektion. Der ausbleibende kardioprotektive Effekt bei einer alleinigen Verabreichung von 2,5 Vol.-% Sevofluran könnte mit der kontinuierlichen Gabe von Sevofluran in dieser Arbeit erklärbar sein. Klinische Studien zur simultanen Anwendung von Milrinon und Sevofluran im Kontext einer Kardioprotektion liegen, soweit bekannt, aktuell nicht

vor. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass Präkonditionierungsbehandlungen mit Milrinon am ehesten unter einer Anästhesie mit Sevofluran verträglich sind. Da bei CABG-Operationen Ischämie- und Reperfusionsphase planbar sind, erscheint eine Kombination von Milrinon und Sevofluran in diesem Setting geeignet zu sein. Weitere Studien sind erforderlich, um die optimale Konzentration und das ideale Zeitfenster der Verabreichung von Milrinon und Sevofluran zu ermitteln.

4.5 Limitationen

Seit vielen Jahren stellt das Langendorff-Modell ein etabliertes Verfahren zur Durchführung kontrollierter Untersuchungen an isolierten Herzen *ex vivo* dar. Es ermöglicht die Aufzeichnung und Analyse von hämodynamischen Variablen und eine kontrollierte Verabreichung von Medikamenten unter standardisierten Bedingungen ohne einen Einfluss von weiteren Regulationsmechanismen wie beispielsweise Hormonen. Im Fehlen der neurohumoralen Regulation besteht jedoch auch ein Nachteil des Langendorff-Modells. Durch die Isolation des Herzens von dem zentralen Nervensystem sowie dem endokrinen System entfallen alle Steuermechanismen des Körpers auf das Herz. Insbesondere sympathische und parasympathische Einflüsse und die Wirkung von endogenen Katecholaminen wie Adrenalin oder Noradrenalin können im Langendorff-Modell nicht erfasst werden (208). Methodisch bedingt erfolgt die Perfusion des Herzens retrograd über die Aorta unter konstantem Perfusionsdruck. Diese Form der Perfusion weicht von der im Körper bestehenden, pulsierenden Durchblutung der Koronararterien ab und führt zu einer Veränderung der Myokardperfusion. Hierdurch ist die Aussagekraft der erfassten hämodynamischen Variablen nur eingeschränkt möglich (208). Ebenfalls die Präparation der Herzen und das anschließende Platzieren an der Langendorff-Anlage können einen Einfluss auf die Ergebnisse der Versuche haben. Diese Schritte sind fehleranfällig und abhängig von der Erfahrung des Untersuchers. Insbesondere beim Anbringen der Herzen an der Kanüle am Langendorff-Modell könnte durch ein zu tiefes Aufstülpen des Herzens die Aortenklappe durch die Kanüle verletzt werden und dadurch einen retrograden Koronarfluss sowie die Koronarperfusion einschränken. Zur Sicherstellung der Reproduzierbarkeit, des adäquaten

Umgangs mit der Langendorff-Anlage und der korrekten Präparation der Herzen wurden die in den vorherigen Kapiteln beschriebenen Vorversuche durchgeführt. Da in allen Versuchsreihen durchgehend ein kardioprotektiver Effekt nachgewiesen werden konnte, sind diese Fehlerquellen für die Ergebnisinterpretation der beiden Hauptversuchsteile vermutlich ohne Relevanz. Auch die Zeitspanne von Dekapitation bis zum Beginn der Perfusion könnte die Infarktgrößen negativ beeinflusst haben. Die Transferzeit der Herzen von Dekapitation bis Start der retrograden Koronarperfusion lag bei allen Versuchen dieser Arbeit unter drei Minuten und der Transfer erfolgte stets in einer 37°C warmen 0,9 % NaCl-Lösung. Die NaCl-Lösung soll Luftembolien und eine Temperaturbeeinflussung der Herzen verhindern. Dass sich, wie in dieser Arbeit bei allen Versuchen eingehalten, eine Transferzeit der Herzen bis zum Start der Perfusion von maximal drei Minuten bei 37°C Transfertemperatur nicht negativ auf die Infarktgröße auswirkt, konnten Awan *et al.* zeigen (209). Somit ist anzunehmen, dass die Transferzeiten dieser Arbeit keinen Einfluss auf die Ergebnisse der Versuche hatten. Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Reperfusionsdauer von 60 Minuten wurde von Ferrera *et al.* als ausreichend beschrieben, um bei isolierten Rattenherzen mittels einer TTC-Färbung eine Infarktgröße reproduzierbar bestimmen zu können (210).

Für die Ergebnisse dieser Arbeit ist auch die Zusammensetzung des für die Versuche verwendeten KHPs zu berücksichtigen, der einer kristalloiden Lösung entsprach. Als kristalloide Lösung enthält der Puffer weder Erythrozyten noch Plasmaproteine. Hierdurch kommt es zu einer deutlich eingeschränkteren Sauerstofftransportkapazität bzw. Sauerstoffbindung und durch die fehlenden Plasmaproteine könnte die Pharmakokinetik proteingebundener Pharmaka wie Propofol beeinflusst werden. Der durch die fehlenden Plasmaproteine nicht vorhandene onkotische Druck könnte im Versuchsverlauf zusätzlich zu Ödemen der Herzen führen. Dies betraf allerdings alle in der Versuchsreihe ausgewerteten Herzen gleichermaßen und erscheint somit eher vernachlässigbar (211).

Ein potenzieller Einfluss durch die in dieser Arbeit durchgeführte Anästhesie der Tiere mit Pentobarbital vor der Dekapitation ist als vernachlässigbar für die

Versuchsergebnisse anzusehen. Da alle Versuchstiere vor den Versuchen eine identische Menge an Pentobarbital intraperitoneal erhielten, würde sich ein Einfluss durch Pentobarbital auf alle Versuchsherzen dieser Arbeit gleichermaßen auswirken. Ein weiterer zu bedenkender Einflussfaktor ist die Sevoflurankonzentration, die in dieser Arbeit verwendet wurde. Die Konzentrationsbestimmung von Sevofluran erfolgte auf Grundlage eines angenommenen Gas-/Flüssigkeitsgleichgewichts, da die direkte Sevoflurankonzentration im Perfusat nicht erfasst wurde. Es besteht daher die Möglichkeit, dass die verwendete Sevoflurankonzentration nicht exakt 2,5 Vol.-% entsprach. Ebenso enthielten die verschiedenen verwendeten Konzentrationen mit Milrinon zwecks Löslichkeit geringe DMSO-Konzentrationen. Bei einer Verabreichung von 1 % des Koronarflusses betrug die maximale DMSO-Konzentration 0,025 %. Ein pharmakodynamischer Einfluss von DMSO kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, erscheint bei dieser niedrigen Konzentration jedoch unwahrscheinlich. Zudem wurden Versuche mit einer KHP-KHP Kontrollgruppe durchgeführt, die ebenfalls die maximale Konzentration von 0,025 % DMSO enthielt. Diese Kontrollgruppe zeigte keine kardioprotektive Wirkung oder andere Auswirkungen auf die Herzen, sodass ein DMSO Einfluss auf die Ergebnisse unwahrscheinlich erscheint.

Die direkte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen ist insgesamt eingeschränkt. Es bestehen einige physiologische Unterschiede der Herzen, z.B. eine höhere Herzfrequenz bei Ratten, eine unterschiedliche Koronaranatomie oder eine andere Erregungsleitung im Myokard der Rattenherzen (212). Erschwerend kommt hinzu, dass nur männliche, junge und gesunde Ratten in dieser Arbeit verwendet wurden. Dieses Vorgehen führt einerseits zu vergleichbaren Bedingungen, schränkt jedoch die Aussagekraft hinsichtlich der nicht überprüften geschlechts-spezifischen Unterschiede ein. Als weitere einschränkende Faktoren, die in dieser Arbeit nicht berücksichtigt wurden, seien beispielsweise nur altersbedingte und vor allem durch Vorerkrankungen bedingte pathophysiologische Unterschiede zu erwähnen (212).

