

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

**Kardioprotektive Effekte humoraler Faktoren, freigesetzt nach
ischämischer Fernpräkonditionierung bei kardiochirurgischen Bypass-
Patienten unter Propofol-freier Anästhesie
– eine translationale Studie aus der Klinik ins Labor**

Dissertation

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

vorgelegt von
Milena Gude

2026

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

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

Zweitgutachter/in: Prof. Dr. med. Hug Aubin

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Feige K, Torregroza C, Gude M, Maddison P, Stroethoff M, Roth S, Lurati Buse G, Hollmann MW, Huhn R. Cardioprotective Properties of Humoral Factors Released after Remote Ischemic Preconditioning in CABG Patients with Propofol-Free Anesthesia-A Translational Approach from Bedside to Bench. J Clin Med. 2022 Mar 7;11(5):1450. doi: 10.3390/jcm11051450. PMID: 35268540; PMCID: PMC8910912.

Zusammenfassung

Der kardioprotektive Effekt ischämischer Fernpräkonditionierung (*remote ischemic preconditioning* = RIPC) ist in zahlreichen experimentellen Studien eindeutig nachweisbar. RIPC, eine repetitive Induktion von Ischämien, gefolgt von Phasen der Reperfusion an einem herzfernen Organ (z.B. einer Extremität), sorgt für eine erhöhte Resistenz der Kardiomyozyten gegenüber einem folgenden Ischämie-Reperfusionsschaden. Dieser deutliche Schutz ist bislang allerdings nicht im klinischen Umfeld reproduzierbar.

Propofol, ein häufig genutztes Anästhetikum, wird unter anderem als negativer Einflussfaktor auf die Freisetzung humoraler Faktoren nach RIPC diskutiert. Des Weiteren legen experimentelle sowie klinische Studien nahe, dass auch verschiedene Komorbiditäten und Medikamente die Wirkung von RIPC möglicherweise blockieren.

In der aktuellen Studie gehen wir zurück aus der Klinik ins Labor und transferieren Plasma von männlichen Patienten, die sich einer kardiochirurgischen Bypassoperation unterziehen, in naive, junge Rattenherzen. Dabei gilt es zum einen herauszufinden, ob Plasma nach einer erfolgten RIPC-Intervention unter Propofol-freier Anästhesie einen kardioprotektiven Effekt vermittelt und zum anderen, ob die Komorbidität Diabetes mellitus Typ II (DM) als Einflussfaktor auf den möglichen kardioprotektiven Effekt wirkt.

Blutproben von männlichen Patienten mit und ohne DM wurden während der Narkoseeinleitung nach einer RIPC-Intervention (Interventionsgruppe mit drei Zyklen einer je fünfminütigen Ischämie und Reperfusion am Arm) oder einer Schein-Intervention (Kontrollgruppe ohne Ischämie) entnommen. Um einen möglichen kardioprotektiven Effekt der humoralen Faktoren zu detektieren, wurde dieses humane Plasma anschließend an isoliert perfundierten Herzen junger Ratten im Langendorff-Modell untersucht. Die naiven Herzen wurden zunächst für zehn Minuten mit dem humanen Plasma im Sinne einer Präkonditionierung perfundiert. Anschließend wurde eine globale Ischämie (33 Minuten) mit nachfolgender Reperfusion (60 Minuten) induziert. Zuletzt wurden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung die Infarktgrößen bestimmt.

Das experimentelle Protokoll bestand aus vier Gruppen mit je fünf Rattenherzen. Zwei Kontrollgruppen, perfundiert mit Kontroll-Plasma, mit und ohne DM (Kontrolle + DM und Kontrolle), und zwei Gruppen perfundiert mit RIPC-Plasma, ebenfalls mit und ohne DM (RIPC + DM und RIPC).

Eine Präkonditionierung mit RIPC-Plasma bewirkte im Vergleich zur Kontrolle keine signifikante Reduktion der Infarktgröße (RIPC $59 \pm 5\%$, Kontrolle $61 \pm 3\%$, $p = 0,973$). Ein ähnliches Ergebnis findet sich in den beiden DM Gruppen (RIPC + DM $55 \pm 3\%$, Kontrolle + DM $56 \pm 4\%$, $p = 0,995$).

In dieser Untersuchung konnte das nach RIPC-Intervention entnommene Plasma im Vergleich zur Kontrolle keinen feststellbaren kardioprotektiven Effekt in Form einer Infarktgrößenreduktion in den Rattenherzen auslösen. Diese Ergebnisse fanden sich unabhängig von einem vorbestehenden Diabetes mellitus Typ II.

Summary

The cardioprotective effect of remote ischaemic preconditioning (RIPC) has been clearly demonstrated in numerous experimental studies. RIPC, a repetitive induction of ischaemia followed by phases of reperfusion in an organ remote from the heart (e.g. an extremity), provides increased resistance of cardiomyocytes to subsequent ischaemia-reperfusion injury. However, this protection has not yet been reproducible in a clinical setting.

Propofol, a commonly used anaesthetic, is discussed as a negative factor influencing the release of humoral factors after RIPC. Furthermore, experimental and clinical studies suggest that various comorbidities and medications may also block the effect of RIPC.

In the current study, we are returning from the clinical setting back to the laboratory and transferring plasma from male patients undergoing cardiac bypass surgery into naive, young rat hearts. The aim is to find out whether plasma mediates a cardioprotective effect after a previous RIPC intervention under propofol-free anaesthesia and, secondly, whether the comorbidity diabetes mellitus type II (DM) acts as a confounding factor on the possible cardioprotective effect.

Blood samples were taken from male patients with and without DM during induction of anaesthesia after a RIPC intervention (intervention group with three cycles of five minutes of ischaemia and reperfusion in the arm) or a sham intervention (control group without ischaemia). In order to detect a possible cardioprotective effect of the humoral factors, the human plasma was then analysed in isolated perfused hearts of young rats in the Langendorff model. The naive hearts were first perfused with the human plasma for ten minutes in the sense of preconditioning. Global ischaemia (33 minutes) was then induced followed by reperfusion (60 minutes). Finally, the infarct sizes were determined using triphenyltetrazolium chloride staining.

The experimental protocol consisted of four groups of five rat hearts each. Two control groups, perfused with control plasma, with and without DM (control + DM and control), and two groups perfused with RIPC plasma, also with and without DM (RIPC + DM and RIPC).

Preconditioning with RIPC plasma did not result in a significant reduction in infarct size compared to control (RIPC $59 \pm 5\%$, control $61 \pm 3\%$, $p = 0.973$). A similar result was found in the two DM groups (RIPC + DM $55 \pm 3\%$, control + DM $56 \pm 4\%$, $p = 0.995$).

In this study, plasma collected after RIPC intervention did not induce a detectable cardioprotective effect in the form of infarct size reduction in the rat hearts compared to the control. These results were independent of pre-existing type II diabetes mellitus.

Abkürzungsverzeichnis

μl	Mikroliter
ACB	<i>Aorto-Coronary Bypass</i>
ACE	<i>Angiotensin Converting Enzym</i>
ACS	Akutes Koronarsyndrom
ADP	Adenosindiphosphat
AKI	<i>acute kidney injury</i>
Akt	Protein Kinase B
ANOVA	Varianzanalyse / <i>analysis of variance</i>
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	<i>Body Mass Index</i>
bpm	<i>beats per minute</i>
BZ	Blutzucker
Ca ²⁺	Calcium
CaCl ₂	Kalziumchlorid
cm	Zentimeter
dl	Deziliter
DM	Diabetes mellitus
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ECLS	<i>Extracorporeal life support</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
EPC	<i>early preconditioning</i>
ERK	<i>extracellular signal-regulated kinase</i>
et al.	<i>et alia</i>
g	Erdbeschleunigung
gr	Gramm
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
GSK3β	Glykogensynthasekinase-3 β
H ⁺	Proton
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
Hz	Hertz
I.E.	Internationale Einheit
I-/R-Schaden	Ischämie-Reperfusionsschaden
IABP	Intraaortale Ballonpumpe
IPC	ischämischen Präkonditionierung / <i>ischemic preconditioning</i>
JAK	Januskinasen
KCl	Kaliumchlorid
kD	Kilodalton
kg	Kilogramm

KH ₂ PO ₄	Kaliumhydrogenphosphat
KHK	koronare Herzkrankheit
KHP	Krebs-Henseleit-Puffer
Kon	Kontrolle
LVDP	linksventrikulär entwickelter Druck / <i>left ventricular developed pressure</i>
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck / <i>left ventricular end-diastolic pressure</i>
LVP	linksventrikulärer Druck / <i>left ventricular pressure</i>
LVSP	linksventrikuläre systolische Druck / <i>left ventricular systolic pressure</i>
mg	Milligramm
MgSO ₄	Magnesiumsulfat
MIDCAB	<i>Minimal Invasiv Direct Coronary Artery Bypass</i>
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mPTP	mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore
n	Anzahl
Na ⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂ ⁻	Superoxidanionen
O ₂	Sauerstoff
OPCAB	<i>Off-Pump Coronary Artery Bypass</i>
PDK	<i>pyruvate dehydrogenase kinase</i>
pH	<i>potentia hydrogenii</i>
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PKG	Proteinkinase G
RIPC	ischämische Fernpräkonditionierung / <i>remote ischemic preconditioning</i>
RISK-Signalweg	<i>Reperfusion-injury-salvage-kinase</i> -Signalweg
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
SAFE-Signalweg	<i>Survivor-activating-factor-enhancement</i> -Signalweg
STAT	<i>signal transducers and activators of transcription</i>
SWOP	<i>Second Window of Protection</i>
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
TTC	2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Die koronare Herzkrankheit.....	1
1.2	Ischämie-Reperfusionsschaden	2
1.3	Ischämische Präkonditionierung.....	5
1.4	Mangelnde Übertragbarkeit von RIPC in die Klinik	8
1.5	Ziele der Arbeit	10
2	Material und Methoden	11
2.1	Klinischer Teil	11
2.1.1	Patientenauswahl	11
2.1.2	RIPC am Patienten	13
2.1.3	Materialien in der Klinik	14
2.2	Experimenteller Teil	15
2.2.1	Das isolierte Herz nach Langendorff	15
2.2.2	Versuchstiere	15
2.2.3	Chirurgische Präparation	15
2.2.4	Die Langendorff Anlage	16
2.2.5	Versuchsprotokoll.....	19
2.2.6	Färbung und Planimetrie	20
2.2.7	Materialien im Labor	21
2.3	Statistische Analyse	23
2.3.1	Stichproben-Berechnung.....	23
2.3.2	Statistischer Ansatz.....	23
3	Ergebnisse	24
3.1	Eigenschaften der Patienten.....	24
3.2	Eigenschaften der Versuchstiere	25
3.3	Infarktgrößen	26
3.4	Kardiale Funktion	27
4	Diskussion	28
4.1	Diskussion der Methodik	28
4.1.1	Klinischer Teil.....	28
4.1.2	Experimenteller Teil.....	28
4.2	Diskussion der Ergebnisse.....	30

4.2.1	Einfluss des Anästhesieverfahrens	30
4.2.2	Einfluss des Patientenalters	31
4.2.3	Einfluss einer Diabetes mellitus Erkrankung	33
4.2.4	Einfluss durch Komorbiditäten und Medikation	36
4.3	Schlussfolgerungen	38
4.4	Limitierungen der Studie	38
4.5	Ausblick/Einordnung.....	39
	Literatur- und Quellenverzeichnis	40
	Anhang.....	47
	Abbildungsverzeichnis	47
	Tabellenverzeichnis.....	47
	Danksagung	

1 Einleitung

1.1 Die koronare Herzkrankheit

Wie bereits in den Vorjahren waren Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems laut dem Statistischen Bundesamt im Jahr 2024 erneut die führende Todesursache in Deutschland und für etwa ein Drittel aller Todesfälle verantwortlich (339 212 Todesfälle von insgesamt 1,01 Millionen) [1]. Auch weltweit spiegeln sich diese Verhältnisse wider, denn so gibt die Weltgesundheitsorganisation im Jahr 2022 weltweit über 19 Millionen Todesfälle durch Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems an, etwa 32% aller Todesfälle [2]. Die ischämische Herzkrankheit ist seit dem Jahr 2000 wiederholt die häufigste Todesursache global [3].

Die Prävalenz der ischämischen Herzkrankheit, auch koronare Herzkrankheit (KHK) genannt, steigt dabei überproportional mit dem Alter. So liegt die 12-Monats-Prävalenz in Deutschland in der Altersgruppe ab 75 Jahren für Frauen bei bis zu 16 % und bei Männern bei circa 24 % [4]. Neben dem Alter ist das Vorkommen einer KHK insbesondere mit dem sozioökonomischen Status assoziiert [5]. Insgesamt betrachtet hat sich das kardiometabolische Risikoprofil der deutschen Bevölkerung in den letzten Jahrzehnten verbessert [6], wodurch zwar die Inzidenz und Mortalität der KHK in Deutschland abnehmen, der demographische Wandel und ein längeres Überleben mit der Erkrankung sorgen dennoch für eine anhaltend hohe Prävalenz [4]. Daher stellt die KHK eine der relevantesten Volkskrankheiten in Deutschland dar [7].

Die Bedeutung dieser hohen Prävalenz zeigt sich auch im perioperativen Management. In den westlichen Industrienationen nimmt die Zahl operativer Eingriffe bei älteren Patienten stetig zu. Dies führt zu einer Zunahme operativer Behandlungen bei Patienten mit relevanten Vorerkrankungen wie der KHK, wobei ein adäquater Umgang mit diesen Erkrankungen essenziell ist, um das perioperative Risiko zu minimieren [8].

Neben den genannten gesundheitlichen Risiken durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen kommt dieser Erkrankungsgruppe auch eine erhebliche wirtschaftliche Relevanz zu. Im Jahr 2023 beliefen sich die Kosten für Krankheiten des Kreislaufsystems in Deutschland auf 64,6 Milliarden Euro und stellten damit 13,1 % der gesamten Krankheitskosten dar. Keine andere Erkrankungsgruppe war gesamtgesellschaftlich so teuer [9]. Und dies ist kein neuer Trend. Bereits 2006 waren Herz-Kreislauf-Erkrankungen die kostenintensivste Erkrankungsgruppe mit 14,9 % der gesamten Krankheitskosten, damals allerdings noch mit deutlich geringeren Kosten von 35,2 Milliarden Euro [10].

All diese Faktoren unterstreichen die hohe Relevanz von Prävention und Schutzmaßnahmen bei kardiovaskulär vorerkrankten Patienten im klinischen Alltag. Der Forschung an protektiven und therapeutischen Strategien für Patienten mit einer KHK kommt somit eine große Bedeutung zu.

Die Erforschung dieser Strategien orientiert sich an der Pathophysiologie der Erkrankung. Die KHK wird durch atherosklerosebedingte Verengungen der Koronararterien verursacht. Mit fortschreitender Stenosierung kann es zu einer unzureichenden Durchblutung des Myokards kommen, was zu einem Missverhältnis zwischen dem Sauerstoffangebot und -bedarf führt,

der sogenannten Koronarinsuffizienz. Die klinische Manifestation dieser Erkrankung ist die *Angina pectoris*. Es wird zwischen der chronischen KHK, auch als chronisches Koronarsyndrom bezeichnet, und dem akuten Koronarsyndrom (ACS) unterschieden, wobei letzteres ein akut lebensbedrohliches Ereignis darstellt [7].

Bei einem ACS kommt es zu einer plötzlichen Reduktion der koronaren Perfusion, was eine Ischämie der Kardiomyozyten nach sich zieht. Diese Ischämie kann zum Tod der Kardiomyozyten führen. Daher ist eine schnellstmögliche Reperfusion zur Wiederherstellung der Sauerstoffversorgung der Kardiomyozyten das wichtigste therapeutische Ziel [11, 12].