Zusammenfassend stellt das Langendorff-Modell trotz der Limitationen weiterhin den Goldstandard zur Untersuchung von Herzen bei Ischämie-Reperusions-

Schäden dar. Für zukünftige Studien könnte die Verwendung von Perfusionslösungen mit Erythrozyten und das Einbeziehen von Alter, Geschlecht oder Vorerkrankungen dazu beitragen, die Übertragbarkeit und klinische Einordnung der Ergebnisse weiter zu verbessern.

4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Im ersten Teil dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine pharmakologische Präkonditionierung mit 1 μ M Milrinon im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße führte und somit einen kardioprotektiven Effekt ausübte (173). Dieser protektive Effekt war konzentrationsabhängig. Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde der Einfluss der Anästhetika Propofol, Dexmedetomidin und Sevofluran auf den kardioprotektiven Effekt von Milrinon untersucht. Dabei zeigte sich, dass der kardioprotektive Effekt von 1 μ M Milrinon sowohl durch 11 μ M Propofol als auch 1,5 nM Dexmedetomidin aufgehoben wurde. Ausschließlich die Kombination aus 1 μ M Milrinon und 2,5 Vol.-% Sevofluran führte zu einer signifikanten Infarktgrößenreduktion im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (172).

Die Ursachen der aufgehobenen Kardioprotektion erscheinen multifaktoriell. So könnte ein ROS-Scavenging durch Propofol einen für die Kardioprotektion benötigten ROS-Trigger unterdrückt haben. Für Dexmedetomidin erscheint eine α -2-Rezeptor-vermittelte Reduktion des cAMP-Spiegels mit Inhibierung der PKA plausibel. Milrinon und Sevofluran hingegen scheinen auf mitochondrialer Ebene eine gemeinsame Endstrecke der Kardioprotektion zu nutzen. Indem unter anderem mitochondriale Kaliumkanäle (mK_{ATP} und mBK_{Ca}) aktiviert werden, wird vermutlich die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP reduziert

Zukünftige Studien sollten untersuchen, ob die mPTP tatsächlich den zentralen Endpunkt für die Kardioprotektion mit Milrinon darstellt und ob weitere, bisher unbekannte Signalwege beteiligt sind. Weitergehend sollte untersucht werden, ob die in dieser Arbeit methodisch bedingten nicht untersuchten Einflüsse des Immunsystems oder hormonelle Einflüsse einen Einfluss auf die Kardioprotektion mit Milrinon haben. Darüber hinaus sollte die ambivalente Rolle der ROS (Signaltrigger vs. Schadensverursacher) weiter aufgeklärt werden. Eine

quantitative Erfassung der ROS-Spiegel wäre wünschenswert, um das ambivalente Phänomen der ROS weiter zu untersuchen. Zudem könnte überprüft werden, ob die gemessene Höhe an ROS als eventueller Biomarker im Rahmen einer pharmakologischen Präkonditionierung dienen könnte. Der Einfluss der verschiedenen Anästhetika sollte in folgenden Studien unter standardisierten Bedingungen (Vorerkrankungen, Vormedikation, Alter) weiter untersucht werden, um mögliche Einflussfaktoren (Verabreichungszeitraum, Verabreichungsdauer, Konzentration) bei einer Kombination mit Milrinon zu identifizieren. Im Anschluss würde sich ein *in-vivo* Kleintiermodell anbieten, um eine weitere Übertragbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen. Die anschließende Übertragung der Ergebnisse in die klinische Praxis erfordert die Durchführung von Phase-II-Studien, um die optimale Konzentration sowie das ideale Verabreichungsintervall von Milrinon zu ermitteln. Hierbei sollte explizit auf ein sorgfältig ausgesuchtes und vergleichbares Patientenkollekt (Geschlecht, Vorerkrankungen, Begleitmedikation, Alter) geachtet werden. Auch die Wahl des Anästhesieverfahrens sollte vor dem Hintergrund der Erkenntnisse dieser Arbeit gezielt erfolgen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit könnten sich auf das perioperative Umfeld der CABG-Operationen übertragen lassen. In dem Rahmen einer CABG-Operation sind Ischämie- und Reperfusionsphase durch die Aortenklammung/-lösung zeitlich kontrollierbar und somit erscheint eine pharmakologische Präkonditionierung möglich und sinnvoll. Aus Perspektive dieser Arbeit könnte die Auswahl des Anästhesieverfahrens einen zentralen Punkt für eine erfolgreiche Kardioprotektion mit Milrinon darstellen. Bei einer pharmakologischen Präkonditionierung mit Milrinon zur Kardioprotektion erscheint eine Anästhesie mittels Propofol oder Dexmedetomidin in der prä- und frühen Reperfusionsphase nicht sinnvoll, da beide Anästhetika den kardioprotektiven Effekt von Milrinon in dieser Arbeit aufhoben. Stattdessen könnte ein Anästhesieverfahren mit Sevofluran durchgeführt werden, welches die Kardioprotektion in Kombination mit Milrinon in dieser Arbeit nicht aufhob. Des Weiteren sollten zukünftige Studien klären, über welche Mechanismen die Anästhetika Dexmedetomidin und Propofol die Kardioprotektion von Milrinon inhibieren, um langfristig auch den Einsatz dieser weit verbreiteten Anästhetika

in Kombination mit Milrinon in der klinischen Praxis zu ermöglichen. Dieser Aspekt ist insbesondere für Patienten von Bedeutung, bei denen die Anwendung von Sevofluran kontraindiziert ist.

5. Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Statistisches Bundesamt. Todesursachen 2024: Statistisches Bundesamt [Internet]. 2025 [zitiert 18. Dezember 2025]. Verfügbar unter: https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2025/10/PD25_377_2321_1.html
2. Beckmann A, Meyer R, Eberhardt J, Gummert J, Falk V. German Heart Surgery Report 2024: The Annual Updated Registry of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2025;
3. Pearse RM, Clavien PA, Demartines N, Fleisher LA, Grocott M, Haddow J, u. a. Global patient outcomes after elective surgery: prospective cohort study in 27 low-, middle- and high-income countries. *BJA: British Journal of Anaesthesia*. 1. November 2016;117(5):601.
4. Chiari P, Fellahi JL. Myocardial protection in cardiac surgery: a comprehensive review of current therapies and future cardioprotective strategies. *Front Med (Lausanne)*. 2024;11:1424188.
5. Zöllner C, Böhmer A, Geldner G, Karst J, Obertacke U, Pauschinger M, u. a. Präoperative Evaluation erwachsener Patientinnen und Patienten vor elektiven, nicht herz-thorax-chirurgischen Eingriffen. Eine gemeinsame Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie und der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin. *Anästh Intensivmed*. 2024;65:240–207.
6. Gupta PK, Gupta H, Sundaram A, Kaushik M, Fang X, Miller WJ, u. a. Development and Validation of a Risk Calculator for Prediction of Cardiac Risk After Surgery. *Circulation*. 26. Juli 2011;124(4):381–7.
7. Lee TH, Marcantonio ER, Mangione CM, Thomas EJ, Polanczyk CA, Cook EF, u. a. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery. *Circulation*. 7. September 1999;100(10):1043–9.
8. Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ, Barbato E, Berry C, Chieffo A, u. a. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes: Developed by the task force on the management of acute coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 12. Oktober 2023;44(38):3720–826.
9. Boden WE, De Caterina R, Kaski JC, Bairey Merz N, Berry C, Marzilli M, u. a. Myocardial ischaemic syndromes: a new nomenclature to harmonize evolving international clinical practice guidelines. *Eur Heart J*. 29. September 2024;45(36):3701–6.
10. Pepine CJ. ANOCA/INOCA/MINOCA: Open artery ischemia. *American Heart Journal Plus: Cardiology Research and Practice*. 1. Februar 2023;26:100260.
11. Camici PG, Crea F. Coronary Microvascular Dysfunction. *New England Journal of Medicine*. 22. Februar 2007;356(8):830–40.
12. Belkouché A, Yao H, Putot A, Chagué F, Rochette L, Danchin N, u. a. The Multifaceted Interplay between Atrial Fibrillation and Myocardial Infarction: A Review. *J Clin Med*. 2. Januar 2021;10(2):198.
13. Padda J, Khalid K, Hitawala G, Batra N, Pokhriyal S, Mohan A, u. a. Acute Anemia and Myocardial Infarction. *Cureus*. 11. August 2021;13(8):e17096.
14. Horne R, James D, Petrie K, Weinman J, Vincent R. Patients' interpretation of symptoms as a cause of delay in reaching hospital during acute myocardial infarction. *Heart*. 1. April 2000;83(4):388–93.
15. Yusuf PS, Hawken S, Ôunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, u. a. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet*. 11. September 2004;364(9438):937–52.
16. Tamis-Holland JE, Jneid H, Reynolds HR, Agewall S, Brilakis ES, Brown TM, u. a. Contemporary Diagnosis and Management of Patients With Myocardial Infarction in the Absence of Obstructive Coronary Artery Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 30. April 2019;139(18):E891–908.

17. Kunadian V, Chieffo A, Camici PG, Berry C, Escaned J, Maas AHEM, u. a. An EAPCI Expert Consensus Document on Ischaemia with Non-Obstructive Coronary Arteries in Collaboration with European Society of Cardiology Working Group on Coronary Pathophysiology & Microcirculation Endorsed by Coronary Vasomotor Disorders International Study Group. *Eur Heart J*. 1. Oktober 2020;41(37):3504.
18. Vrints C, Andreotti F, Koskinas KC, Rossello X, Adamo M, Ainslie J, u. a. 2024 ESC Guidelines for the management of chronic coronary syndromes: Developed by the task force for the management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*. 29. September 2024;45(36):3415–537.
19. Chan AW, Kornder J, Elliott H, Brown RI, Dorval JF, Charania J, u. a. Improved survival associated with pre-hospital triage strategy in a large regional ST-segment elevation myocardial infarction program. *JACC Cardiovasc Interv*. Dezember 2012;5(12):1239–46.
20. Scholz KH, Maier SKG, Maier LS, Jacobshagen C, Jung J, Fleischmann C, u. a. Impact of treatment delay on mortality in ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) patients presenting with and without haemodynamic instability: results from the German prospective, multicentre FITT-STEMI trial. *European Heart Journal* (2018) 39, 1065–1074. 2018;(39):1065–74.
21. Onorati F, De Feo M, Mastroroberto P, Cristodoro L, Pezzo F, Renzulli A, u. a. Determinants and prognosis of myocardial damage after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*. 2005;79(3):837–45.
22. Al-Sarraf N, Thalib L, Hughes A, Houlihan M, Tolan M, Young V, u. a. Cross-clamp time is an independent predictor of mortality and morbidity in low- and high-risk cardiac patients. *International Journal of Surgery*. 1. Januar 2011;9(1):104–9.
23. Zhang M, Liu Q, Meng H, Duan H, Liu X, Wu J, u. a. Ischemia-reperfusion injury: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2023 9:1. 8. Januar 2024;9(1):1–39.
24. Deboer LW V, Rudet RE, Klonert RA, Ingwallt JS, Maroko PR, Davist MA, u. a. A flow-and time-dependent index of ischemic injury after experimental coronary occlusion and reperfusion (myocardial ischemia/myocardial infarction). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983;80(18):5784–8.
25. Heusch G. Myocardial ischaemia–reperfusion injury and cardioprotection in perspective. *Nature Reviews Cardiology* 2020 17:12. 3. Juli 2020;17(12):773–89.
26. Kloner RA. Does reperfusion injury exist in humans? *J Am Coll Cardiol*. 1993;21(2):537–45.
27. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial Reperfusion Injury. *New England Journal of Medicine*. 13. September 2007;357(11):1121–35.
28. Stanley WC. Myocardial energy metabolism during ischemia and the mechanisms of metabolic therapies. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2004;9 Suppl 1(SUPPL. 1).
29. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med*. 1. Februar 1991;42(Volume 42, 1991):225–46.
30. Fliegel L, Dyck JRB, Wang H, Fong C, Haworth RS. Cloning and analysis of the human myocardial Na⁺/H⁺ exchanger. *Mol Cell Biochem*. August 1993;125(2):137–43.
31. Pott C, Eckardt L, I. Goldhaber J. Triple Threat: The Na⁺/Ca²⁺ Exchanger in the Pathophysiology of Cardiac Arrhythmia, Ischemia and Heart Failure. *Curr Drug Targets*. 18. April 2011;12(5):737.
32. Skou JC, Esmann M. The Na,K-ATPase. *J Bioenerg Biomembr*. Juni 1992;24(3):249–61.
33. Zimmer HG. Stoffwechseleränderungen im Herzen bei Sauerstoffmangel und während postischämischer Erholung. *Autonome Innervation des Herzens Myokardiale Hypoxie*. 1987;55–68.
34. Møller J V., Juul B, Le Maire M. Structural organization, ion transport, and energy transduction of P-type ATPases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes*. 6. Mai 1996;1286(1):1–51.
35. Zhihao L, Jingyu N, Lan L, Michael S, Rui G, Xiyun B, u. a. SERCA2a: a key protein in the Ca²⁺ cycle of the heart failure. *Heart Fail Rev*. 1. Mai 2020;25(3):523–35.