Jedoch trägt mit zunehmender Ischämiezeit auch die Reperfusion zur Nekrose der Kardiomyozyten bei, was als Ischämie-Reperfusionsschaden (I-/R-Schaden) bezeichnet wird [13]. Die Erforschung protektiver Mechanismen gegen den bei der Reperfusion entstehenden Schaden ist von hoher Relevanz zur Verbesserung der Langzeitergebnisse und rückt zunehmend in den Fokus der klinischen Forschung.

1.2 Ischämie-Reperfusionsschaden

Bereits 1960 beschrieben Jennings et al. die Rolle der Reperfusion bei der Entstehung von postischämischen Nekrosen [14]. Demnach ist nicht nur die Ischämie für die folgende Nekrose verantwortlich, das Ausmaß des zellulären Schadens wird auch durch die Reperfusion verstärkt [13-15].

Dem pathophysiologischen Mechanismus dieses I-/R-Schadens liegt ein veränderter Zellstoffwechsel zugrunde (siehe Abbildung 1). Betrachtet man das Herz, so werden bei Ausbleiben der myokardialen Durchblutung die Kardiomyozyten ischämisch. Der anaerobe Stoffwechsel löst den aeroben ab, es kommt zu einem Absinken des pH-Werts [16] und einer Calcium (Ca^{2+})-Akkumulation [17]. Im Rahmen der Reperfusion spielt vor allem oxidativer Stress, hervorgerufen durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), eine zentrale Rolle bei der Entstehung des I-/R-Schadens [18].

Kardiomyozyten sind für ihren hohen Energiebedarf auf Sauerstoff angewiesen. Um das Sauerstoffangebot aufrecht zu erhalten, können die Koronararterien durch Dilatation ihren Blutfluss um das Drei- bis Fünffache ihres Ruheflusses steigern [19]. Kommt es dennoch zu einer Koronarinsuffizienz, ist das Herz aufgrund seiner fehlenden Möglichkeiten zur ausreichenden anaeroben Energiegewinnung gegenüber einer Ischämie sehr vulnerabel [19]. So nimmt die kardiale Funktion bereits nach wenigen Minuten der Ischämie ab [20].

Folgen der Ischämie und des damit verbundenen Stillliegens der Atmungskette, des aeroben Stoffwechsels, sind ein Mangel an Adenosintriphosphat (ATP) [20] und ein vermehrter anaerober Stoffwechsel, verbunden mit einer Akkumulation von Lactat. Das saure Lactat sorgt für eine Reduktion des pH < 7 [21]. Als Reaktion auf diese Azidose werden aus der Zelle Protonen (H^+) im Austausch gegen Natrium (Na^+) ausgeschleust [19]. Die Folge ist eine intrazelluläre Akkumulation von Na^+ . Diese Na^+ -Erhöhung wird zusätzlich durch die ausbleibende Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase verstärkt, die aufgrund des ATP-Mangels kein Na^+ mehr aus der Zelle transportieren kann. Die stark erhöhte Na^+ -Konzentration bewirkt eine Umkehr des Na^+ -

Ca^{2+} -Antiporters, Na^+ wird nun durch ihn aus der Zelle hinaus und Ca^{2+} in die Zelle hineingeschleust. Anstelle des Na^+ akkumuliert nun Ca^{2+} intrazellulär [21].

Der Hypoxie-induzierte Stress bewirkt außerdem eine Umwandlung der Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD) -reduzierenden Xanthin-Dehydrogenase. Stattdessen wirkt sie nun als Sauerstoff (O_2) -Radikal-produzierende Xanthin-Oxidase [22].

Kommt es nun zur Reperfusion, starten die aeroben Stoffwechselprozesse wieder umgehend. Der zuvor saure pH erreicht dadurch rasch wieder Normwerte [16]. Der oxidative Stress allerdings nimmt deutlich zu. Die Xanthin-Oxidase hat nun das nötige O_2 als Substrat vorliegen und bildet verschiedene ROS (Superoxidanionen (O_2^-) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2)) [22]. ROS schädigen die Kardiomyozyten indem sie eine Dysfunktion des sarkoplasmatischen Retikulums hervorrufen, wodurch noch mehr Ca^{2+} in den Intrazellularraum ausgeschüttet wird. Zudem wird die Zellmembran durch eine Lipidoxidation verletzt und ROS locken chemotaktisch Granulozyten an, welche durch die Freisetzung von Superoxiden und Proteasen zusätzlich schädlich wirken. Neben Enzymdenaturierung und direkten oxidativen Schäden der Desoxyribonukleinsäure (DNS) [23] bewirken ROS, unterstützt durch die hohe Ca^{2+} -Konzentration, eine Öffnung der mitochondrialen Permeabilitäts-Transitions-Poren (mPTP) [24].

Diese Poren in der inneren Mitochondrienmembran lassen nun unselektiv Proteine bis zu einem Molekulargewicht von 1500 kD passieren. Das mitochondriale Membranpotential geht verloren und, dem osmotischen Gradienten folgend, strömt Wasser ein. Das Mitochondrium schwillt an und es kommt zur Ruptur. Proapoptotische Faktoren gelangen ins Zytoplasma, sowie zusätzliches Ca^{2+} [25].

Parallel sorgt die Wiederherstellung der aeroben Stoffwechselprozesse zu einer Reenergetisierung der Zelle. ATP steht wieder zur Verfügung und gemeinsam mit der hohen intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration sorgt dies für einer Hyperkontraktur der Kardiomyozyten. Es kommt zu einer irreversiblen Zellverkürzung, das Zytoskelett wird nachhaltig beschädigt. Auch benachbarte Zellen können durch diesen Prozess beeinträchtigt werden und es kommt zu Nekrosen [17].

Gemeinsam führen die erläuterten Vorgänge zu einem irreversiblen Zellschaden im Myokard. Dabei trägt neben der Ischämie auch die Reperfusion maßgeblich zum Umfang der Gewebeschädigung bei.

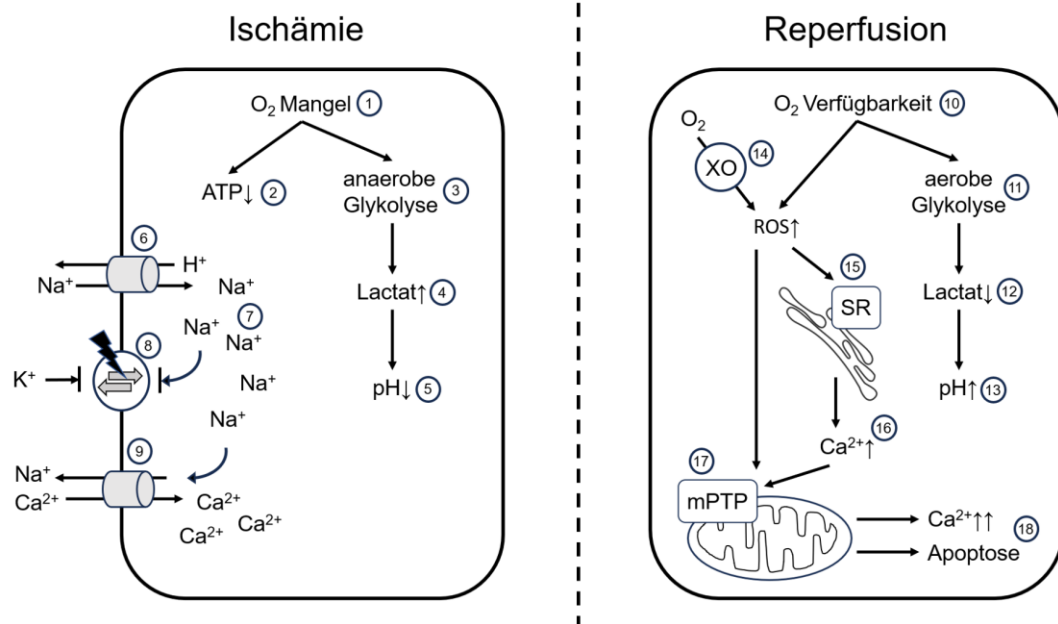


Abb. 1: Ischämie und Reperfusion

Vereinfachte Darstellung intrazellulärer Prozesse von Kardiomyozyten während einer Ischämie (links) und darauf folgender Reperfusion (rechts). **Ischämie:** Es entsteht ein intrazellulärer O₂-Mangel (1), wodurch der aerobe Stoffwechsel ausfällt. Infolgedessen sinkt die ATP Konzentration (2) und über anaerobe Glykolyse (3) entsteht vermehrt Lactat (4). Dieses sorgt für ein saures Milieu, der pH sinkt (5). Zum Ausgleich werden H⁺ aus der Zelle geschleust (6), im Austausch gelangt vermehrt Na⁺ nach intrazellulär (7). Die Na⁺-K⁺-ATPase kann ohne ATP kein Na⁺ nach extrazellulär befördern (8). Der Na⁺-Ca²⁺-Antiporter wechselt seine Richtung und schleust Ca²⁺ in die Zelle (9). Es kommt zu einem deutlichen Anstieg des intrazellulären Ca²⁺. **Reperfusion:** O₂ ist wieder verfügbar (10) und die aerobe Glykolyse (11) startet und produziert ATP. Lactat wird rasch abgebaut (12) und der pH steigt (13). Die Xanthin-Oxidase produziert aus dem nun vorliegenden O₂ ROS (14). ROS stören die Funktion des sarkoplasmatischen Retikulums (15) und Ca²⁺ gelangt vermehrt in das Zytoplasma (16). Die mPTP öffnet sich (17) und das Mitochondrium rupturiert. Noch mehr Ca²⁺ strömt aus dem Mitochondrium in das Zytoplasma, sowie proapoptotische Faktoren (18). Durch das intrazellulär akkumulierende Ca²⁺ und das wieder verfügbare ATP kommt es zu einer Hyperkontraktur der Zelle, welche zusätzlich das Zytoskelett und den Zellverband beeinträchtigt. Die Zelle wird irreversibel geschädigt und stirbt ab. ATP = Adenosintriphosphat, Ca²⁺ = Calcium, H⁺ = Protonen, K⁺ = Kalium, mPTP = mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore, Na⁺ = Natrium, O₂ = Sauerstoff, pH = *potentia hydrogenii*, ROS = reaktive Sauerstoffspezies, SR = sarkoplasmatisches Retikulum, XO = Xanthin-Oxidase.

1.3 Ischämische Präkonditionierung

Bei einer ischämischen Präkonditionierung (*ischemic preconditioning* = IPC) werden in einem Gewebe repetitiv subletale Ischämien hervorgerufen, unterbrochen von Phasen der Reperfusion. Folgt auf diese IPC eine ausgeprägte Ischämie, nimmt das Gewebe nachfolgend weniger Schaden. Murry et al. konnten 1986 diesen Effekt in einen Hundeversuch nachweisen, indem sie eine Koronararterie einem Zyklus von vier fünfminütigen Ischämien, jeweils gefolgt von einer fünfminütigen Reperfusions-Phase, aussetzten. Die danach induzierte 40-minütige Ischämie der gleichen Koronararterie bewirkte in dem vorkonditionierten Gewebe im Vergleich zur Kontrolle einen geringeren Schaden der Kardiomyozyten im Stromgebiet der Ischämie [26].

Der protektive Effekt von IPC konnte daraufhin in diversen Tierexperimenten reproduziert werden (Kaninchen [27], Schwein [28], Ratte [29]) und ließ sich auch an anderen Geweben als dem Herzen nachweisen (Lunge [30], Niere [31], Skelettmuskulatur [32], Leber [33], Gehirn [34], Gastrointestinaltrakt [35]).

Die erste Studie zu IPC an menschlichem Myokard erfolgte durch Yellon et al. Während einer koronaren Bypass Operation führten sie eine IPC-Intervention durch. Anhand von Gewebeproben beobachteten sie einen gesteigerten ATP-Gehalt, was sie als Hinweis auf eine erhöhte Widerstandsfähigkeit des Myokards gegenüber ischämischem Stress interpretierten [36].

Die Umsetzung dieser Erkenntnisse in weiteren klinischen Studien oder als therapeutischer Ansatz stellt sich aufgrund der hohen Invasivität der Intervention als schwierig dar. Ein Zugang zu Koronararterien oder der Aorta muss bestehen, sodass eine IPC nur im Rahmen einer perkutanen Koronarintervention oder bei Herzoperationen erfolgen kann. Zudem kann es zur iatrogenen Erosion arteriosklerotischer Plaques kommen, welche zu Mikroinfarkten mit entzündlichen Reaktionen und einer myokardialen Dysfunktion führen können [37].

Dass die ischämische Präkonditionierung nicht nur protektiv auf das vorkonditionierte Gewebe, sondern auch auf von der Präkonditionierung entferntes Gewebe wirkt, wurde von Przyklenk et al. 1993, ebenfalls an einem Hundemodell, belegt. Sie zeigten, dass durch eine IPC-Intervention am *Ramus circumflexus* auch das Gewebe im Stromgebiet des *Ramus interventricularis anterior* vor den Folgen einer Ischämie geschützt wurde. Diese Ergebnisse interpretierten sie so, dass der kardioprotektive Effekt der IPC durch Faktoren vermittelt wird, welche im Herzen aktiviert, produziert oder transportiert werden [38]. Dieser Effekt wird als ischämische Fernpräkonditionierung (*remote ischemic preconditioning* = RIPC) bezeichnet. Bei Wahl eines gut erreichbaren Gewebes zur Vorkonditionierung, wie beispielsweise einer Extremität, ist die Invasivität reduziert und so die Anwendung von IPC deutlich vereinfacht.

Die zugrunde liegenden Mechanismen der kardioprotektiven Wirkung durch RIPC sind bislang nicht vollständig aufgeklärt, allerdings werden neuronale, als auch humorale Faktoren diskutiert [39, 40].

In einer experimentellen Tierstudie konnten Lim et al. Hinweise auf eine kombinierte humorale und neuronale Signalvermittlung erbringen [41]. Sie führten eine RIPC-Intervention am

Hinterbein von Mäusen durch, gefolgt von einer induzierten myokardialen Ischämie mit anschließender Reperfusion. Dabei zeigte sich eine signifikante Reduktion der Infarktgröße im Myokard der RIPC-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Wurde hingegen die *Vena femoralis* vor der Intervention verschlossen oder der *Nervus femoralis* und *Nervus ischiadicus* durchtrennt, konnte kein protektiver Effekt beobachtet werden. Aus diesen Befunden schlussfolgern Lim et al., dass der durch RIPC vermittelte kardioprotektive Effekt sowohl über humorale Faktoren im Blutkreislauf als auch über neuronale Signalwege vom Organ des konditionierenden Stimulus bis zum Zielorgan übertragen wird [41].

Donato et al. konnten ebenfalls eine Abhängigkeit des kardioprotektiven Effekts durch RIPC von neuronalen Signalwegen detektieren. Neben der Unterbrechung afferenter Nervenfasern (*Nervus femoralis*, *Nervus ischiadicus* und das Rückenmark) wiesen sie den *Nervus vagus* als wichtigen efferenten Schenkel der Signaltransduktion nach [42].

Im Kontext der humoralen Signalvermittlung konnte in zahlreichen Studien gezeigt werden, dass die Übertragung von Blut oder Plasma eines Organismus nach Durchführung einer RIPC-Intervention auf ein zuvor unbehandeltes (RIPC-naives) Herz einen signifikanten kardioprotektiven Effekt induziert [43, 44]. Als mögliche humorale Faktoren wurden verschiedene Mediatoren identifiziert, unter anderem Adenosin [45], Hitzeschockproteine [45], endogene Opioidpeptide [45], Interleukin 10 [45], Erythropoetin [45] und Bradykinin [46]. Der Zusammenhang der Mediatoren ist komplex und aktiviert verschiedene zelluläre Signalwege.