36. Periasamy M, Bhupathy P, Babu GJ. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. *Cardiovasc Res*. 15. Januar 2008;77(2):265–73.
37. Allen DG, Orchard CH. Intracellular calcium concentration during hypoxia and metabolic inhibition in mammalian ventricular muscle. *J Physiol*. 1. Juni 1983;339(1):107.
38. Marks AR. Intracellular calcium-release channels: regulators of cell life and death. *Am J Physiol*. 1997;272(2 Pt 2).
39. Toya T, Ito K, Kagami K, Osaki A, Sato A, Kimura T, u. a. Impact of oxidative posttranslational modifications of SERCA2 on heart failure exacerbation in young patients with non-ischemic cardiomyopathy: A pilot study. *Int J Cardiol Heart Vasc*. 1. Februar 2019;26:100437.
40. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*. 15. Oktober 2003;552(Pt 2):335.
41. Hilles R, Massey V. Studies on the Oxidative Half-reaction of Xanthine Oxidase*. *Journal of Biological Chemistry*. 1981;256(17):9090–5.
42. Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, Aksentijević D, Sundier SY, Robb EL, u. a. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature*. 20. November 2014;515(7527):431–5.
43. Crabtree MJ, Channon KM. Synthesis and recycling of tetrahydrobiopterin in endothelial function and vascular disease. *Nitric Oxide*. 1. August 2011;25(2):81–8.
44. Hunter DR, Haworth RA. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria: III. Transitional Ca²⁺ release. *Arch Biochem Biophys*. 1. Juli 1979;195(2):468–77.
45. Neginskaya MA, Morris SE, Pavlov E V. Both ANT and ATPase are essential for mitochondrial permeability transition but not depolarization. *iScience*. 18. November 2022;25(11):105447.
46. Bernardi P, Scorrano L, Colonna R, Petronilli V, Di Lisa F. Mitochondria and cell death. *Eur J Biochem*. 15. September 1999;264(3):687–701.
47. Bernardi P, Di Lisa F, Fogolari F, Lippe G. From ATP to PTP and back. A dual function for the mitochondrial ATP synthase. *Circ Res*. 22. Mai 2015;116(11):1850.
48. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochemical Journal*. 15. Juli 1999;341(Pt 2):233.
49. Antoniel M, Jones K, Antonucci S, Spolaore B, Fogolari F, Petronilli V, u. a. The unique histidine in OSCP subunit of F-ATP synthase mediates inhibition of the permeability transition pore by acidic pH. *EMBO Rep*. Februar 2017;19(2):257.
50. Giorgio V, Fogolari F, Lippe G, Bernardi P. OSCP subunit of mitochondrial ATP synthase: role in regulation of enzyme function and of its transition to a pore. *Br J Pharmacol*. 1. November 2019;176(22):4247–57.
51. Kalogeris T, Bao Y, Korthuis RJ. Mitochondrial reactive oxygen species: A double edged sword in ischemia/reperfusion vs preconditioning. *Redox Biol*. 2014;2(1):702.
52. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol Rev*. 1. Juli 2014;94(3):909–50.
53. Behera R, Sharma V, Grewal AK, Kumar A, Arora B, Najda A, u. a. Mechanistic correlation between mitochondrial permeability transition pores and mitochondrial ATP dependent potassium channels in ischemia reperfusion. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 1. Juni 2023;162:114599.
54. Paggio A, Checchetto V, Campo A, Menabò R, Di Marco G, Di Lisa F, u. a. Identification of an ATP-sensitive potassium channel in mitochondria. *Nature* 2019 572:7771. 21. August 2019;572(7771):609–13.
55. Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J Exp Med*. 2. Oktober 2000;192(7):1001–14.
56. Dopico AM, Szewczyk A, Bukiya A, Toro L, Balderas E, Zhang J, u. a. Mitochondrial BKCa channel. *Front Physiol*. 2015;6(MAR):104.
57. Bernardi P, Carraro M, Lippe G. The mitochondrial permeability transition: Recent progress and open questions. *FEBS J*. 1. November 2022;289(22):7051–74.

58. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*. 1. Januar 2008;417(Pt 1):1.
59. Davidson SM, Adameová A, Barile L, Cabrera-Fuentes HA, Lazou A, Pagliaro P, u. a. Mitochondrial and mitochondrial-independent pathways of myocardial cell death during ischaemia and reperfusion injury. *J Cell Mol Med*. 1. April 2020;24(7):3795.
60. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. April 2011;33(7):829.
61. Berry CE, Hare JM. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J Physiol*. 16. März 2003;555(Pt 3):589.
62. Bernardi P, Di Lisa F. The mitochondrial permeability transition pore: molecular nature and role as a target in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol*. 1. Januar 2015;78:100–6.
63. Mishra J, Jhun BS, Hurst S, O-Uchi J, Csordás G, Sheu SS. The Mitochondrial Ca²⁺ Uniporter: Structure, Function and Pharmacology. *Handb Exp Pharmacol*. 2017;240:129.
64. Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Inserte J, Rodriguez-Sinovas A, Piper HM. Calcium-mediated cell death during myocardial reperfusion. *Cardiovasc Res*. 1. Mai 2012;94(2):168–80.
65. Shen AC, Jennings RB. Myocardial Calcium and Magnesium in Acute Ischemic Injury. *Am J Pathol*. Juni 1972;67(3):417.
66. Slegtenhorst BR, Dor FJMF, Rodriguez H, Voskuil FJ, Tullius SG. Ischemia/reperfusion Injury and its Consequences on Immunity and Inflammation. *Curr Transplant Rep*. 1. September 2014;1(3):147.
67. Tang Y, Jiao Y, An X, Tu Q, Jiang Q. Neutrophil extracellular traps and cardiovascular disease: Associations and potential therapeutic approaches. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 1. November 2024;180:117476.
68. Wang X, Chen T, Chen S, Zhang J, Cai L, Liu C, u. a. STING aggravates ferroptosis-dependent myocardial ischemia-reperfusion injury by targeting GPX4 for autophagic degradation. *Signal Transduct Target Ther*. 25. April 2025;10(1):1–17.
69. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124–36.
70. Piot CA, Padmanaban D, Ursell PC, Sievers RE, Wolfe CL. Ischemic preconditioning decreases apoptosis in rat hearts in vivo. *Circulation*. 2. September 1997;96(5):1598–604.
71. Janier MF, Vanoverschelde JLJ, Bergmann SR. Ischemic preconditioning stimulates anaerobic glycolysis in the isolated rabbit heart. *Am J Physiol*. 1994;267(4 Pt 2).
72. Wever KE, Menting TP, Rovers M, van der Vliet JA, Rongen GA, Masereeuw R, u. a. Ischemic preconditioning in the animal kidney, a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 28. Februar 2012;7(2).
73. Ding ZM, Wu B, Zhang WQ, Lu XJ, Lin YC, Geng YJ, u. a. Neuroprotective effects of ischemic preconditioning and postconditioning on global brain ischemia in rats through the same effect on inhibition of apoptosis. *Int J Mol Sci*. Mai 2012;13(5):6089–101.
74. Jenkins DP, Pugsley WB, Alkhulaifi AM, Kemp M, Hooper J, Yellon DM. Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart*. 1997;77(4):314.
75. Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E, u. a. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet*. 18. August 2007;370(9587):575–9.
76. Hausenloy D, Candilio L. Is there a role for ischaemic conditioning in cardiac surgery? *F1000Res*. 2017;6:563.
77. Gho BCG, Schoemaker RG, Van den Doel MA, Duncker DJ, Verdouw PD. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation*. 1. November 1996;94(9):2193–200.