Die wichtigsten hier zu nennenden Signalwege sind der *Reperfusion-injury-salvage-kinase*-Signalweg (RISK-Signalweg) und der *Survivor-activating-factor-enhancement*-Signalweg (SAFE-Signalweg) [47]. Über beide Signalwege wird die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP vermindert und somit auch die Wahrscheinlichkeit für einen letalen Zellschaden [47]. Zudem kommt es auch zu einer durch Stickstoffmonoxid (NO) und Proteinkinase G (PKG) vermittelten Signaltransduktion [48] (siehe Abbildung 2).

Der RISK-Signalweg wird über einen G-Protein gekoppelten Rezeptor induziert. Dieser aktiviert in Folge die *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) und die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K). Die PI3K aktiviert dann die *pyruvate dehydrogenase kinase* (PDK) und Protein Kinase B (Akt). Als gemeinsamer Endpunkt der durch ERK und PI3K aktivierten Signalkaskaden gilt die Phosphorylierung der Glykogensynthasekinase-3 β (GSK3 β). Die GSK3 β liegt daraufhin inaktiv vor und inhibiert in dieser inaktiven Form eine Öffnung der mPTP [49].

Der SAFE-Signalweg wird über den Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) aktiviert. Über den TNF-Typ-2-Rezeptor werden Januskinasen (JAK) phosphoryliert und in Folge auch *signal transducers and activators of transcription* (STAT), welche dadurch aktiviert sind und ihre regulierende Wirkung auf mPTP entfalten können [47].

Die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) bildet vermehrt NO, welches auf die PKG aktivierend wirkt. Die PKG wirkt über verschiedene Mechanismen ebenfalls inhibierend auf die Öffnung der mPTP. Die über den RISK-Signalweg aktivierten Moleküle PI3K und Akt scheinen unter anderem einen stimulierenden Einfluss auf die eNOS zu haben [48].

RIPC stellt daher eine Möglichkeit der Kardioprotektion dar, indem es in die in Kapitel 1.2 genannten Prozesse zur Entstehung des I-/R-Schadens eingreift [47]. Die zuvor beschriebene, potenziell letale Öffnung der mPTP wird verhindert, wodurch der zytoprotektive Mechanismus von RIPC nachvollzogen werden kann.

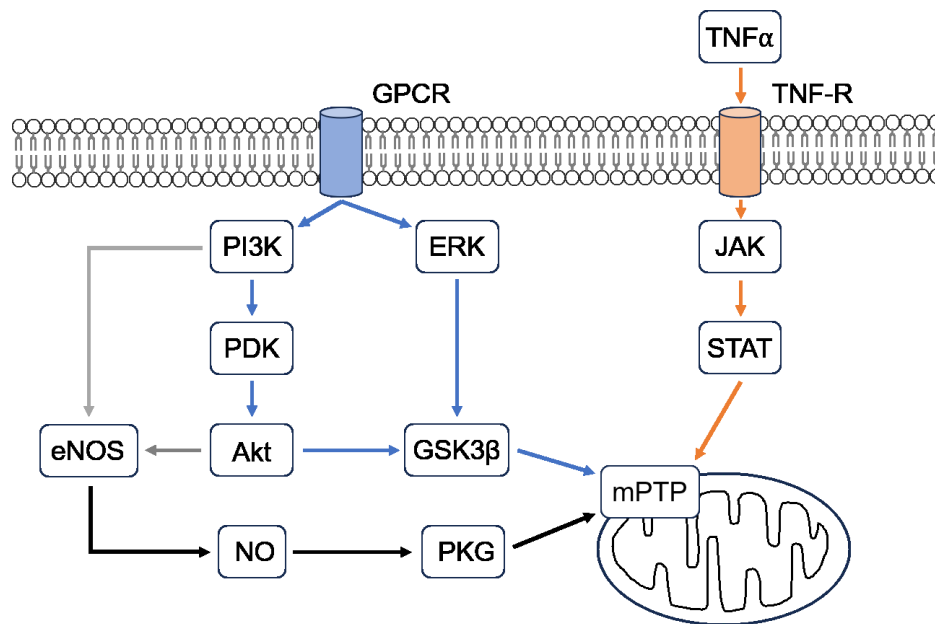


Abb. 2: Kardioprotektive Signalwege

Vereinfachte Darstellung bekannter Signalwege über welche RIPC einen kardioprotektiven Effekt vermittelt. RISK-Signalweg in blau, SAFE-Signalweg in orange, eNOS vermittelte Signaltransduktion in schwarz, Querverbindungen in grau. Akt = Protein Kinase B, eNOS = endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, ERK = *extracellular signal-regulated kinase*, GPCR = G-Protein-gekoppelter Rezeptor, GSK3β = Glykogensynthasekinase-3 β, JAK = Januskinase, mPTP = mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Pore, PDK = *pyruvate dehydrogenase kinase*, PI3K = Phosphatidylinositol-3-Kinase, PKG = Proteinkinase G, RIPC = *remote ischemic preconditioning*, RISK-Signalweg = *Reperfusion-injury-salvage-kinase*-Signalweg, SAFE-Signalweg = *Survivor-activating-factor-enhancement*-Signalweg, STAT = *signal transducers and activators of transcription*, NO = Stickstoffmonoxid, TNF-α = Tumornekrosefaktor-α, TNF-R = Tumornekrosefaktor-Typ-2-Rezeptor.

1.4 Mangelnde Übertragbarkeit von RIPC in die Klinik

In experimentellen Studien an Tieren können bereits seit Jahrzehnten deutlich kardioprotektive Effekte durch IPC und RIPC erreicht werden [26, 38, 50-56]. Murry et al. konnten 1986 die Infarktgröße der anatomischen *area of risk* durch IPC auf ca. 25 % der Infarktgrößen der Kontrollgruppe reduzieren [26]. Ähnlich deutliche Ergebnisse erzielten Przyklenk et al. in seiner oben beschriebenen Arbeit zu RIPC (Infarktgrößen: Kontrolle 16 ± 5 %, RIPC 6 ± 2 %) [38].

Da eine IPC-Intervention direkt an dem Gefäß durchgeführt wird, welches das zu schützende Stromgebiet versorgt, stellt es einen deutlich invasiveren Eingriff dar. Somit ist die IPC für den klinischen Einsatz nur bedingt geeignet. RIPC hingegen könnte eine einfacher umsetzbare, komplikationsärmere und vergleichsweise kostengünstige Alternative sein.

In klinischen Studien, in der Regel an kardiochirurgischen Patienten im perioperativen Setting durchgeführt, konnte RIPC bisher allerdings nicht diese eindeutigen Ergebnisse erreichen [57-60]. Die aktuelle Studienlage bleibt uneinheitlich, teilweise wird eine Reduktion von Herzenzymen, ein verbessertes Outcome oder ein geringerer postoperativer Bedarf an inotropen Medikamenten beschrieben [61-65]. Andere Studien widersprechen diesen Ergebnissen [57-60].

Zwei wichtige Studien in diesem Kontext stellen ERICCA [66] und RIPHeart [67-69] dar. In diesen randomisierten, kontrollierten, doppelblinden, multizentrischen Studien wurden jeweils >1000 kardiochirurgische Patienten nach einer RIPC-Intervention oder als Kontrolle untersucht. Als kombinierter primärer Endpunkt wurde in der ERICCA Studie die Rate schwerwiegender kardialer und zerebraler Ereignisse, darunter kardiovaskuläre Todesfälle, Myokardinfarkte, koronare Revaskularisationen und Schlaganfälle innerhalb von 12 Monaten nach der Randomisierung festgelegt [66]. Der kombinierte primäre Endpunkt der RIPHeart Studie war das Patienten-*Outcome* (Gesamtmortalität, nicht tödlicher Myokardinfarkt, jeder neue Schlaganfall und/oder akutes Nierenversagen) bis zur Entlassung aus dem Krankenhaus [67, 68]. Im *Follow up* wurden ebenfalls die Gesamtmortalität, Myokardinfarkte, Schlaganfälle und akutes Nierenversagen innerhalb von 12 Monaten untersucht [69]. In beiden Studien konnten keine Verbesserungen der primären Endpunkte der RIPC-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe festgestellt werden. Als Ursache für das Ausbleiben eines Effektes durch RIPC wird unter anderem die Verwendung von Propofol diskutiert. Die RIPC-Intervention wurde in beiden Studien in nahezu allen Fällen während einer Narkose mit Propofol durchgeführt.

Damit im Einklang stehen die Ergebnisse von Kottenberg et al., welche in einer klinischen Studie aus dem Jahr 2012 die Troponin-Spiegel von Patienten nach einer kardiochirurgischen Bypassoperation mit Propofol- und Isofluran-Anästhesie verglich. In der Isofluran-Gruppe konnte nach Anwendung von RIPC eine Verminderung des Serum-Troponins beobachtet werden, während es in der Propofol-Gruppe zu keiner Änderung im Vergleich zur Kontrolle kam [70].

In einer weiteren experimentellen Studie konnte gezeigt werden, dass Propofol nicht nur einen Abfall des Troponin-Levels, sondern auch eine Infarktgrößenreduktion durch RIPC verhindert. Untersucht wurden Ratten, die in drei Gruppen verschiedene Narkosemittel erhielten bei ansonsten gleicher Behandlung. Nach einer RIPC-Intervention mit darauf folgender Ischämie am Herz wurden die Infarktgrößen des Herzens bestimmt. Bei Ratten unter Propofol-

Narkose konnte keine Infarktgrößenreduktion beobachtet werden, während sie bei einer Narkose mit Pentobarbital oder Sevofluran eindeutig detektierbar war [50]. In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe konnte nachgewiesen werden, dass Propofol die Ausschüttung der kardioprotektiven humoralen Faktoren verhindert. Bei ähnlichem Versuchsaufbau wurde den Ratten je vor und nach der RIPC-Intervention Blut entnommen und das Plasma nun an naiven Rattenherzen an der Langendorff-Anlage getestet. Das RIPC-Plasma konnte im Vergleich zur Kontrolle eine Infarktgrößenreduktion erzielen, allerdings erneut nicht das RIPC-Plasma, welches bei der Ratte in Propofol Narkose entnommen wurde. Dagegen konnte das RIPC-Plasma der Ratten ohne Propofol Narkose auch bei jenen Rattenherzen an der Langendorff-Anlage die Infarktgröße reduzieren, welche vorher mit Propofol perfundiert wurden. Somit scheint Propofol nicht die Wirkung der humoralen Faktoren am Herzen zu verhindern, sondern die vorherige Ausschüttung zu unterbinden [51].

Einen weiteren, für diese Arbeit wichtigen, möglichen Störfaktor bei der Wirkung von RIPC stellt eine Diabetes mellitus (DM) Erkrankung dar. So suggeriert schon eine Studie aus dem Jahr 2000, dass durch eine diabetische Stoffwechsellage der Effekt von RIPC aufgehoben werden könnte [71].

Neben der Wahl des Anästhesie-Verfahrens und dem Vorliegen von Begleiterkrankungen werden auch ein fortgeschrittenes Alter und das Geschlecht als Störfaktoren diskutiert [52, 53].

Die Toleranz des weiblichen Herzens gegenüber I-/R-Schäden ist in Studien höher als die des männlichen Herzens [72, 73]. So besteht beispielsweise Östrogen-vermittelt eine reduzierte Bildung von ROS [74]. Die derzeitige Studienlage, ob auch im weiblichen Herzen durch IPC eine zusätzliche Kardioprotektion erzielt werden kann, ist jedoch uneinheitlich [53, 72].

1.5 Ziele der Arbeit

In dieser Arbeit sollen folgende Fragen adressiert werden:

1. Kann humanes Plasma kardiochirurgischer Bypass-Patienten unter Propofol-freier Anästhesie nach einer RIPC-Intervention einen kardioprotektiven Effekt an isolierten Rattenherzen hervorrufen?
2. Vermindert das parallele Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ II den potentiellen kardioprotektiven Effekt bei dieser Patientengruppe?

Hierfür wurde bei 20 kardiochirurgischen Bypass-Patienten, davon 10 mit einem DM Typ II, während einer Propofol-freien Narkose eine RIPC- oder eine Schein-Intervention durchgeführt. Das gewonnene Plasma wurde daraufhin an den isolierten Herzen von 20 männlichen Wistar-Ratten in einer Langendorff-Anlage auf seinen Einfluss auf die postischämische Infarktgröße untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Klinischer Teil

2.1.1 Patientenauswahl

Für die vorliegende Studie wurden ausschließlich Patienten rekrutiert, welche sich mit einer therapiebedürftigen Zwei- oder Drei-Gefäß-KHK zur elektiven koronaren Bypass-Operation zwischen dem 01.04.2021 und 31.06.2021 in der Klinik für Herzchirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf vorstellten. Die Aufklärung und Zustimmung, dokumentiert durch eine schriftliche Einwilligungserklärung, erfolgte mindestens ein bis zwei Tage vor der Operation.

Ein positives Votum zur Durchführung der Studie durch die Ethikkommission an der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf wurde am 28.08.2020 unter der Studien-Nr.: 2019-572 erteilt.

Die Hälfte der teilnehmenden Patienten hatte einen vordiagnostizierten DM Typ II. Aufgrund der hohen Prävalenz dieser Erkrankung in der Gesamtbevölkerung [75] sowie der explizit häufigen Komorbidität bei Patienten mit einer KHK [76] entschieden wir uns für eine zusätzliche Untersuchungsgruppe. Auch ist ein möglicher negativer Effekt von DM auf die Kardioprotektion durch RIPC-Interventionen ausführlich vorbeschrieben [56].

Patienten mit einem Sulfonylharnstoff als antidiabetische Dauermedikation wurden aus der Studie exkludiert. Der Grund hierfür ist, dass Sulfonylharnstoffe bereits seit längerem in Diskussion stehen, ein nachteiliges kardiovaskuläres Risikoprofil aufzuweisen [77, 78]. Um in dieser Studie einen möglichen Störfaktor durch einen negativen Einfluss von Sulfonylharnstoffen auf den kardioprotektiven Effekt einer RIPC-Intervention sicher ausschließen zu können, wurden nur Patienten ohne diese Medikation untersucht.

Ebenso entschieden wir ausschließlich männliche Patienten zu betrachten, da effektverändernde Einflüsse durch das weibliche Geschlecht vermutet werden [53].

Des Weiteren wurden keine Patienten mit bereits einliegendem Herzunterstützungssystem eingeschlossen, um eine homogenere Patientengruppe zu ermöglichen.

Die genauen Ein- und Ausschlusskriterien sind in Tabelle 1 einsehbar.

Einschlusskriterien
• Schriftliches Einverständnis des Probanden zur Teilnahme • Indikation zur Durchführung einer aortokoronaren Bypass-Operation mit oder ohne Herz-Lungenmaschine bei koronarer Herzerkrankung, in Kombination mit einem Klappenersatz oder ohne • Diabetes mellitus Typ II Gruppe: Diagnose eines insulinpflichtigen Diabetes mellitus Typ II oder Therapie mit einem oder mehreren oralen Antidiabetika (außer Sulfonylharnstoffe) • Nicht Diabetes mellitus Typ II Gruppe: keine Diabetes-Diagnose • Voll funktionsfähige obere Extremitäten
Ausschlusskriterien
• Fehlendes Einverständnis • Mangelnde Geschäftsfähigkeit, z.B. durch psychische Erkrankung • Alter <18 Jahre • Vorbestehende Nervenschädigung an einem der Arme • Thromboembolisches Ereignis an einem der Arme • Notfalloperation • Re-Operation • Bereits einliegendes Herzunterstützungssystem (Impella, ECLS, IABP) • Einnahme von Sulfonylharnstoffen als Dauermedikation

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien bei der Patientenauswahl

ECLS = *Extracorporeal life support*, IABP = *Intraaortale Ballonpumpe*

2.1.2 RIPC am Patienten

RIPC wurde unmittelbar nach der Narkoseeinleitung kurz vor Beginn der chirurgischen Maßnahmen durchgeführt. Die Anästhesieeinleitung erfolgte mit Etomidat, Sufentanil und Rocuronium. Für die Aufrechterhaltung wurde eine Kombination aus den volatilen Anästhetika Sevofluran oder Desfluran und den Opioiden Sufentanil oder Remifentanil appliziert. Durch die Verwendung von Etomidat konnte eine Propofol-freie Anästhesie sichergestellt werden. Auch auf Einzelgaben von Propofol wurde verzichtet, um einen möglichen Einfluss auf RIPC auszuschließen.