78. Heusch G. Molecular basis of cardioprotection signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning. *Circ Res.* 13. Februar 2015;116(4):674–99.
79. Bromage DI, Pickard JMJ, Rossello X, Ziff OJ, Burke N, Yellon DM, u. a. Remote ischaemic conditioning reduces infarct size in animal in vivo models of ischaemia-reperfusion injury: a systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc Res.* 1. März 2016;113(3):288.
80. Meybohm P, Bein B, Brosteanu O, Cremer J, Gruenewald M, Stoppe C, u. a. A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. *New England Journal of Medicine.* 8. Oktober 2015;373(15):1397–407.
81. Hausenloy DJ, Candilio L, Laing C, Kunst G, Pepper J, Kolvekar S, u. a. Effect of remote ischemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery (ERICCA): Rationale and study design of a multi-centre randomized double-blinded controlled clinical trial. *Clinical Research in Cardiology.* 21. Mai 2012;101(5):339–48.
82. Raphael J. Physiology and Pharmacology of Myocardial Preconditioning. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* März 2010;14(1):54–9.
83. Roth S, Torregroza C, Feige K, Preckel B, Hollmann MW, Weber NC, u. a. Molecular Sciences Pharmacological Conditioning of the Heart: An Update on Experimental Developments and Clinical Implications. 2021;
84. Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: Targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovasc Res.* 15. Februar 2004;61(3):448–60.
85. Hadebe N, Cour M, Lecour S. The SAFE pathway for cardioprotection: is this a promising target? *Basic Res Cardiol.* 15. Januar 2018;113(2):1–6.
86. Cohen M V., Yang XM, Downey JM. Nitric oxide is a preconditioning mimetic and cardioprotectant and is the basis of many available infarct-sparing strategies. *Cardiovasc Res.* 1. Mai 2006;70(2):231–9.
87. Fryer RM, Pratt PF, Hsu AK, Gross GJ. Differential Activation of Extracellular Signal Regulated Kinase Isoforms in Preconditioning and Opioid-Induced Cardioprotection. *J Pharmacol Exp Ther.* 1. Februar 2001;296(2):642–9.
88. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation.* 1991;84(1):350–6.
89. Goto M, Liu Y, Yang XM, Ardell JL, Cohen M V., Downey JM. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res.* 1. September 1995;77(3):611–21.
90. Jonassen AK, Brar BK, Mjøs OD, Sack MN, Latchman DS, Yellon DM. Insulin Administered at Reoxygenation Exerts a Cardioprotective Effect in Myocytes by a Possible Anti-Apoptotic Mechanism. *J Mol Cell Cardiol.* 1. Mai 2000;32(5):757–64.
91. Kulik G, Klippel A, Weber MJ. Antiapoptotic Signalling by the Insulin-Like Growth Factor I Receptor, Phosphatidylinositol 3-Kinase, and Akt. *Mol Cell Biol.* 1. März 1997;17(3):1595–606.
92. Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu MM, Yellon DM. Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* Februar 2005;288(2 57-2):971–6.
93. Da Silva R, Grampp T, Pasch T, Schaub MC, Zaugg M. Differential Activation of Mitogen-activated Protein Kinases in Ischemic and Anesthetic Preconditioning. *Anesthesiology.* 2004;100:59–69.
94. Hausenloy DJ, Tsang A, Yellon DM. The Reperfusion Injury Salvage Kinase Pathway: A Common Target for Both Ischemic Preconditioning and Postconditioning. *Trends Cardiovasc Med.* 1. Februar 2005;15(2):69–75.
95. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999 399:6736. 10. Juni 1999;399(6736):601–5.
96. Francis SH, Busch JL, Corbin JD. cGMP-Dependent Protein Kinases and cGMP Phosphodiesterases in Nitric Oxide and cGMP Action. *Pharmacol Rev.* September 2010;62(3):525.
97. Xu W, Liu Y, Wang S, McDonald T, Van Eyk JE, Sidor A, u. a. Cytoprotective role of Ca²⁺-activated K⁺ channels in the cardiac inner mitochondrial membrane. *Science* (1979). 1. November 2002;298(5595):1029–33.

98. Garlid KD, Dos Santos P, Xie ZJ, Costa ADT, Paucek P. Mitochondrial potassium transport: the role of the mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel in cardiac function and cardioprotection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 30. September 2003;1606(1–3):1–21.
99. Heinen A, Aldakkak M, Stowe DF, Rhodes SS, Riess ML, Varadarajan SG, u. a. Reverse electron flow-induced ROS production is attenuated by activation of mitochondrial Ca²⁺-sensitive K⁺ channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. September 2007;293(3):1400–7.
100. Juhaszova M, Zorov DB, Kim SH, Pepe S, Fu Q, Fishbein KW, u. a. Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest*. 1. Juni 2004;113(11):1535–49.
101. Korshunova AY, Blagonravov ML, Neborak E V., Syatkin SP, Sklifasovskaya AP, Semyatov SM, u. a. BCL2-regulated apoptotic process in myocardial ischemia-reperfusion injury (Review). *Int J Mol Med*. 1. Januar 2020;47(1):23.
102. Lecour S, Smith RM, Woodward B, Opie LH, Rochette L, Sack MN. Identification of a novel role for sphingolipid signaling in TNF α and ischemic preconditioning mediated cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol*. 1. Mai 2002;34(5):509–18.
103. Balakumar P, Singh M. Anti-Tumour Necrosis Factor- α Therapy in Heart Failure: Future Directions. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 1. Dezember 2006;99(6):391–7.
104. Schulz R, Heusch G. Editorial: Tumor necrosis factor- α and its receptors 1 and 2: Yin and yang in myocardial infarction? *Circulation*. 17. März 2009;119(10):1355–7.
105. Hattori R, Maulik N, Otani H, Zhu L, Cordis G, Engelman RM, u. a. Role of STAT3 in Ischemic Preconditioning. *J Mol Cell Cardiol*. 1. November 2001;33(11):1929–36.
106. Zouein FA, Booz GW, Altara R. STAT3 and Endothelial Cell—Cardiomyocyte Dialog in Cardiac Remodeling. *Front Cardiovasc Med*. 24. April 2019;6:50.
107. Meier JA, Hyun M, Cantwell M, Raza A, Mertens C, Raje V, u. a. Stress-induced dynamic regulation of mitochondrial STAT3 and its association with cyclophilin D reduce mitochondrial ROS production. *Sci Signal*. 28. März 2017;10(472).
108. Boengler K, Hilfiker-Kleiner D, Heusch G, Schulz R. Inhibition of permeability transition pore opening by mitochondrial STAT3 and its role in myocardial ischemia/reperfusion. *Basic Res Cardiol*. November 2010;105(6):771.
109. Somers SJ, Frias M, Lacerda L, Opie LH, Lecour S. Interplay between SAFE and RISK pathways in sphingosine-1-phosphate-induced cardioprotection. *Cardiovasc Drugs Ther*. Juni 2012;26(3):227–37.
110. Suleman N, Somers S, Smith R, Opie LH, Lecour SC. Dual activation of STAT-3 and Akt is required during the trigger phase of ischaemic preconditioning. *Cardiovasc Res*. 1. Juli 2008;79(1):127–33.
111. Xu Z, Park SS, Mueller RA, Bagnell RC, Patterson C, Boysen PG. Adenosine produces nitric oxide and prevents mitochondrial oxidant damage in rat cardiomyocytes. *Cardiovasc Res*. 1. März 2005;65(4):803–12.
112. Bernier SG, Halder S, Michel T. Bradykinin-regulated interactions of the mitogen-activated protein kinase pathway with the endothelial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem*. 29. September 2000;275(39):30707–15.
113. Zhou J, Li YS, Chien S. Shear stress-initiated signaling and its regulation of endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(10):2191–8.
114. Fleming I, Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 1. Januar 2003;284(1 53-1).
115. Burley DS, Ferdinandy P, Baxter GF. Cyclic GMP and protein kinase-G in myocardial ischaemia-reperfusion: opportunities and obstacles for survival signaling. *Br J Pharmacol*. November 2007;152(6):855.
116. Newton AC. Protein Kinase C: Perfectly Balanced. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 4. März 2018;53(2):208.
117. Liu Y, Ytrehus K, Downey JM. Evidence that Translocation of Protein Kinase C is a Key Event During Ischemic Preconditioning of Rabbit Myocardium. *J Mol Cell Cardiol*. 1. Mai 1994;26(5):661–8.

118. Chen CH, Budas GR, Churchill EN, Disatnik MH, Hurley TD, Mochly-Rosen D. Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart. *Science* (1979). 12. September 2008;321(5895):1493–5.
119. Jabůrek M, Costa ADT, Burton JR, Costa CL, Garlid KD. Mitochondrial PKC ϵ and mitochondrial ATP-sensitive K $^{+}$ channel copurify and coreconstitute to form a functioning signaling module in proteoliposomes. *Circ Res*. 13. Oktober 2006;99(8):878–83.
120. Rotko D, Kunz WS, Szewczyk A, Kulawiak B. Signaling pathways targeting mitochondrial potassium channels. *Int J Biochem Cell Biol*. 1. August 2020;125:105792.
121. Prag HA, Murphy MP, Krieg T. Preventing mitochondrial reverse electron transport as a strategy for cardioprotection. *Basic Res Cardiol*. 1. Dezember 2023;118(1):34.
122. Dorsch M, Behnenburg F, Raible M, Blase D, Grievink H, Hollmann MW, u. a. Morphine-Induced Preconditioning: Involvement of Protein Kinase A and Mitochondrial Permeability Transition Pore. *PLoS One*. 2016;11(3):e0151025.
123. Mattiazzi A, Kranias EG. CAMKII REGULATION OF PHOSPHOLAMBAN AND SR Ca $^{2+}$ LOAD. *Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society*. 2010;8(5):784.
124. Li J, Rohailla S, Gelber N, Rutka J, Sabah N, Gladstone RA, u. a. MicroRNA-144 is a circulating effector of remote ischemic preconditioning. *Basic Res Cardiol*. 1. September 2014;109(5):1–15.
125. Qiao S, Olson JM, Paterson M, Yan Y, Zaja I, Liu Y, u. a. MicroRNA-21 mediates isoflurane-induced cardioprotection against ischemia/reperfusion injury via Akt/nitric oxide synthase/mitochondrial permeability transition pore pathway. *Anesthesiology*. 1. Oktober 2015;123(4):786.
126. Li J, Rohailla S, Gelber N, Rutka J, Sabah N, Gladstone RA, u. a. MicroRNA-144 is a circulating effector of remote ischemic preconditioning. *Basic Res Cardiol*. 1. September 2014;109(5):1–15.
127. Mocanu MM, Yellon DM. PTEN, the Achilles' heel of myocardial ischaemia/reperfusion injury? *Br J Pharmacol*. April 2007;150(7):833.
128. Cai Z, Semenza GL. PTEN activity is modulated during ischemia and reperfusion: Involvement in the induction and decay of preconditioning. *Circ Res*. 9. Dezember 2005;97(12):1351–9.
129. Zhang WW, Hasaniya NW, Premaratne S, McNamara JJ. Atrial Natriuretic Peptide Protects Against Ischemia-Reperfusion Injury in Rabbit Hearts In Vivo. *Vasc Endovascular Surg*. Juni 2008;42(3):263–7.
130. Okawa H, Horimoto H, Mieno S, Nomura Y, Yoshida M, Sasaki S. Preischemic infusion of alpha-human atrial natriuretic peptide elicits myoprotective effects against ischemia reperfusion in isolated rat hearts. *Mol Cell Biochem*. Juni 2003;248(1–2):171–7.
131. Sharov VG, Todor A, Khanal S, Imai M, Sabbah HN. Cyclosporine A Attenuates Mitochondrial Permeability Transition and Improves Mitochondrial Respiratory Function in Cardiomyocytes Isolated from Dogs With Heart Failure. *J Mol Cell Cardiol*. Januar 2006;42(1):150.
132. Agarwal B, Stowe DF, Dash RK, Bosnjak ZJ, Camara AKS. Mitochondrial targets for volatile anesthetics against cardiac ischemia-reperfusion injury. *Front Physiol*. 2014;5:341.
133. Stowe DF, Kevin LG. Cardiac preconditioning by volatile anesthetic agents: a defining role for altered mitochondrial bioenergetics. *Antioxid Redox Signal*. April 2004;6(2):439–48.
134. Gross ER, Hsu AK, Gross GJ. Opioid-Induced Cardioprotection Occurs via Glycogen Synthase Kinase β Inhibition during Reperfusion in Intact Rat Hearts. *Circ Res*. 16. April 2004;94(7):960–6.
135. Sanada S, Kitakaze M, Papst PJ, Asanuma H, Node K, Takashima S, u. a. Cardioprotective effect afforded by transient exposure to phosphodiesterase III inhibitors: The role of protein kinase A and p38 mitogen-activated protein kinase. *Circulation*. 7. August 2001;104(6):705–10.
136. Ney J, Hoffmann K, Meybohm P, Goetzenich A, Kraemer S, Benstöm C, u. a. Remote Ischemic Preconditioning Does Not Affect the Release of Humoral Factors in Propofol-Anesthetized Cardiac Surgery Patients: A Secondary Analysis of the

- RIPHeart Study. *International Journal of Molecular Sciences* 2018, Vol 19, Page 1094. 5. April 2018;19(4):1094.
137. Haverkamp W, Herth F, Messmann H. *Internistische Intensivmedizin*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2009. 826–826 S.
 138. Evans DB. Overview of cardiovascular physiologic and pharmacologic aspects of selective phosphodiesterase peak III inhibitors. *Am J Cardiol*. 3. Januar 1989;63(2):A9–11.
 139. Striebel HW. *Die Anästhesie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019. 595–596 S.
 140. Behmenburg F, Trefz L, Dorsch M, Ströthoff M, Mathes A, Raupach A, u. a. Milrinone-Induced Postconditioning Requires Activation of Mitochondrial Ca²⁺-sensitive Potassium (mBKCa) Channels. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1. Oktober 2018;32(5):2142–8.
 141. Glen JB. THE DISCOVERY AND DEVELOPMENT OF ICI 35868, A NEW INTRAVENOUS ANAESTHETIC. *Proceedings of the Association of Veterinary Anaesthetists*. 1. Januar 1982;10(1 S):201–3.
 142. Thiel H, Roewer N. *Anästhesiologische Pharmakotherapie*. Thiel H, Roewer N, Herausgeber. *Anästhesiologische Pharmakotherapie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2021. 126–128 S.
 143. WHO Technical Report Series. *The Selection and Use of Essential Medicines - TRS 1035*. 2021.
 144. Trapani G, Altomare C, Sanna E, Biggio G, Liso G. Propofol in Anesthesia. Mechanism of Action, Structure-Activity Relationships, and Drug Delivery. *Curr Med Chem*. 30. Oktober 2012;7(2):249–71.
 145. Rudolph U, Antkowiak B. Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics. *Nature Reviews Neuroscience* 2004 5:9. September 2004;5(9):709–20.
 146. Muñoz B, Mariqueo T, Murath P, Peters C, Yevenes GE, Moraga-Cid G, u. a. Modulatory Actions of the Glycine Receptor β Subunit on the Positive Allosteric Modulation of Ethanol in $\alpha 2$ Containing Receptors. *Front Mol Neurosci*. 18. November 2021;14.
 147. Fan W, Zhu X, Wu L, Wu Z, Li D, Huang F, u. a. Propofol: An anesthetic possessing neuroprotective effects. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(8):1520–9.
 148. Ebert TJ, Muzi M, Berens R, Goff D, Kampine JP. Sympathetic Responses to Induction of Anesthesia in Humans with Propofol or Etomidate. *Anesthesiology*. 1. Mai 1992;76(5):725–33.
 149. Kottenberg E, Thielmann M, Bergmann L, Heine T, Jakob H, Heusch G, u. a. Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol - a clinical trial. *Acta Anaesthesiol Scand*. Januar 2012;56(1):30–8.
 150. European Medicines Agency. *Dexdor Fachinformation*.
 151. Weatherall M, Aantaa R, Conti G, Garratt C, Pohjanjousi P, Lewis MA, u. a. A multinational, drug utilization study to investigate the use of dexmedetomidine (Dexdor®) in clinical practice in the EU. *Br J Clin Pharmacol*. 2017;83(9):2066–76.
 152. Philipp M, Brede M, Hein L. Physiological significance of $\alpha 2$ -adrenergic receptor subtype diversity: One receptor is not enough. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002;283(2 52-2):287–95.
 153. Pape H, Kurtz A, Silbernagl S. *Physiologie*. Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S, Herausgeber. Georg Thieme Verlag. 2019;65–7.
 154. Kamibayashi T, Maze M. Clinical uses of $\alpha 2$ -adrenergic agonists. *Anesthesiology*. 2000;93(5):1345–9.
 155. Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. Januar 2001;14(1):13.
 156. Zhang X, Wang R, Lu J, Jin W, Qian Y, Huang P, u. a. Effects of different doses of dexmedetomidine on heart rate and blood pressure in intensive care unit patients. *Exp Ther Med*. 1. Januar 2016;11(1):360–6.
 157. Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. Alpha-2 and imidazoline receptor agonists. Their pharmacology and therapeutic role. *Anaesthesia*. Februar 1999;54(2):146–65.