Es wurden zwei Gruppen gebildet, eine Interventionsgruppe und eine Kontrollgruppe, bei welcher eine Schein-Intervention durchgeführt wurde. Die Gruppenzuteilung erfolgte nach dem Zufallsprinzip.

Bei der Interventionsgruppe erfolgte eine RIPC-Intervention nach folgendem Schema. Die Intervention umfasste drei Zyklen. Jeder Zyklus bestand aus einer fünfminütigen Ischämie-Phase, gefolgt von einer ebenfalls fünfminütigen Reperfusion-Phase. Das RIPC-Protokoll ist in Abbildung 3 dargestellt. Die Ischämie wurde am linken Arm des Patienten durch eine herkömmliche Blutdruckmanschette herbeigeführt. Diese war während der Ischämie-Phasen auf 200 mmHg oder mindestens 20 mmHg suprasystolisch aufgepumpt, um eine permanente Ischämie zu gewährleisten. Während der Reperfusion-Phasen war die Manschette nicht aufgepumpt und somit eine reguläre Perfusion des Arms gegeben.

Bei der Kontrollgruppe wurde ein Scheinintervention durchgeführt. Eine herkömmliche Blutdruckmanschette wurden den Patienten vor Narkoseeinleitung an den linken Arm angelegt, diese allerdings nicht aufgepumpt.

Die Blutabnahme erfolgte nach der insgesamt 30-minütigen Intervention in der Interventionsgruppe, bzw. 30 Minuten nach der Narkoseeinleitung in der Kontrollgruppe. Die Abnahme wurde über den einliegenden arteriellen Zugang der rechten *Arteria radialis* mit einer 20 ml Spritze durchgeführt. Aus dieser wurde das Blut mittels einer sterilen Kanüle in sieben 3 ml EDTA Röhrchen gespritzt. Das Plasma wurde im Anschluss für 10 Minuten bei 4 °C und einer relativen Zentrifugalkraft von 800 g zentrifugiert und in Falcon Zentrifugenröhrchen pipettiert. Diese wurden zunächst bei -28 °C und im Verlauf bei -80 °C eingefroren.

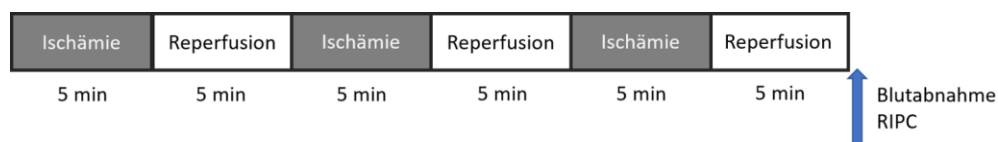


Abb. 3: RIPC Protokoll

min = Minuten; RIPC = *remote ischemic preconditioning*.

2.1.3 Materialien in der Klinik

Name	Produktbezeichnung	Hersteller
Medikamente		
Etomidat	Etomidat-®Lipuro	B. Braun Melsungen AG, Deutschland
Sufentanil	Sufenta® mite	Piramal Critical Care Deutschland GmbH
Remifentanil	Remifentanil-hameln	hameln pharma GmbH, Deutschland
Rocuronium	ROCuroniumbromid Kabi	Fresenius Kabi Deutschland GmbH
Sevofluran	Sevorane®	AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG
Desfluran	Suprane®	Baxter Deutschland GmbH
Verbrauchsmaterial		
EDTA Blutabnahmeröhrchen	BD Vacutainer® EDTA-Röhrchen 3 ml	BD, Heidelberg, Deutschland
20 ml Einmalspritze	Omnifix® Luer Lock Solo 20 ml	B. Braun Melsungen AG, Deutschland
Sicherheitsaufziehkanüle	BD Blunt Fill Needle	BD, Heidelberg, Deutschland
Arterienpunktionsmaterialien	Leader-Cath Arterienkatheter	Vygon GmbH & Co.KG - Medizintechnik, Aachen, Deutschland
Druckaufnahme Set mit Schlauchsystem	PiCCO Monitoring Kit PV8215-2	Getinge, Schweden
Falcon	Schraubröhre, 15 ml	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitzen	1,000 µl graduated TipOne® Tip	STARLAB International GmbH, Hamburg, Deutschland
Geräte		
Zentrifuge	ROTINA 420R	Andreas Hettich GmbH & Co. KG; Tuttlingen, Deutschland
Pipette	Research plus Einkanalpipette, 100-1000 µl, VB-0754	Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland
Blutdruckmanschette	FlexiPort® Reusable Blood Pressure Cuffs	Welch Allyn, Inc., New York, USA

Tabelle 2: Materialien in der Klinik

µl = Mikroliter; ml = Milliliter

2.2 Experimenteller Teil

2.2.1 Das isolierte Herz nach Langendorff

1895 veröffentlichte Oscar Langendorff sein Modell eines isoliert perfundierten Herzens eines Säugetiers, welches über Stunden nach Entnahme weiter schlug. Er setzte die Gefäße herznah ab und kanülierte ausschließlich den Aortenstumpf. Über diesen installierte er eine retrograde Perfusion mit gefiltertem, defibriniertem und erwärmtem Blut. Erfolgt die Perfusion über dem Verschlussdruck der Aortenklappe, bleibt dem Perfusat nur der Abfluss in die Coronarostien und das Myokard wird perfundiert. Auf diese Weise ist eine Betrachtung der Herzfunktion isoliert von hormonellen und nervalen Reizen möglich. Zudem bestehen kontrollierte Bedingungen, da beispielsweise Perfusionsfluss und -druck, sowie Temperatur und Perfusateigenschaften manuell eingestellt werden können. Dies ermöglicht bei Veränderung einzelner Parameter einen Rückschluss auf dessen kardiale Wirkung. Des Weiteren lässt die isolierte Aufhängung auch Spielraum für detaillierte Messungen, sodass auch kleine Veränderungen der kardialen Funktion aufgezeichnet werden können [79].

Dieses Modell ermöglichte im Verlauf neben der Erforschung der grundlegenden Herzphysiologie unter anderem auch biochemische, pharmakologische und metabolische Untersuchungen und spielt in der Forschung zu der Pathophysiologie des I-/R-Schadens und den Möglichkeiten der Kardioprotektion eine große Rolle. Das Modell wurde über die Jahre hinweg weiterentwickelt, so wird beispielsweise je nach Forschungsziel häufig kein Blut mehr für die Perfusion verwendet, sondern eine Pufferlösung mit ähnlichen chemischen Eigenschaften [80].

Für unsere Studie verwendeten wir ein modifiziertes Modell des isolierten Herzens nach Langendorff, welches in den folgenden Abschnitten näher beschrieben und illustriert wird.

2.2.2 Versuchstiere

Alle Experimente wurden in Übereinstimmung mit den Richtlinien des „*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*“, publiziert von dem *U.S. National Institute of Health (NIH publication No. 85-23, revised 1996)* durchgeführt. Die Zustimmung des lokalen Tierversuchskomitees der Universität Düsseldorf lag zu Studienbeginn vor (Projektnummer O27/12).

Es wurden Wistar Ratten im Alter von zwei bis drei Monaten verwendet. Die Versuchstiere wurden bei einem 12 Stunden Hell-Dunkel-Zyklus mit künstlicher Beleuchtung gehalten. Es bestand freier Zugang zu Standardfutter und Wasser.

2.2.3 Chirurgische Präparation

Die chirurgische Präparation der Versuchstiere umfasste das Anästhesieren, das Töten und das Resezieren des Herzens mit Anschluss an das Langendorff-System. Die Versuchstiere wurden durch eine intraperitoneale Pentobarbital-Injektion (80 mg/kg Körpergewicht) anästhesiert. Als Trägerlösung der Injektion dienten 1,8 ml einer 0,9 %igen Natriumchlorid (NaCl) -Lösung, die 5000 I.E. Heparin zur Antikoagulation enthielten. Sobald die Versuchstiere

eingeschlafen und keine Reflexe mehr auslösbar waren, wurden sie mittels Dekapitation durch eine Guillotine getötet. Direkt darauf folgte eine mediane Thorakotomie zur Resektion des Herzens mitsamt der Gefäßabgänge. Bis zum Anschluss an die Langendorff-Anlage wurde das Herz kurzzeitig in 0,9%ige NaCl-Lösung eingetaucht, um eine Luftembolie zu verhindern. Es erfolgte bei allen Rattenherzen eine rasche Präparation. So wurde stets durch eine möglichst kurze Dekapitations-Reperfusions-Zeit eine ungewollte Präkonditionierung vermieden. Sobald das Herz an die Langendorff-Anlage angebracht war, erfolgte die Perfusion mit einem modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer (KHP). Der KHP setzte sich wie folgt zusammen: 118 mM NaCl; 4,7 mM KCl; 1,2 mM MgSO₄; 1,2 mM KH₂PO₄; 25 mM NaHCO₃; 0,5 mM EDTA; 2,25 mM CaCl₂; 11 mM Glucose und 1 mM Lactat.

Verschiedene hämodynamische Parameter des Herzens wurden während der gesamten Versuchsdauer dokumentiert. Hierzu wurde ein kleiner, mit Flüssigkeit gefüllter Ballon im linken Ventrikel platziert, dessen enddiastolischer Druck (*left ventricular end-diastolic pressure* = LVEDP) auf 2-8 mmHg adjustiert wurde. Der Ballon ermöglichte eine kontinuierliche Messung der Herzfrequenz, des linksventrikulären Drucks (*left ventricular pressure* = LVP) und des Koronarflusses. Die Digitalisierung der Messwerte erfolgte mittels Analog-Digital-Umsetzer bei einer Abtastungsrate von 500 Hz. Der linksventrikulär entwickelte Druck (*left ventricular developed pressure* = LVDP) wurde berechnet als der maximale linksventrikuläre systolische Druck (*left ventricular systolic pressure* = LVSP) minus den LVEDP. Als weiterer Indikator für myokardialen Schaden wurde in jedem Experiment der Zeitpunkt und die Höhe der maximalen ischämischen Kontraktion analysiert. Die Daten wurden kontinuierlich auf einem Computer aufgezeichnet, benutzt wurde LabChart für Windows v5.

2.2.4 Die Langendorff Anlage

Die Perfusion des Herzens an der Langendorff-Anlage (Abbildung 4) erfolgte retrograd über die Aorta mit dem bereits beschriebenen modifizierten KHP. Der Aortenstumpf wurde hierfür kanüliert und mit einem Faden an der Apparatur festgebunden.

Der Puffer sollte sich möglichst physiologischen Bedingungen annähern. Hierfür wurde der Puffer in einem Wasserbad auf 38,5 °C erhitzt. Zudem erfolgte eine Oxygenierung, indem er über eine Fritte mit Carbogen begast wurde, welches sich aus 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlenstoffdioxid zusammensetzte.

Der vorgewärmte Puffer wurde mithilfe einer peristaltischen Pumpe durch ein Schlauchsystem zu einem Luftfänger gepumpt. Dieser Luftfänger stellte sicher, dass es zu keiner Luftembolie im Herzen kam. Von dort floss der Puffer durch einen Wärmetauscher zum Herzen. Der Luftfänger und Wärmetauscher verfügten beide über eine doppelte Wand, welche zum Wärmehaushalt mit warmem Wasser durchspült wurde.

Zwischen Luftfänger und Wärmetauscher befand sich ein Dreiwegehahn mit Verbindung zu einem Überlaufbecken und von dort zurück zum Puffer im Wärmebad. Das Überlaufbecken war auf die Höhe adjustiert, welche einem hydrostatischen Druck von 80 mmHg entsprach. War der Dreiwegehahn in alle Richtungen geöffnet, führte dies zu einer druckregulierten

Perfusion des Herzens mit einer Vorlast von 80 mmHg. Der über das Überlaufbecken zurück zirkulierende Puffer konnte erneut verwendet werden, da er keinen Kontakt mit dem Herzen hatte. Die Schläuche waren während des gesamten Versuchsablauf mit Puffer durchspült und möglichst frei von Luftblasen.

Zwischen dem Wärmetauscher und dem Herz waren zwei weitere Dreiwegehähne zwischengeschaltet. Diese dienten dem Anschluss zusätzlicher Perfusate. Bei geöffnetem Dreiwegehahn wurde das Herz, zusätzlich zu dem KHP aus dem Schlauchsystem, mit dem dort angeschlossenen humanen Plasma perfundiert. Das Plasma wurde über eine Perfusorspritze mit einer voreingestellten Flussgeschwindigkeit von 1% des in der *Baseline* gemessenen Koronarflusses in das Herz geleitet.

Sobald das Perfusat das Herzen erreichte, durchspülte es die Koronararterien und tropfte dann aus dem Herz heraus. Wie bereits in Kapitel 2.2.1 beschrieben, gelangte das Perfusat retrograd über die Aorta in die Koronararterien und versorgte das Myokard. Nach Passage der Koronararterien drainierte das Perfusat über den Koronarsinus in den rechten Vorhof. Von dort tropfte es über die Öffnungen der abgesetzten Gefäße aus dem Herz heraus. Dieser Abfluss wurde aufgefangen und dann verworfen. Durch Messung dieses Abflusses pro Zeiteinheit wurde der Koronarfluss bestimmt.

Das Auffangbecken für den Abfluss diente zusätzlich auch als Wärmekammer. So wurde das Herz vor Luftzügen und Auskühlung geschützt.

Die Herzkammern blieben während der Versuche leer. Sie wurden nicht durchspült, da die Kontraktion des Herzens unabhängig von der Füllung der Herzkammern abläuft, solange die Koronargefäße das Myokard ausreichend versorgen.

Zwischen den Versuchen wurde die Anlage zur Reinigung mit destilliertem Wasser durchspült.