158. Piascik MT, Soltis EE, Piascik MM, Macmillan LB. α -Adrenoceptors and vascular regulation: Molecular, pharmacologic and clinical correlates. *Pharmacol Ther.* 1. Januar 1996;72(3):215–41.
159. Huang R, Chen Y, Yu ACH, Hertz L. Dexmedetomidine-induced stimulation of glutamine oxidation in astrocytes: A possible mechanism for its neuroprotective activity. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism.* 31. August 2000;20(6):895–8.
160. Takahashi K, Yoshikawa Y, Kanda M, Hirata N, Yamakage M. Dexmedetomidine as a cardioprotective drug: a narrative review. *J Anesth.* 1. Dezember 2023;37(6):961–70.
161. Riquelme JA, Westermeier F, Hall AR, Vicencio JM, Pedrozo Z, Ibacache M, u. a. Dexmedetomidine protects the heart against ischemia-reperfusion injury by an endothelial eNOS/NO dependent mechanism. *Pharmacol Res.* 1. Januar 2016;103:318–27.
162. Ibacache M, Sanchez G, Pedrozo Z, Galvez F, Humeres C, Echevarria G, u. a. Dexmedetomidine preconditioning activates pro-survival kinases and attenuates regional ischemia/reperfusion injury in rat heart. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* April 2012;1822(4):537–45.
163. Patel SS, Goa KL. Sevoflurane: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties and its Clinical Use in General Anaesthesia. *Drugs.* 1996;51(4):658–700.
164. Baxter. Fachinformation Sevofluran. 2018.
165. Dräger Vapor® 2000 und D-Vapor® Verdunster-dampfer für volatile Anästhetika.
166. Trudell JR. A unitary theory of anesthesia based on lateral phase separations in nerve membranes. *Anesthesiology.* 1977;46(1):5–10.
167. Ebert TJ, Harkin CP, Muzi M. Cardiovascular Responses to Sevoflurane: A Review : Anesthesia & Analgesia. *Anesth Analg.* 1995;81:3–22.
168. Rolf N, Van Aken H. Kardiovaskuläre Effekte von Sevofluran. *Anaesthesist.* 1998;47(SUPPL. 1):S11–8.
169. Hu B, Tian T, Hao PP, Liu WC, Chen YG, Jiang TY, u. a. The Protective Effect of Sevoflurane Conditionings Against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis of Preclinical Trials in in-vivo Models. *Front Cardiovasc Med.* 28. April 2022;9:841654.
170. Krebs HA, Henseleit K. Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Klin Wochenschr.* 1932;11(18):757–9.
171. Doring HJ. The isolated perfused heart according to Langendorff technique--function--application. *Physiol Bohemoslov.* 1990/01/01. 1990;39(6):481–504.
172. Bunte S, Lill T, Falk M, Stroethoff M, Raupach A, Mathes A, u. a. Impact of Anesthetics on Cardioprotection Induced by Pharmacological Preconditioning. *J Clin Med.* 2019/03/25. 2019;8(3).
173. Raupach A, Reinle J, Stroethoff M, Mathes A, Heinen A, Hollmann MW, u. a. Milrinone-Induced Pharmacological Preconditioning in Cardioprotection: Hints for a Role of Mitochondrial Mechanisms. *J Clin Med.* 2019/04/25. 2019;8(4).
174. Kashimoto S, Furuya A, Nonaka A, Oguchi T, Koshimizu M, Kumazawa T. The minimum alveolar concentration of sevoflurane in rats. *Eur J Anaesthesiol.* Juli 1997;14(4):359–61.
175. sanofi. Corotrop® 1 Fachinformation. 2024.
176. Gist KM, Korst A, Nakano SJ, Stauffer BL, Karimpour-Fard A, Zhou W, u. a. Circulating cyclic adenosine monophosphate concentrations in milrinone treated paediatric patients after congenital heart surgery. *Cardiol Young.* 3. September 2021;31(9):1393.
177. Ren YS, Li LF, Peng T, Tan YJ, Sun Y, Cheng GL, u. a. The effect of milrinone on mortality in adult patients who underwent CABG surgery: a systematic review of randomized clinical trials with a meta-analysis and trial sequential analysis. *BMC Cardiovasc Disord.* 8. Juli 2020;20(1):1–16.
178. Möllhoff T, Schmidt C, Aken H Van, Berendes E, Buerkle H, Marmann P, u. a. Myocardial ischaemia in patients with impaired left ventricular function undergoing coronary artery bypass grafting — milrinone versus nifedipine. *Eur J Anaesthesiol.* November 2002;19(11):796–802.