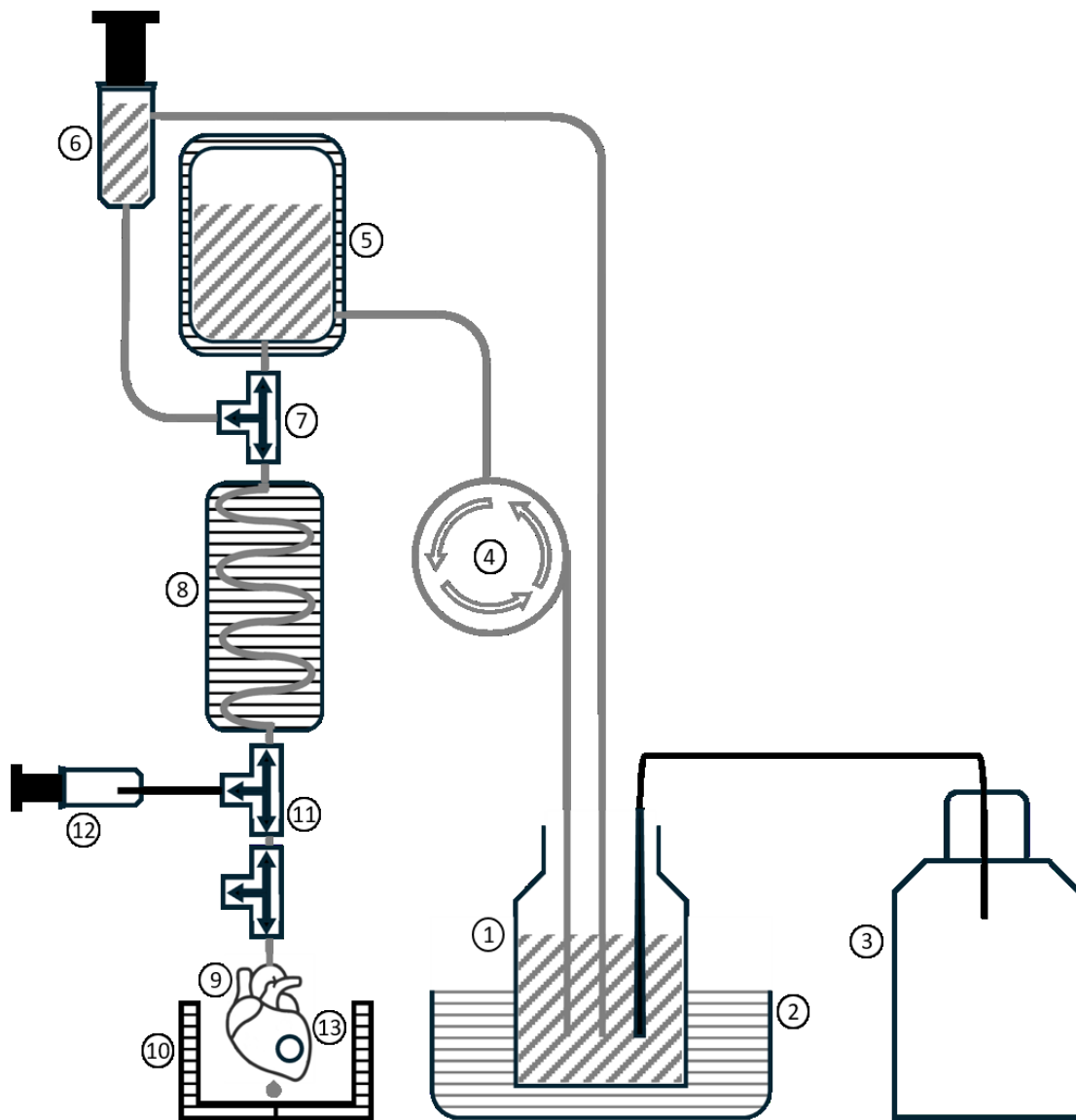


Abb. 4: Schematische Darstellung der Langendorff-Anlage

Dargestellt ist ein vereinfachter Aufbau der verwendeten Langendorff-Anlage. Der Krebs-Henseleit-Puffer (1) wurde in einem Wasserbad (2) erwärmt und mit Carbogen (3) begast. Über eine peristaltische Pumpe (4) gelangte der Puffer in einen Luftfänger (5). Das auf 80 mmHg adjustierte Überlaufbecken (6) sorgte bei geöffnetem Dreiwegehahn (7) für eine druckregulierte Perfusion. Aus dem Luftfänger gelangte der Puffer über einen Wärmetauscher (8) zum Herzen (9), von wo der Abfluss in ein Auffangbecken (10) tropfte, welches auch als Wärmekammer diente. Die zwischengeschalteten Dreiwegehähne (11) ermöglichten die zusätzliche Perfusion mit humanem Plasma über einen Perfusor (12). Über einen in den linken Ventrikel eingebrachter Ballon (13) konnte die kardiale Funktion erfasst werden. Der Luftfänger und Wärmetauscher wurden zum Wärmeerhalt in einer doppelten Wand mit warmem Wasser durchspült, diese Wärmekreislauf ist zur besseren Übersicht nicht dargestellt. mmHg = Millimeter Quecksilbersäule.

2.2.5 Versuchsprotokoll

Das Versuchsprotokoll umfasste insgesamt 123 Minuten und teilte sich in vier Phasen (siehe Abbildung 5).

Die erste Phase diente als Anpassungszeit für das Herz. Sie startete mit Beginn der Perfusion an der Langendorff-Anlage und dauerte 20 Minuten. In dieser Zeit wurden auch die hämodynamischen *Baseline* Daten erhoben.

Es schloss sich die zweite Phase an, in welcher die Herzen für 10 Minuten mit dem unverdünnten Patienten-Plasma perfundiert wurden. Die Perfusionsrate entsprach in der Phase 1 % des Koronarflusses. Die Herzen wurden zufällig in folgende vier Gruppen eingeteilt (n = 5 pro Gruppe):

- RIPC: Perfusion mit Plasma, entnommen nach RIPC-Intervention, von Patienten ohne DM.
- Kontrolle: Perfusion mit Plasma, entnommen nach Schein-Intervention, von Patienten ohne DM.
- RIPC + DM: Perfusion mit Plasma, entnommen nach RIPC-Intervention, von Patienten mit DM.
- Kontrolle + DM: Perfusion mit Plasma, entnommen nach Schein-Intervention, von Patienten mit DM.

Anschließend wurde in der dritten Phase eine globale Ischämie über 33 Minuten induziert. Diese wurde durch eine Unterbrechung der Perfusion hervorgerufen. Um eine Sauerstoff-Diffusion von außen in das Herz zu verhindern, wurde in die Wärmekammer um das Herz ein Stickstoff-gesättigtes Perfusat geleitet. In einem Wärmebad wurde dieses Perfusat vorher unter Stickstoffbegasung auf 38 °C erwärmt, um ein Auskühlen des Herzens zu verhindern.

Zuletzt erfolgte in der vierten und längsten Phase (60 Minuten) die Reperfusion. Hierfür wurde das Stickstoff-gesättigte Perfusat aus der Wärmekammer ausgeleitet und die Perfusion mit dem KHP wieder mit einem Druck von 80 mmHg gestartet.

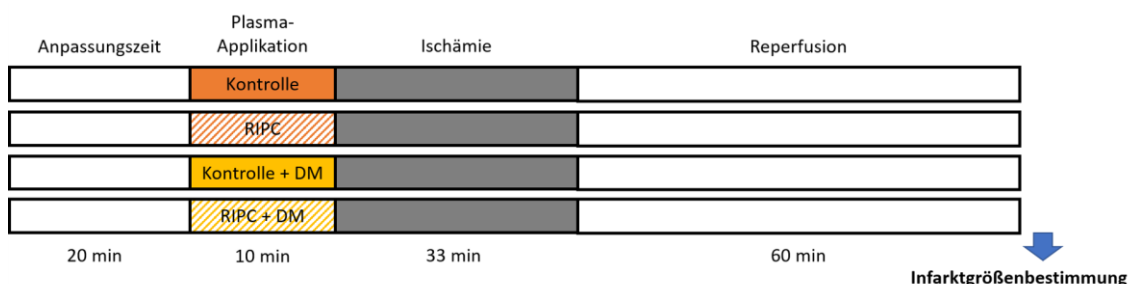


Abb. 5: Versuchsprotokoll

DM = Diabetes mellitus Typ II; min = Minute; RIPC = *remote ischemic preconditioning*.

2.2.6 Färbung und Planimetrie

Nach Abschluss des Versuchsprotokolls wurden die Herzen aus der Langendorff-Anlage herausgenommen und für die Infarktgrößenbestimmung vorbereitet. Dafür wurden sie zunächst bei -20 °C eingefroren. Die gefrorenen Herzen wurden in acht transversale Scheiben mit einer Dicke von 1 mm geschnitten.

Es folgte die Färbung mit 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) für 15 Minuten bei 37 °C. Mittels der Vitalfärbung mit TTC lassen sich stoffwechselaktive Zellen nachweisen. Tetrazolium wird durch Dehydrogenasen der Atmungskette, vor allem durch den Komplex I, zu rotem Formazan reduziert. Zellen mit einer noch aktiven Atmungskette erscheinen rot angefärbt, wohingegen Zellen ohne verbleibende Funktion nicht gefärbt werden und weißlich imponieren [81]. Nicht angefärbte Areale wurden von uns als Ansammlung irreversibel geschädigter Zellen und somit als infarziertes Gewebe gewertet.

Die Fixierung der Färbung erfolgte in 3,75 %iger Paraformaldehyd-Lösung für zwei Stunden. Die fixierten Scheiben wurden gescannt und die Analyse erfolgte mittels computergestützter Planimetrie durch einen verblindeten, unabhängigen Untersucher. Die Infarktgrößen sind prozentual zur Fläche des linken Ventrikels angegeben.

Ein exemplarisches Bild der gefärbten und fixierten Herzscheiben ist in Abbildung 6 dargestellt.

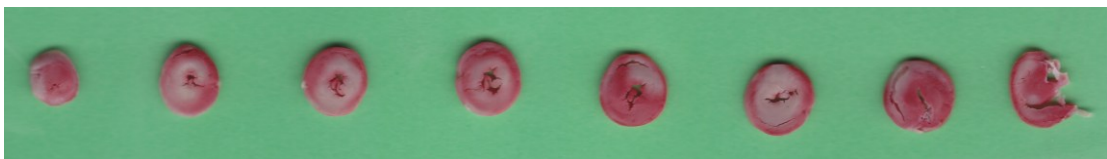


Abb. 6: Herzscheiben

Gezeigt sind exemplarisch die 1 mm dicken Herzscheiben eines Rattenherzens nach Färbung mit 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid und Fixierung in 3,75 %iger Paraformaldehyd-Lösung zur Planimetrie. Rötliche Areale markieren noch vitales Gewebe, während die weißlichen Areale Nekrosen zeigen.

2.2.7 Materialien im Labor

Name	Hersteller
Natriumchlorid (NaCl)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Kaliumchlorid (KCl)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Magnesiumsulfat (MgSO ₄)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumhydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Kalziumchlorid (CaCl ₂)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
D(+)-Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Lactat (L(+)-Natriumlactat) (C ₃ H ₆ O ₃)	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

Tabelle 3: Materialien im Labor – Krebs-Henseleit-Puffer

Name	Hersteller
<i>Aqua destillata</i> (H ₂ O)	B. Braun Melsungen AG, Deutschland
Färbemittel	
Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) (C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄)	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Trishydroxymethylaminomethan (Tris-Puffer) (C ₄ H ₁₁ NO ₃)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Paraformaldehyd (CH ₂ O)	Merck KGaA, Darmstadt
Gase	
Carbogen 5 % Kohlendioxid (CO ₂), 95 % Sauerstoff (O ₂)	LINDE AG, München, Deutschland
Stickstoff (N ₂)	LINDE AG, München, Deutschland
Medikamente	
Pentobarbital (Narcoren [®])	Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland
Heparin-Natrium (25.000 I.E./ml)	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl) 0,9 %	Fresenius Kabi Deutschland GmbH Bad Homburg, Deutschland

Tabelle 4: Materialien im Labor - Chemikalien und Medikamente

I.E. = internationale Einheiten; ml = Milliliter

Name	Produktbezeichnung	Hersteller
Geräte		
Guillotine	Biological Research Apparatus Model 7959	UGO BASILE, Monvalle, Italien
Peristaltische Pumpe	Miniplus 3	Gilson Inc., Middleton, TI, USA
Perfusor	Perfusor® Space Typ 8713030	B. Braun Melsungen AG, Deutschland
Wasserbad	GFL Wasserbad Typ 1001	GFL Gesellschaft für Labor-technik mbH, Burgwedel, Deutschland
Analog-Digital-Umsetzer	PowerLab/8SP	ADInstruments Pty Ltd., Castle Hill, Australia
Verbrauchsmaterialien		
Dreiwegehahn	Discofix® C	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Skalpell	Klinge BB521	Aesculap AG, Tuttlingen
Faden	Nicht resorbierbare Polyester-fäden für den veterinärmedi-zinischen Gebrauch	Resorba Medical GmbH, Nürnberg, Deutschland
Perfusatschlauch	TYGON, Flexible plastic tubing	Saint-Gobain Performance Plastics, Charny, Frankreich
Perfusatschlauch	Tube VERSILIC 5x8 mm	Saint-Gobain Performance Plastics, Charny, Frankreich

Tabelle 5: Materialien im Labor - Geräte, Versuchstiere und Verbrauchsmaterialien

mm = Millimeter

Funktion	Programm	Hersteller
Software		
Aufzeichnungssoftware	LabChart© Pro Version 8.0.5	ADInstruments Pty Ltd, Sydney/ NSW, Australia
Planimetriesoftware	Sigma Scan Pro, Version 5	Systat Software GmbH, Erkrath, Deutschland

Tabelle 6: Materialien im Labor – Software

2.3 Statistische Analyse

2.3.1 Stichproben-Berechnung

Die Berechnung der Stichprobengröße wurde unter Verwendung von *GraphPad StatMate™* (*GraphPad Software, San Diego, CA, USA*) durchgeführt. Sie ergab eine Gruppengröße von $n = 5$ zum Nachweis eines mittleren Unterschieds von 25 % in der Infarktgröße mit einer Sicherheit von 80 % (Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha < 0,05$).

2.3.2 Statistischer Ansatz

Um hämodynamische Variablen zwischen den Gruppen oder zwischen verschiedenen Zeitpunkten innerhalb der Gruppen zu vergleichen, wurde eine Zweiweg-Varianzanalyse (*two-way analysis of variance = two-way ANOVA*) und ein Tukey post hoc Test (*GraphPad Software, San Diego, CA, USA*) durchgeführt.

Die Infarktgrößen wurden durch einen für die Untersuchungsgruppen verblindeten Untersucher bestimmt. Durch eine Einweg-Varianzanalyse (*ANOVA*), gefolgt von einem Tukey post hoc Test, erfolgte die statistische Analyse der Infarktgrößen.

Die Nüchternblutglucose- und HbA1c-Werte wurden ebenfalls mittels *ANOVA* und Tukey post hoc Test analysiert.

Die Daten wurden als Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung aufbereitet. Unterschiede wurden als signifikant erachtet, wenn das empirische Signifikanzniveau (p-Wert) $< 0,05$ lag.

3 Ergebnisse

3.1 Eigenschaften der Patienten

Alle Patienten waren männlich und hatten eine fortgeschrittene, operationsbedürftige koronare Herzkrankheit, welche zwei oder drei Koronararterien betraf. Die genauen Patienteneigenschaften bezüglich demographischer Daten, operativen Vorgehens, Vorerkrankungen und Medikation sind in Tabelle 7 aufgeführt. [82]

	Nicht-Diabetiker	Diabetiker
Demographische Daten		
Männer (n)	10	10
Alter (Jahre)	72 ± 13	65 ± 8
Größe (cm)	175 ± 6	180 ± 5
Gewicht (kg)	84 ± 15	93 ± 18
BMI	27 ± 4	29 ± 5
Operatives Vorgehen (n)		
MIDCAB	2	0
OPCAB	2	6
ACB on-pump	6	4
Vorerkrankungen (n)		
Diabetes mellitus Typ II	0	10
Hypertonie	6	8
Hyperlipidämie	7	7
Chronisch obstruktive Lungenerkrankung	4	2
Periphere arterielle Verschlusskrankheit	3	0
Chronisches Nierenversagen	3	0
Medikation (n)		
ASS	6	8
ADP-Rezeptor Antagonisten	4	2
Statine	6	8
Beta-Blocker	7	7
ACE-Inhibitoren	4	4
Orale Antidiabetika	0	9
Insulin	0	4

Tabelle 7: Patienteneigenschaften

Demographische Daten und Messwerte als Mittelwerte ± Standardabweichung; operatives Vorgehen, Vorerkrankungen und Medikamente in absoluten Zahlen. ACB = *Aorto-Coronary Bypass*; ACE = *Angiotensin Converting Enzyme*; ADP = *Adenosindiphosphat*; ASS = *Acetylsalicylsäure*; BMI = *Body Mass Index*; cm = Zentimeter; kg = Kilogramm; MIDCAB = *Minimal Invasiv Direct Coronary Artery Bypass*; n = Anzahl; OPCAB = *Off-Pump Coronary Artery Bypass*.

3.2 Eigenschaften der Versuchstiere

Die Versuchstiere zeigten keine signifikanten Unterschiede in ihren Eigenschaften und Herzcharakteristika. Körpergewicht, Herztrockengewicht, Zeitpunkt der maximalen ischämischen Kontraktion und die Höhe der maximalen ischämischen Kontraktion unterschieden sich nicht signifikant und sind in Tabelle 8 einzusehen. [82]

	n	Körper- gewicht (gr)	Herzgewicht trocken (gr)	Herzgewicht feucht (gr)	Zeitpunkt maxi- maler ischämi- scher Kontraktur (min)	Höhe maxi- maler is- chämischer Kontraktur (mmHg)
RIPC	5	292 ± 9	0,13 ± 0,01	1,15 ± 0,09	17 ± 2	58 ± 1
Kon	5	299 ± 26	0,13 ± 0,01	1,18 ± 0,05	17 ± 1	62 ± 5
RIPC + DM	5	299 ± 19	0,14 ± 0,02	1,21 ± 0,06	15 ± 1	65 ± 5
Kon + DM	5	301 ± 13	0,13 ± 0,02	1,24 ± 0,03	16 ± 2	66 ± 8

Tabelle 8: Versuchstier- und Herzeigenschaften

Angaben als Mittelwerte ± Standardabweichung; die Eigenschaften unterschieden sich nicht signifikant. DM = Diabetes mellitus Typ II; gr = Gramm; Kon = Kontrolle; min = Minute; mmHG = Millimeter Quecksilbersäule; n = Anzahl; RIPC = *remote ischemic preconditioning*.

3.3 Infarktgrößen

Die Infarktgrößen der vier verglichenen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant (RIPC vs. Kontrolle $p = 0,973$; RIPC + DM vs. Kontrolle + DM $p = 0,995$). Die RIPC-Gruppe wies eine gemittelte Infarktgröße von $59 \pm 5\%$ auf und divergierte damit nur wenig von der Kontrollgruppe mit $61 \pm 13\%$. Einen ähnlich geringen Unterschied konnte das RIPC-Plasma der Diabetes-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Diabetes-Gruppe hervorrufen. Die Mittelwerte mit Standardabweichung sind in Abbildung 7 veranschaulicht. [82]

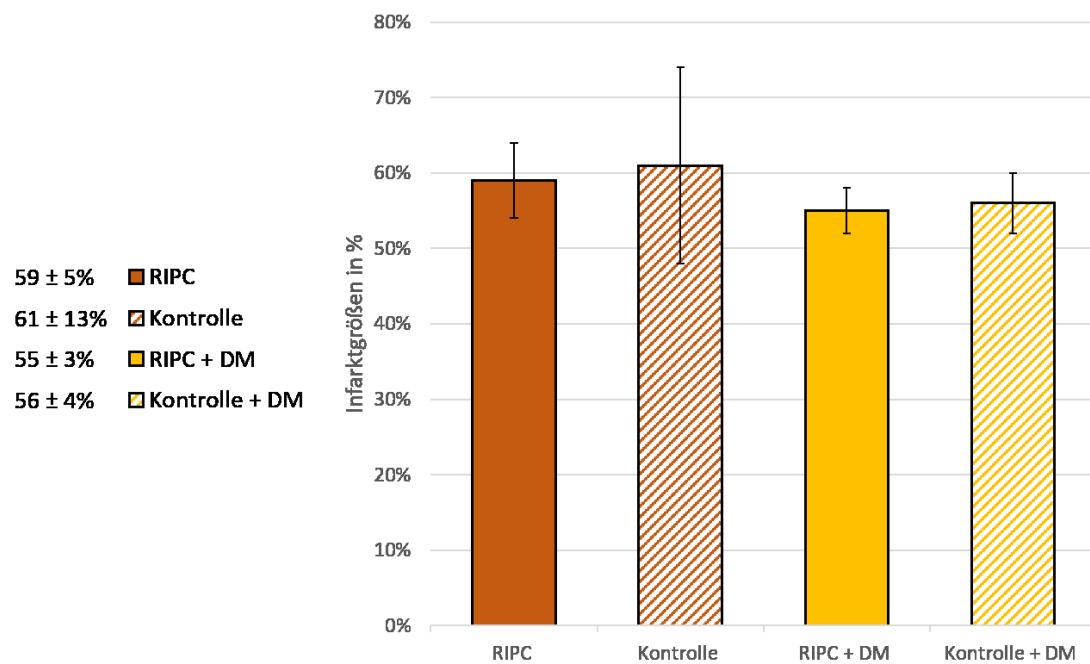


Abb. 7: Infarktgrößen der vier Untersuchungsgruppen

Darstellung der Mittelwerte in Prozent $\pm$ Standardabweichung; die Infarktgrößen unterschieden sich nicht signifikant. DM = Diabetes mellitus Typ II; RIPC = *remote ischemic preconditioning*.

3.4 Kardiale Funktion

Die hämodynamischen Parameter wiesen zwischen den vier Versuchsgruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede auf. Verglichen wurden die Herzfrequenz, der LVP und der Koronarfluss. [82]

Der LVP sowie der Koronarfluss waren nach der Ischämie und während der Reperfusion verglichen zur *Baseline* vermindert. Diese Abnahme war in allen Gruppe zu beobachten.

Die gemessenen hämodynamischen Parameter sind in Tabelle 9 abgebildet.

	<i>Baseline</i>	Plasma-Applikation	Reperfusion 30 min	Reperfusion 60 min
Herzfrequenz (bpm)				
RIPC	271 ± 54	252 ± 65	197 ± 81	252 ± 49
Kontrolle	295 ± 15	285 ± 20	279 ± 43	219 ± 71
RIPC + DM	292 ± 10	278 ± 27	254 ± 27	237 ± 9
Kontrolle + DM	308 ± 24	288 ± 28	295 ± 42	282 ± 36
Linksventrikulärer Druck (LVP) (mmHg)				
RIPC	131 ± 32	114 ± 33	23 ± 12 *	21 ± 13 *
Kontrolle	142 ± 14	123 ± 40	30 ± 13 *	33 ± 9 *
RIPC + DM	136 ± 18	116 ± 18	17 ± 13 *	22 ± 10 *
Kontrolle + DM	111 ± 22	104 ± 39	29 ± 14 *	34 ± 10 *
Koronarfluss (ml/min)				
RIPC	16 ± 2	12 ± 4	10 ± 2 *	10 ± 3 *
Kontrolle	16 ± 2	15 ± 4	9 ± 3 *	11 ± 5 *
RIPC + DM	16 ± 3	12 ± 4	8 ± 1 *	9 ± 2 *
Kontrolle + DM	13 ± 4	13 ± 3	9 ± 1 *	8 ± 1 *

Tabelle 9: Hämodynamische Parameter zu verschiedenen Versuchszeitpunkten

Angaben als Mittelwerte ± Standardabweichung; keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen; signifikanter Abfall des linksventrikulären Drucks und des Koronarflusses nach Ischämie und während Reperfusion, * $p < 0,05$ versus *Baseline*. bpm = *beats per minute*; DM = Diabetes mellitus Typ II; LVP = linksventrikulärer Druck; min = Minute; ml = Milliliter; mmHg = Millimeter Quecksilbersäule; RIPC = *remote ischemic preconditioning*.

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Methodik

4.1.1 Klinischer Teil

Wie bereits beschrieben, ist der genaue kardioprotektive Wirkmechanismus von RIPC nicht endgültig geklärt. Es wird von einer neuro-humoralen Reaktion ausgegangen, welche unter anderem die in Kapitel 1.3 dargestellten Signalwege anstößt [47].

In unserer Studie konnten wir keinen kardioprotektiven Effekt des Plasmas der Probanden an den Rattenherzen der Langendorff-Anlage nachweisen. Dass der Effekt aufgrund der Übertragung des Plasmas oder eines unpassenden Präkonditionierungsschemas ausblieb, ist unwahrscheinlich, denn es konnte bereits mehrfach gezeigt werden, dass die Übertragung von Blut oder Plasma eines Organismus nach ischämischer Vorkonditionierung auf ein naives Herz einen kardioprotektiven Effekt hervorrufen kann [43, 51, 53, 83-85]. Des Weiteren entschieden wir uns, die RIPC-Intervention entsprechend der in zahlreichen klinischen Studien etablierten Verfahren durchzuführen. Üblicherweise werden dabei drei bis vier Zyklen von jeweils fünf Minuten Ischämie und Reperfusion an einem Arm angewendet, wobei viele Studien durch diese Konditionierung signifikante Effekte feststellen konnten [47]. Besonders eine Studie von Heinen et al. ist hervorzuheben, bei welcher das gleiche RIPC-Schema wie in dieser Arbeit angewendet wurde und das Probandenplasma ebenfalls in einer Langendorff-Anlage an isolierten Rattenherzen getestet wurde. Hier konnte bei den Versuchen mit dem Plasma einer jungen Probandengruppe (18-30 Jahre) eine signifikante Infarktgrößenreduktion beobachtet werden. Diese blieb bei dem Plasma einer älteren Probandengruppe (60-80 Jahre) aus [53]. Dies deutet darauf hin, dass der von uns gewählte Versuchsansatz grundsätzlich zuverlässig in der Lage ist, eine vorhandene Kardioprotektion nachzuweisen. Daher könnte das Fehlen dieser Wirkung auf andere Faktoren als den klinischen Studien-Aufbau zurückzuführen sein, denkbar sind etwa das Alter der Patienten oder andere Störfaktoren.

4.1.2 Experimenteller Teil

Das isolierte Herz nach Langendorff eignet sich, wie bereits beschrieben (Kapitel 2.2.1), besonders für die Untersuchung der myokardialen Funktion und Reaktion auf verschiedene Reize. Allerdings ist es auch ein störanfälliges System, welches einer sorgsamten Nutzung und Wartung bedarf [80].

Eine der wichtigsten Fehlerquellen der Langendorff-Anlage, gerade bei kleinen Herzen mit großer Oberfläche im Vergleich zum Volumen, wie bei den von uns genutzten Rattenherzen, ist die Auskühlung [80]. Daher ist ein sorgfältiges Temperatur-*Management* und das Aufrechterhalten einer physiologischen Temperatur von etwa 37 °C essenziell, um keine verfälschten Werte zu messen [86]. Eine zu geringe Temperatur kann die myokardiale Funktion beeinträchtigen [86, 87] und auch selbst einen präkonditionierenden Effekt auslösen [88]. Dies muss bei der Interpretation von Versuchsergebnissen mitbedacht werden. Um die Temperatur

konstant auf 37 °C zu halten und so den Einfluss einer möglichen Auskühlung zu minimieren, wurde auf einen sorgfältigen Wärmeerhalt geachtet. Wie in Kapitel 2.2.4 beschrieben wurde der Puffer entsprechend vorgewärmt und im Verlauf der Anlage durch Wärmetauscher vor einem Temperaturverlust bewahrt. Zudem wurde das Herz durch eine Wärmekammer vor Luftzügen geschützt und so ein Wärmeverlust durch Konvektion reduziert. Allerdings ist gerade während der Ischämiezeit, in welcher das Herz nicht durch einen vorgewärmten Puffer perfundiert wird, das Risiko der Auskühlung am größten [80]. In dieser Zeit gaben wir zum Wärmeerhalt, wie bereits beschrieben, ein vorgewärmtes Perfusat in die das Herz umgebende Wärmekammer. Um weitere Manipulationen zu vermeiden, wurde auf eine dauerhafte Temperaturmessung verzichtet.

Eine weitere Voraussetzung für den Erfolg der Versuche an der Langendorff-Anlage sind funktionstüchtige Herzen mit vitalen Zellen. Die dafür nötige konstante Sauerstoffversorgung können wir als sichergestellt annehmen, da durch eine druckkontrollierte Perfusion ein konstantes Angebot bestand. Dennoch handelt es sich bei den präparierten Herzen nicht um langfristig lebensfähige Organe. Eine Abnahme der Kontraktilität von bis zu 5-10 % pro Stunde ist zu erwarten [80, 86]. Bei unserem Versuchsprotokoll wurden die Herzen über 123 Minuten beobachtet. Daher ist davon auszugehen, dass die erwartete Abnahme der Kontraktilität sich in einem überschaubaren Maße bewegt. Die von uns erfassten hämodynamischen Parameter (siehe Kapitel 3.3) zeigten einen stark verminderten LVP und Koronarfluss während der Reperfusion. Der LVP war nach der Ischämie um ca. 70-80 % gegenüber der *Baseline* reduziert. Verglichen mit dem 5-10 % erwartbaren Funktionsverlust über eine Stunde scheint die Ischämie also der relevantere Faktor zu sein. Zudem verwendeten wir als primären Endpunkt nicht die myokardiale Funktion, wodurch der Einfluss der Abnahme der Kontraktilität auf unsere Versuchsergebnisse fraglich ist.

Hohe Relevanz bei der Nutzung einer Langendorff-Anlage hat auch das Perfusat. Es besteht die Möglichkeit einer Perfusion mit Vollblut oder Puffern. Zwar wird die Verwendung von Vollblut teilweise als besseres Perfusat für die Untersuchung von Sauerstoff-Mangelzustände diskutiert, da es bei erythrozytenfreien Perfusaten eine schlechtere Erholung der kardialen Funktion geben kann [89, 90]. Allerdings ist die Nutzung von Vollblut technisch deutlich aufwändiger und auch nicht ohne Nachteile. So kann eine humorale Antwort des Spendertiers auf die Entnahme seines Bluts nicht ausgeschlossen werden, welche einen Effekt am isolierten Herz hervorrufen könnte [80].

Daher verwendeten wir einen modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer (KHP). Dieser findet für Versuche an der Langendorff-Anlage am häufigsten Verwendung [80]. Zwar nähert sich der KHP den physiologischen Bedingungen einer Perfusion mit Blut an, unterscheidet sich aber dennoch in einigen Punkten.

Der KHP stellt als Energieträger nur Glucose zur Verfügung und bedarf daher für eine ausreichende Energieversorgung unphysiologisch hoher Glucosewerte, denn ohne die physiologische Insulin-Ausschüttung ist die Glucoseaufnahme der Zellen vermindert, sodass ein größeres Angebot nötig ist [86]. Dabei verfügt der KHP über eine beinahe doppelt so hohe Glucosekonzentration wie sie physiologischer Weise im Blut vorliegt. Dass dieser akute

hyperglykämische Zustand zu kurzfristigen, relevanten Stoffwechselveränderungen und pathophysiologischen Beeinträchtigungen führt ist in Betracht zu ziehen [80]. Fette stellen in dem hydrophilen Perfusat keine praktikable Alternative dar, da es zur Schaumbildung kommt [80, 86].

Zudem weist der KHP im Vergleich zu Vollblut einen geringeren onkotischen Druck auf, wodurch er zu einer vermehrten Ödembildung führt. Aus diesem Grund eignet sich der KHP nicht für längere Versuchsprotokolle. Der Zusatz onkotisch wirksamer Bestandteile, beispielsweise Albumin, ist möglich, führt aber ebenfalls zu einer Schaumbildung [86]. Dennoch findet der KHP vielfach Anwendung und ist ausgiebig beschrieben und etabliert, um das Herz am Langendorff-Modell über mehrere Stunden zu versorgen [80].