179. Huang MH, Wu Y, Nguyen V, Rastogi S, McConnell BK, Wijaya C, u. a. Heart Protection by Combination Therapy with Esmolol and Milrinone at Late-Ischemia and Early Reperfusion. *Cardiovasc Drugs Ther.* Juni 2011;25(3):223.
180. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The "No-Reflow" Phenomenon after Temporary Coronary Occlusion in the Dog. *J Clin Invest.* 1. Dezember 1974;54(6):1496–508.
181. Reffelmann T, Hale SL, Dow JS, Kloner RA. No-Reflow Phenomenon Persists Long-Term after Ischemia/Reperfusion in the Rat and Predicts Infarct Expansion. *Circulation.* 9. Dezember 2003;108(23):2911–7.
182. Hong Y, Boiti A, Vallone D, Foulkes NS. Reactive Oxygen Species Signaling and Oxidative Stress: Transcriptional Regulation and Evolution. *Antioxidants.* 1. März 2024;13(3):312.
183. Torregroza C, Raupach A, Feige K, Weber NC, Hollmann MW, Huhn R. Perioperative Cardioprotection: General Mechanisms and Pharmacological Approaches. *Anesth Analg.* 1. Dezember 2020;131(6):1765–80.
184. Nimmo AF, Absalom AR, Bagshaw O, Biswas A, Cook TM, Costello A, u. a. Guidelines for the safe practice of total intravenous anaesthesia (TIVA). *Anaesthesia.* 1. Februar 2019;74(2):211–24.
185. Tao X, Lu LQ, Xu Q, Li SR, Lin MT. Cardioprotective effects of anesthetic preconditioning in rats with ischemia-reperfusion injury: Propofol versus isoflurane. *J Zhejiang Univ Sci B.* 3. Oktober 2009;10(10):740–7.
186. Kamada N, Kanaya N, Hirata N, Kimura S, Namiki A. Cardioprotective effects of propofol in isolated ischemia-reperfused guinea pig hearts: Role of KATP channels and GSK-3 β . *Canadian Journal of Anesthesia.* 1. September 2008;55(9):595–605.
187. Ko SH, Yu CW, Lee SK, Choe H, Chung MJ, Kwak YG, u. a. Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Anesth Analg.* Oktober 1997;85(4):719–24.
188. Zaugg M, Wang L, Zhang L, Lou PH, Lucchinetti E, Clanachan AS. Choice of anesthetic combination determines Ca²⁺ leak after ischemia-reperfusion injury in the working rat heart: Favorable versus adverse combinations. *Anesthesiology.* März 2012;116(3):648–57.
189. Bunte S, Behmenburg F, Eckelskemper F, Mohr F, Stroethoff M, Raupach A, u. a. Cardioprotection by Humoral Factors Released after Remote Ischemic Preconditioning Depends on Anesthetic Regimen. *Crit Care Med.* 1. März 2019;47(3):e250–5.
190. Chang JH, Jin MM, Liu JT. Dexmedetomidine pretreatment protects the heart against apoptosis in ischemia/reperfusion injury in diabetic rats by activating PI3K/Akt signaling in vivo and in vitro. *Biomed Pharmacother.* 1. Juli 2020;127.
191. Mendoza A, Patel P, Robichaux D, Ramirez D, Karch J. Inhibition of the mPTP and Lipid Peroxidation Is Additively Protective Against I/R Injury. *Circ Res.* 10. Mai 2024;134(10):1292–305.
192. Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. Alpha-2 and imidazoline receptor agonists Their pharmacology and therapeutic role. *Anaesthesia.* 1. Februar 1999;54(2):146–65.
193. Weerink MAS, Struys MMRF, Hannivoort LN, Barends CRM, Absalom AR, Colin P. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine. *Clin Pharmacokinet.* 1. August 2017;56(8):893–913.
194. Okada H, Kurita T, Mochizuki T, Morita K, Sato S. The cardioprotective effect of dexmedetomidine on global ischaemia in isolated rat hearts. *Resuscitation.* September 2007;74(3):538–45.
195. Behmenburg F, Pickert E, Mathes A, Heinen A, Hollmann MW, Huhn R, u. a. The Cardioprotective Effect of Dexmedetomidine in Rats Is Dose-Dependent and Mediated by BKCa Channels. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1. April 2017;69(4):228–35.
196. Bunte S, Behmenburg F, Majewski N, Stroethoff M, Raupach A, Mathes A, u. a. Characteristics of Dexmedetomidine Postconditioning in the Field of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesth Analg.* 1. Januar 2020;130(1):90–8.
197. Mimuro S, Katoh T, Suzuki A, Yu S, Adachi YU, Uraoka M, u. a. Deterioration of myocardial injury due to dexmedetomidine administration after myocardial ischaemia. *Resuscitation.* Dezember 2010;81(12):1714–7.

198. Lin J, Li X, Yang Y, Ge Z, Dong L, Liu D, Yang C, et al. Protective effects of sevoflurane conditioning against myocardial ischemia-reperfusion injury: a review of evidence from animal and clinical studies. *Anesthesiology and Perioperative Science* 2025 3:1. 21. Januar 2025;3(1):1–19.
199. Obal D, Preckel B, Scharbatke H, Müllenheim J, Höterkes F, Thämer V, et al. One MAC of sevoflurane provides protection against reperfusion injury in the rat heart *in vivo*. *Br J Anaesth.* 1. Dezember 2001;87(6):905–11.
200. Kevin LG, Novalija E, Riess ML, Camara AKS, Rhodes SS, Stowe DF. Sevoflurane exposure generates superoxide but leads to decreased superoxide during ischemia and reperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg.* 1. April 2003;96(4):949–55.
201. Wang C, Hu SM, Xie H, Qiao SG, Liu H, Liu CF. Role of mitochondrial ATP-sensitive potassium channel-mediated PKC- ϵ in delayed protection against myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated hearts of sevoflurane-preconditioned rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 2015;48(6):528.
202. Tosaka S, Tosaka R, Matsumoto S, Maekawa T, Cho S, Sumikawa K. Roles of cyclooxygenase 2 in sevoflurane- and olprinone-induced early phase of preconditioning and postconditioning against myocardial infarction in rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* März 2011;16(1):72–8.
203. Hao YL, Fang HC, Zhao HL, Li XL, Luo Y, Wu BQ, et al. The role of microRNA-1 targeting of MAPK3 in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats undergoing sevoflurane preconditioning via the PI3K/Akt pathway. *Am J Physiol Cell Physiol.* 6. September 2018;315(3):C380–8.
204. Tosaka S, Makita T, Tosaka R, Maekawa T, Cho S, Hara T, et al. Cardioprotection induced by olprinone, a phosphodiesterase III inhibitor, involves phosphatidylinositol-3-OH kinase-Akt and a mitochondrial permeability transition pore during early reperfusion. *J Anesth.* Mai 2007;21(2):176–80.
205. Qian B, Yang Y, Yao Y, Liao Y, Lin Y. Upregulation of vascular endothelial growth factor receptor-1 contributes to sevoflurane preconditioning-mediated cardioprotection. *Drug Des Devel Ther.* 6. April 2018;12:769–76.
206. Li F, Yuan Y. Meta-analysis of the cardioprotective effect of sevoflurane versus propofol during cardiac surgery. *BMC Anesthesiol.* 24. September 2015;15(1):1–12.
207. Yildirim V, Doganci S, Aydin A, Bolcal C, Demirkilic U, Cosar A. Cardioprotective effects of sevoflurane, isoflurane, and propofol in coronary surgery patients: a randomized controlled study. *Heart Surg Forum.* Februar 2009;12(1).
208. 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.* 15. Juli 2012;303(2):H156.
209. Awan MM, Taunyane C, Aitchison KA, Yellon DM, Opie LH. Normothermic Transfer Times up to 3 Min Will Not Precondition the Isolated Rat Heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1. März 1999;31(3):503–11.
210. 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.* 23. Mai 2009;23(4):327–31.
211. Vogel WM, Cerel AW, Apstein CS. Post-ischemic cardiac chamber stiffness and coronary vasomotion: the role of edema and effects of dextran. *J Mol Cell Cardiol.* 1986;18(12):1207–18.
212. Lateef R, Al-Masri A, Alyahya A. Langendorff's isolated perfused rat heart technique: a review. *Int J Basic Clin Pharmacol.* 2015;1314–22.

Danksagung

Mein außerordentlicher Dank gilt Frau Privatdozentin Dr. Annika Raupach für die Übernahme der Betreuung, die wertvollen Korrekturvorschläge, das stets konstruktive Feedback sowie die Unterstützung im Labor. Ohne ihr Engagement wäre diese Arbeit nicht entstanden. Hierfür danke ich ihr herzlich.

Ich danke Herrn Professor Dr. Dr. Ragnar Huhn-Wientgen für das Überlassen des Themas.

Für die stets freundliche und hilfreiche Begleitung im Labor danke ich ganz herzlich Frau Professorin Inge Bauer, Frau Birgit Berke und Frau Claudia Dohle.

Ein weiterer Dank gilt Dr. Max Falk für die gemeinsame Zeit im Labor, die stets bereichernd und nie langweilig war.

Den Arbeitsgruppenmitgliedern Herrn Dr. Sebastian Bunte und Herrn Privatdozent Dr. Martin Ströthoff danke ich für die sehr gute Betreuung während der Versuchsdurchführungen und der Auswertungen.

Mein größter und tiefster Dank gilt meiner Ehefrau Kathrin, die mich während der gesamten Promotionszeit mit unermüdlicher Geduld, Verständnis und liebevoller Unterstützung begleitet hat. Ohne ihre Unterstützung wäre diese Arbeit nicht vollendet worden.