Eine der unseren Arbeit ähnliche Studie mit dem gleichen translationalen Studienkonzept an der gleichen Langendorff-Anlage erzielte signifikante Ergebnisse [53]. Dass unsere jetzigen Werte maßgeblich durch die Methodik der Langendorff-Anlage verfälscht sind, ist demnach unwahrscheinlich. Es ist davon auszugehen, dass unsere Methodik, für die in Kapitel 1.5 formulierte Fragestellung adäquat gewählt war, um korrekte Werte zu messen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Einfluss des Anästhesieverfahrens

Wie bereits in Kapitel 1.4 erläutert, deutet die vorliegende Datenlage eindeutig darauf hin, dass Propofol einen nachteiligen Einfluss auf den kardioprotektiven Effekt von RIPC ausübt [50, 51, 70]. Die Auswirkungen anderer Anästhetika sind bislang nicht abschließend geklärt.

Für die Substanzen Isofluran [70] sowie Pentobarbital und Sevofluran [50] existieren Tierstudien, welche keine Einschränkung des kardioprotektiven Effekts von RIPC postulieren. Allerdings gibt es zu Sevofluran auch klinische Arbeiten, deren Ergebnisse im Widerspruch zu der oben genannten Tierstudie stehen [85, 91]. Andere Autoren wiederum beschreiben einen eigenständigen vorkonditionierenden Effekt bestimmter volatiler Anästhetika, wie beispielsweise Isofluran [92, 93]. Die derzeitige Datenlage erlaubt bislang keine abschließende Bewertung der im klinischen Alltag gängigen Anästhetika.

Ob das in dieser Arbeit verwendete Etomidat für den fehlenden Nachweis eines kardioprotektiven Effekts verantwortlich sein kann, bleibt zur Diskussion. In einer bereits erwähnten Untersuchung von Kottenberg et al. zu dem Einfluss der Narkosemittel Propofol und Isofluran wurde, ähnlich wie in unserer Studie, Etomidat zur Narkoseeinleitung verwendet. Je nach Kohorte wurde zur Narkoseaufrechterhaltung zu Isofluran oder Propofol gewechselt. Die Autoren beobachteten niedrigere Werte des kardialen Troponins in der Isofluran-RIPC-Kohorte im Vergleich zur Isofluran-Gruppe ohne RIPC, während in den Propofol-Kohorten, unabhängig von der RIPC-Anwendung, keine reduzierten Troponin-Werte festgestellt werden konnten. Somit konnte trotz der Verwendung von Etomidat zur Narkoseeinleitung ein kardioprotektiver Effekt von RIPC nachgewiesen werden [70]. Auf Grundlage dieser Studie liegt die Schlussfolgerung nahe, dass eine Einmaldosis von Etomidat

zur Induktion einer Narkose dem kardioprotektiven Effekt von RIPC nicht entgegensteht. Allerdings ist die Studienlage begrenzt und der mögliche Einfluss von Etomidat bedarf weiterer Forschung.

4.2.2 Einfluss des Patientenalters

Das Alter der untersuchten Person, des Tieres oder Gewebes wurde bereits vielfach als potentieller Störfaktor einer RIPC diskutiert [53, 94]. Es ist daher denkbar, dass das fortgeschrittene Alter der in dieser Studie eingeschlossenen Patienten einen negativen Einfluss auf die Wirkung von RIPC hatte. Es gibt Hinweise auf eine beeinträchtigte Freisetzung kardioprotektiver humoraler Faktoren [53], sowie auf eine veränderte Signaltransduktion [52, 54]. Allerdings konnten vereinzelt auch trotz hohem Patientenalter positive RIPC-Effekte beobachtet werden [61, 95].

In einer unserer ähnlich aufgebauten Studie an herzgesunden Probanden wurde das kardioprotektive Potential von humanem RIPC Plasma an isolierten Rattenherzen untersucht. Dabei wurden zwei Altersgruppen, zwischen 18-30 Jahren und zwischen 60-80 Jahren, verglichen. Es wurde das gleiche RIPC-Protokoll für Probanden und das gleiche Versuchsprotokoll für isolierte Rattenherzen wie in der aktuellen Studie durchgeführt. Die untersuchten Infarktgrößen unterschieden sich nach Anwendung von Kontroll- und RIPC-Plasma der älteren Patientengruppe nicht. Bei Verwendung des RIPC-Plasmas der jungen Probandengruppe hingegen zeigte sich eine Reduktion der Infarktgröße um 34% gegenüber des Kontroll-Plasmas. Im nächsten Schritt der Studie wurde das Plasma nicht wie zuvor an Herzen jüngerer Wistar Ratten untersucht (Alter 2-3 Monate), sondern an älteren (Alter 22-23 Monate) Tieren. Das Plasma der jüngeren Probanden konnte auch an den älteren Herzen eine signifikante Infarktgrößenreduktion von 20 % hervorrufen. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass mit zunehmendem Lebensalter die Ausschüttung kardioprotektiver Faktoren ins Blut durch RIPC abnimmt, wohingegen die Wirkung an älterem Gewebe zumindest anteilig erhalten bleibt [53]. Bis auf einzelne Ausnahmen lagen unsere Patienten in der gleichen Altersspanne wie die ältere Probandengruppe der zitierten Studie. Da in oben genannter Studie gesunde Probanden ohne Narkose untersucht wurden, konnten viel diskutierte mögliche Störfaktoren (Medikation, Vorerkrankungen, Anästhetika) nicht als *Confounder* wirken. Es besteht daher die Möglichkeit, dass der fehlende Effekt von RIPC in unserer Studie auf das fortgeschrittene Alter unserer Patienten zurückzuführen ist.

Auch Wu et al. untersuchten in ihrer klinischen Arbeit an Patienten, welche sich einer kardiochirurgischen Bypass Operation unterzogen, den Effekt von IPC in zwei verschiedenen Altersgruppen. In der jüngeren Vergleichsgruppe der erwachsenen Patienten (< 68 Jahre) war eine intraoperative IPC-Intervention mit einer verbesserten postoperativen kardialen Funktion und verringerten Troponin-Levels im Serum assoziiert, während es in der älteren Gruppe (> 68 Jahre) zu keiner Verbesserung kam [96].

In einer Metaanalyse von 21 klinischen Studien zu RIPC an kardiochirurgischen Patienten wurde keine signifikante Verbesserung der Endpunkte *all-cause mortality*, *acute kidney injury* (AKI) und *postoperative myocardial infarction* festgestellt. Die größtenteils männlichen

(72,6 %) Patienten der untersuchten Studien hatten ein durchschnittliches Alter zwischen 42,3 und 76,3 Jahren. In der Metaanalyse wurde auch eine Subgruppe, bestehend aus drei Studien, untersucht, in welcher eine propofolfreie Anästhesie verwendet wurde. In dieser Subgruppe konnte eine signifikante Reduktion von AKI festgestellt werden (RR 0,700; 95 % CI, 0,527-0,930 [$p = 0,014$]). Die Patienten dieser Subgruppe hatten ein durchschnittliches Alter von 57,0 bis 70,6 Jahren. Es konnte zwar insgesamt keine Verbesserung eines kardialen Endpunktes beobachtet werden, jedoch eine signifikante Wirkung von RIPC bei Patienten fortgeschrittenen Alters [95].

Auch in tierexperimentellen Studien wurde in höheren Altersgruppen eine abgeschwächte bzw. veränderte Wirkung von RIPC beobachtet [52, 54, 97]. So konnte beispielsweise in einer Untersuchung an Versuchstieren fortgeschrittenen Alters (22-24 Monate alte Wistar Ratten im Vergleich zu regulär verwendeten 2-3 Monate alten Tieren) kein protektiver Effekt von RIPC auf die Infarktgröße nach Ischämie und Reperfusion nachgewiesen werden [97].

In einer Tierstudie von Kindernay et al. wurden jüngere, 3 Monate alte Ratten mit erwachsenen, 6 Monate alten Ratten verglichen und in Kontroll- und RIPC-Gruppen untersucht. Dabei wurde die RIPC-Intervention an den Ratten selbst durchgeführt, danach wurden ihre Herzen an der Langendorff-Anlage einer Ischämie und Reperfusion ausgesetzt und zuletzt die Infarktgrößen untersucht. Die bestimmten Infarktgrößen der erwachsenen Ratten waren in beiden Gruppen größer als die der jüngeren Ratten. In den RIPC-Gruppen beider Alterskohorten wurden allerdings kleinere Infarktgrößen gemessen als in den jeweiligen Kontroll-Gruppen. Diesen Ergebnissen zufolge scheint ein jüngeres Alter hier also per se kardioprotektiv zu wirken und ein erhöhtes, bzw. bereits ein erwachsenes Alter, die Wirkung von RIPC zu vermindern. Als weiteres Zeichen einer zwar verminderten, aber noch erhaltenen RIPC-Wirkung wurde in dieser Studie die GSK3 β Konzentration im Myokard gemessen, welche in phosphoryliertem, inaktiviertem Zustand über den RISK-Signalweg an der Kardioprotektion beteiligt ist (siehe Kapitel 1.3). Die GSK3 β lag bei den älteren Tieren im Verhältnis zu den jüngeren Ratten vermindert phosphoryliert vor, konnte durch RIPC aber signifikant gesteigert werden, wenn auch nur auf ein niedrigeres Niveau als bei den jüngeren Tieren. Das Potential von RIPC scheint also bereits während des Heranreifens signifikant abzunehmen [52].

Damit im Einklang stehen die Ergebnisse einer weiteren Tierstudie bei, an einer arteriellen Hypertonie erkrankten, Ratten verschiedenen Alters (3, 5 und 8 Monate). Hier konnte lediglich bei der ältesten Gruppe nach erfolgter RIPC-Intervention keine Infarktgrößenreduktion festgestellt werden. Neben der Infarktgröße wurden auch der RISK-Signalweg und verschiedene pro- und antiapoptotische Proteine auf ein Ansprechen nach RIPC untersucht. Diese waren bereits präinterventionell bei den älteren Ratten im Vergleich zu den jüngeren Gruppen abgeschwächt, reagierten aber weiterhin auf eine RIPC-Intervention, wenn auch schwächer als die beiden jüngeren Gruppen. Diese Ergebnisse sprechen ebenfalls für eine veränderte, aber nicht aufgehobene Beeinflussung der Signaltransduktion durch RIPC in älteren Tieren [54].

Die konkordanten Ergebnisse dieser beiden Studien deuten auf eine Abnahme der RIPC-Wirkung bereits im Erwachsenenalter der Versuchstiere hin. Die Ergebnisse könnte man als

Hinweis auf eine graduelle Abnahme der Responsivität auf einen RIPC-Stimulus mit dem Alter deuten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Patientenalter einen signifikanten Einfluss auf die Wirkung von RIPC haben kann, wenngleich nicht alle Studien diesen Effekt bestätigen. Während einige Untersuchungen bei älteren Probanden keine RIPC-Effekte zeigen, konnten andere positive Ergebnisse erzielen. Unklar bleibt, ob individuelle Patienteneigenschaften oder systematische Probleme die Übertragbarkeit auf ältere Gruppen beeinträchtigen. Zudem ist ungewiss, ob humanes RIPC-Plasma älterer Probanden die Infarktgröße an isolierten Rattenherzen beeinflussen kann. Es besteht die Möglichkeit, dass altersbedingte Veränderungen die Kardioprotektion in unserem Studienmodell verhindern.

Bei der Analyse weiterer Störgrößen in dieser Studie muss also beachtet werden, dass allein das Patientenalter bereits einen großen Faktor bei der Entstehung unserer Ergebnisse gespielt haben könnte und andere Einflussfaktoren vor dem Hintergrund eines möglichen Einflusses des Probandenalters bewertet werden müssen.

4.2.3 Einfluss einer Diabetes mellitus Erkrankung

Ein DM stellt einen der wichtigsten kardiovaskulären Risikofaktoren dar und erhöht das Risiko, eine KHK zu entwickeln und einen Myokardinfarkt zu erleiden [98]. Bereits moderat erhöhte Nüchternblutglucosewerte bei Patienten ohne Diabetes oder eine gestörte Glucosetoleranz erhöhen das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse [99, 100].

Daraus ergibt sich eine häufige Komorbidität bei Patienten mit ischämischer Herzkrankheit und somit auch ein potentiell relevanter Einflussfaktor auf RIPC bei kardiochirurgischen Patienten. Wie in Kapitel 1.4 bereits angesprochen, steht DM bereits im Fokus der Forschung zu RIPC und wird als ungünstiger Störfaktor angesehen [71].

In einer klinischen Studie an Patienten mit einem Myokardinfarkt, welchem eine *Angina pectoris* innerhalb der letzten 24 Stunden vorausging, wurden die Auswirkungen dieser natürlichen IPC im Vergleich zu Patienten mit Myokardinfarkt ohne vorausgegangene *Angina pectoris* untersucht. Zusätzlich wurde zwischen Patienten mit und ohne DM unterschieden. Bei Patienten mit vorausgegangener *Angina pectoris* ohne DM zeigten sich im Verlauf eine bessere linksventrikuläre Ejektionsfraktion, ein geringerer Anstieg der Creatinkinase und eine geringere Krankenhausmortalität. Bei Patienten mit vorausgegangener *Angina pectoris* und einem nicht-Insulin-pflichtigen DM blieben diese Veränderungen aus [101]. Bereits diese Studie spricht für einen negativen Einfluss von DM auf IPC, lässt aber keine Schlüsse über die zugrundeliegende Pathophysiologie zu.

Daher scheint nur folgerichtig, dass in verschiedenen Tierstudien durch RIPC und IPC keine Infarktgrößenreduktion bei diabetischen Tieren messbar war [71, 102]. Bemerkenswert ist, dass sich ähnliche Ergebnisse auch bei insulinsensiblen Hunden, welche eine akute Hyperglykämie aufwiesen, zeigten. In dieser Arbeit korrelierte die Höhe des Blutglucosespiegels mit der Infarktgröße, eine Reduktion durch IPC konnte nicht beobachtet werden [71]. Somit

scheint insbesondere die Auswirkung einer Hyperglykämie, akut oder chronisch, relevant für die Wirksamkeit von IPC.

Eine ähnliche Schlussfolgerung suggeriert die Arbeit von Kristiansen et al., bei welcher IPC an isolierten Herzen von Ratten mit DM Typ II und ohne DM Typ II durchgeführt wurde, wobei in eine hyperglykämie und eine normoglykämie Gruppe geteilt wurde. Durch IPC konnte an den Herzen der normoglykämien Ratten unabhängig von DM Typ II eine Infarktgrößenreduktion beobachtet werden, wohingegen in den Gruppen der hyperglykämien Ratten kein Effekt festgestellt werden konnte. Durch einen intensivierten Stimulus (4 x 5-minütige Zyklen statt 2 x 5-minütige Zyklen) konnte bei Ratten mit DM Typ II und Hyperglykämie dennoch eine reduzierte Infarktgröße festgestellt werden, ohne DM Typ II jedoch nicht [55]. Diese Arbeit unterstützt die These, dass vor allem hyperglykämie Stoffwechsellagen den Effekt einer ischämischen Präkonditionierung vermindern, diesen aber nicht prinzipiell aufheben.

Weitere Erkenntnisse liefert die Studie von Torregroza et al., in der an isolierten Herzen gesunder Ratten eine Reduktion der Infarktgröße nach Ischämie und Reperfusion durch die Applikation von nach RIPC entnommenem Plasma nachgewiesen werden konnte. Dieser protektive Effekt trat sowohl bei Plasma von Tieren mit normoglykämischer Stoffwechsellage als auch bei Plasma von Tieren mit Diabetes mellitus Typ I auf. Kontroverserweise schien hier das Plasma hyperglykämischer Tiere ohne Diabeteserkrankung einen leichten kardioprotektiven Effekt aufzuweisen, welcher sich durch RIPC jedoch nicht verstärken ließ. Im zweiten Teil der Studie wurde nun Plasma gesunder Ratten an isolierten Herzen von hyperglykämien oder diabetischen Ratten getestet. Es ließ sich keine Infarktgrößenreduktion im Vergleich zur Kontrolle messen [56]. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Ausschüttung kardioprotektiver humoraler Faktoren durch DM oder eine Hyperglykämie zumindest nicht vollständig aufgehoben ist, sondern primär die Wirkung am Herzen durch eine hyperglykämie Stoffwechsellage beeinträchtigt wird.

Im Zusammenhang mit der oben genannten Studie von Kristiansen et al. [55] lässt sich die Hypothese ableiten, dass ein intensiverer Stimulus erforderlich sein könnte, um eine ausreichende Freisetzung humoraler Faktoren zu induzieren und damit trotz der beeinträchtigten Affinität des hyperglykämien Myokards einen protektiven Effekt zu erzielen. Warum dieser Effekt im Fall eines manifesten DM Typ II beobachtbar ist, während er bei akuter, nicht-diabetischer Hyperglykämie ausbleibt, bleibt bislang ungeklärt.

Eine weitere wichtige Erkenntnis erlangten Jensen et al. bei der Untersuchung von RIPC-Plasma von Patienten ohne DM Typ II, mit DM Typ II und mit DM Typ II und einer peripheren Neuropathie. Durch die Übertragung des RIPC-Plasmas der Patienten mit und ohne DM Typ II auf Kaninchenherzen konnte eine reduzierte Infarktgröße nach Ischämie und Reperfusion gemessen werden. Bei dem RIPC-Plasma der Patienten mit DM Typ II und peripherer Neuropathie wurde keine Infarktgrößenreduktion festgestellt [83]. Passend zu den zuvor genannten Studien scheint eine Diabeteserkrankung nicht *per se* dem kardioprotektiven Effekt von IPC entgegenzuwirken. Hier schienen neuronale pathophysiologische Veränderungen infolge der Erkrankung die Ursache zu sein.

Wie in Kapitel 1.3 beschrieben induziert die IPC über verschiedene Signalwege, unter anderem über die Phosphorylierung und somit Inaktivierung von GSK3 β , eine verminderte Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP und reduziert so die Wahrscheinlichkeit für einen letalen Zellschaden [49]. Ein Einfluss durch DM auf die Aktivität der GSK3 β und den fortfolgenden kardioprotektiven Effekt von IPC wurde bereits mehrfach beschrieben. So scheint die Aktivität von GSK3 β durch DM erhöht zu sein [103, 104]. Ebenso beeinflusst eine akute Hyperglykämie diesen Signalweg durch eine gehemmte Phosphorylierung von Akt, wodurch die Aktivität von GSK3 β ebenfalls erhöht wird [105].

In Anbetracht der Datenlage scheint es prinzipiell denkbar, einen kardioprotektiven Effekt durch RIPC bei an DM erkrankten Patienten hervorzurufen, wenn auch inkonsistent und abhängig von den Begleitumständen. Neben dem aktuellen Blutzuckerspiegel scheint auch das Vorliegen von diabetischen Langzeitschäden wie einer peripheren Neuropathie relevant.

Bei den Patienten dieser Studie, die an DM erkrankt sind, ist davon auszugehen, dass eine chronische Hyperglykämie vorlag. Zwar wurde der HbA1c von uns nicht systematisch ermitteln, sodass nun nicht von allen Patienten Werte vorliegen, so weisen jedoch alle neun erhobenen Werte der zehn Patienten mit DM auf eine chronische Hyperglykämie hin. Der HbA1c-Wert spiegelt den Glucosestoffwechsel der letzten 6-8 Wochen wider [106] und kann somit als Indikator für chronische Hyperglykämien genutzt werden. Bei HbA1c-Werten $\geq 6,5\%$ spricht man von einem DM, Werte $< 5,7\%$ gelten als normal [106]. Der mittlere HbA1c unserer Patienten mit DM zeigte sich, wie in Tabelle 10 dargestellt, deutlich erhöht mit $7,52\%$ (RIPC + DM), bzw. $7,15\%$ (Kon + DM). Von den neun ermittelten Werten aus der DM Gruppe zeigte sich nur einer außerhalb des diabetischen Bereichs, lag mit 6% allerdings immer noch über dem normoglykämischen Referenzbereich. Bei den zehn Patienten ohne DM konnten bei sieben die HbA1c-Werte ermittelt werden. Diese zeigten sich im Mittel grenzwertig mit $5,65\%$ (RIPC) und $5,67\%$ (Kon).

Zusätzlich lag bei den an DM erkrankten Patienten dieser Studie eine akute Hyperglykämie vor. Im Rahmen unserer Studie wurde bei jedem Patienten präinterventionell eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt. Bei den Patienten mit DM konnten wir dadurch einen mittleren arteriellen Nüchternblutglucosewert zum Zeitpunkt der Intervention von $157,2\text{ mg/dl}$ (RIPC + DM), bzw. 165 mg/dl (Kon + DM) messen (siehe Tabelle 10). Eine abnorme Nüchternblutglucose liegt vor, wenn die venöse nüchterne Plasma-Glucose $\geq 100\text{ mg/dl}$ beträgt, ab $\geq 125\text{ mg/dl}$ spricht man von einer diabetischen Stoffwechsellage bzw. Diabetes [106]. Selbst in Anbetracht dessen, dass der arterielle Blutglucosewert teilweise physiologisch höher liegt als in einer venösen Bestimmung [107], lagen bei diesen Patientengruppen durchweg hyperglykämische Stoffwechselbedingungen vor (niedrigster arteriell gemessener Blutglucosewert in DM Gruppe: 137 mg/dl). Zudem wurden in der Blutgasanalyse Vollblutproben zur Messung verwendet und keine Plasmaproben. Der Blutglucosewert im Plasma wird durchschnittlich 11% höher gemessen als im Vollblut [106], sodass von einer Unterschätzung der Blutglucosewerte ausgegangen werden muss. Zusätzlich gilt zu beachten, dass die Patienten mit einem insulinpflichtigen Diabetes zu dem Zeitpunkt jeweils bereits ihre halbe morgendliche Insulin-Dosis verabreicht bekommen haben, ohne Nahrungsaufnahme. Der tatsächliche

Nüchternblutglucosewert dieser Patienten dürfte also noch höher als von uns gemessen liegen. Der mittlere arterielle Blutglucosewert der Patienten ohne DM zeigte sich auch grenzwertig mit durchschnittlich 110 mg/dl (RIPC), bzw. 110,2 mg/dl (Kon). Nur zwei Probanden wiesen zum Zeitpunkt der Intervention einen normoglykämischen Wert < 100 mg/dl auf. Ein Einfluss durch eine Hyperglykämie scheint somit bei den Patienten mit DM recht sicher und auch bei den meisten der Patienten ohne DM im Bereich des Möglichen.

	n	arterielle Nüchternblutglucose (mg/dl)	n	HbA1c (%)
RIPC	5	110 ± 22,29 * ¹ * ²	4	5,65 ± 0,13 * ⁵
Kon	5	110,2 ± 7,19 * ³ * ⁴	3	5,67 ± 0,21 * ⁶
RIPC + DM	5	157,2 ± 19,21 * ¹ * ³	5	7,52 ± 1,20 * ⁵ * ⁶
Kon + DM	5	165 ± 31,16 * ² * ⁴	4	7,15 ± 0,42

Tabelle 10: arterielle Nüchternblutglucose- und HbA1c-Werte der Patienten

Angaben als Mittelwerte ± Standardabweichung; die mit * markierten und gleich bezifferten Werte unterschieden sich signifikant, * p < 0,05. dl = Deziliter, DM = Diabetes mellitus Typ II; HbA1c = Hämoglobin A1c; Kon = Kontrolle; mg = Milligramm; n = Anzahl; RIPC = *remote ischemic preconditioning*.

4.2.4 Einfluss durch Komorbiditäten und Medikation

Eine Diabeteserkrankung und die Wahl des Anästhetikums wurden schon als relevante Einflussfaktoren auf den kardioprotektiven Effekt von RIPC beschrieben. Daher scheint es naheliegend, dass auch andere Vorerkrankungen und Medikamente einen negativen Einfluss aufweisen können.

Wie bereits in Kapitel 2.1.1 erwähnt, stehen Sulfonylharnstoffe im Fokus der Forschung bezüglich eines potentiell negativen kardiovaskulären Risikoprofils [78, 108] und einer Verminderung des kardioprotektiven Effekts von RIPC [109, 110]. Kottenberg et al. verglich in einer Studie Patienten ohne Diabetes und Patienten mit Diabetes, welche Sulfonylharnstoffe einnahmen. Bei beiden Gruppen wurde vor einer koronaren Bypass-Operation eine RIPC-Intervention nach dem gleichen Schema wie in unserer Studie durchgeführt, zusätzlich gab es zwei Kontrollgruppen ohne RIPC-Intervention. Als primärer Endpunkt wurde die *area under curve* des zu mehreren Zeitpunkten gemessenen, postoperativen Troponins betrachtet. Bei den Patienten ohne Diabetes konnten deutlich verminderte Troponin-Level im Vergleich zur Kontrolle gemessen werden, bei den mit Sulfonylharnstoff behandelten, an Diabetes erkrankten Patienten wurden hingegen sogar erhöhte Troponin-Level im Vergleich zur Kontrolle festgestellt. Die Autoren deuteten diese Ergebnisse als Hinweis auf einen negativen Einfluss von Sulfonylharnstoffen auf eine RIPC-Intervention [109]. Ob der negative Einfluss tatsächlich ausschließlich auf die Medikation mit Sulfonylharnstoffen zurückzuführen ist oder auch die DM Erkrankung maßgeblichen Anteil an den Ergebnissen hat, lässt sich auf Grundlage dieser Studie nicht sagen. Eine veränderte Signaltransduktion des kardioprotektiven Effekts über Akt (siehe Kapitel 1.3) wird vermutet [109].

Unter Einnahme des Betablockers Carvedilol konnte das nach RIPC entnommene Plasma gesunder Probanden ebenfalls keine detektierbare Infarktgrößenreduktion hervorrufen [85]. In einer Tierstudie hingegen konnte durch IPC auch bei Einnahme des Betablockers Esmolol eine signifikante Infarktgrößenreduktion festgestellt werden. Diese war im Vergleich zur Kontrolle ohne Esmolol zwar weniger ausgeprägt, aber immer noch feststellbar [111]. Betablocker scheinen also einen negativen Einfluss auf eine Kardioprotektion durch IPC zu haben, wobei dieser Effekt eventuell je nach Substanz unterschiedlich ausgeprägt ist.

Möglicherweise reduziert auch die perioperative Gabe von NO eine mögliche Kardioprotektion durch RIPC [112]. Dies scheint zunächst kontraintuitiv, da eine vermehrte NO Produktion durch die eNOS im Zielorgan, wie in Kapitel 1.3 beschrieben, als kardioprotektiver Signalweg identifiziert wurde. Es wird allerdings vermutet, dass erhöhte NO-Konzentrationen die Ausschüttung kardioprotektiver Faktoren am Gewebe des RIPC-Stimulus negativ beeinträchtigen [112].

Allerdings gibt es auch ein großes Spektrum an Medikamenten und ein weites Forschungsfeld, welches sich mit der medikamentösen Kardioprotektion befasst. Bei Statin-einnehmenden Patienten konnte in einer klinischen Studie ein verstärkter Effekt durch RIPC festgestellt werden [113]. Wie in Kapitel 4.2.1 bereits erwähnt, gibt es zu bestimmten volatilen Anästhetika deutliche Hinweise auf einen vorkonditionierenden Effekt [92, 93]. Ebenso gibt es Anhaltspunkte dafür, dass der selektive Alpha-2-Rezeptor-Agonist Dexmedetomidin über den bereits beschriebenen RISK-Signalweg einen kardioprotektiven Effekt hervorrufen könnte [114]. Opioide scheinen auch den I-/R-Schaden reduzieren zu können [115-117]. Und so kann auch eine antidiabetische Medikation potentiell zu einer Kardioprotektion führen. Daten zu Metformin legen nahe, dass es über die durch PI3K und Akt vermittelte Hemmung der mPTP-Öffnung einen kardioprotektiven Effekt induziert [118].

Ob diese Medikamente darüber hinaus auch Einfluss auf den Effekt von RIPC nehmen, ist nicht umfassend geklärt. Es kann also nicht insgesamt von einem negativen oder positiven Effekt durch Medikamente ausgegangen werden, sondern jedes Medikament bedarf einer spezifischen Betrachtung.

Neben Diabetes sind eine arterielle Hypertonie und Dyslipidämien häufige gemeinsam auftretende kardiovaskuläre Risikofaktoren [119]. Somit stellen diese Erkrankungen häufige Komorbiditäten bei den Patienten dar, welche an Studien zu IPC teilnehmen. Gerade im klinischen *Setting* sind Begleiterkrankungen in der Regel nicht selektiv zu betrachten, da bei den meisten Patienten mehrere vorliegen. Trotz vieler Studien zu dem Thema ist die derzeitige Datenlage nicht belastbar, um eindeutige Aussagen zu verschiedenen Vorerkrankungen zu treffen [120].

In Tierstudien zeigte sich die durch ischämische Konditionierung induzierte Kardioprotektion in Ratten mit einer Dyslipidämie verringert. Der verminderte Effekt scheint über den bekannten Signalweg über GSK3 β und der Öffnung der mPTP vermittelt zu sein [121-123].

Im Gegensatz dazu konnte an Ratten mit einer vorbestehenden arteriellen Hypertonie ein verminderter I-/R-Schaden durch RIPC beobachtet werden [54]. Ebenso konnten Sloth et al. in

einer klinischen Studie unabhängig vom Vorliegen einer arteriellen Hypertonie einen kardioprotektiven Effekt durch RIPC feststellen (Endpunkt *myocardial salvage index*) [113].

Wie in Kapitel 4.2.3 erwähnt, reduziert eine periphere Neuropathie bei Patienten mit DM den Effekt von RIPC [83]. Auch in anderen Studien konnte die Relevanz einer funktionierenden Innervation für die RIPC-Wirkung gezeigt werden [112]. Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme der neuronalen und humoralen Signaltransduktion, wie in Kapitel 1.3 beschrieben. Es kann also angenommen werden, dass auch andere Erkrankungen oder Verletzungen, welche eine neuronale Degeneration verursachen, ebenfalls einen möglichen RIPC-Effekt vermindern. In unserer Studie wurden daher Patienten mit einer bestehenden Nervenschädigung an einem der Arme exkludiert.

Bei unseren Patienten lagen diverse Vorerkrankungen vor und meist bestand eine Polymedikation. Eindeutige Schlüsse auf die Auswirkungen dieser Umstände auf unsere Ergebnisse können aufgrund der derzeitigen Datenlage nicht gezogen werden. Eine Einflussnahme durch Komorbiditäten oder Medikation der Patienten kann die von uns beobachteten Ergebnisse durchaus beeinflusst haben.

4.3 Schlussfolgerungen

Wir konnten durch das humane Plasma nach RIPC-Intervention im Vergleich zu humanem Plasma ohne RIPC-Intervention keine Infarktgrößenreduktion an den Rattenherzen und demzufolge keinen verringerten I-/R-Schaden nachweisen. Zudem war das Ausbleiben einer signifikant messbaren Infarktgrößenreduktion unabhängig von dem Vorhandensein einer DM Typ II Erkrankung. Dies könnte unter anderem durch das fortgeschrittene Patientenalter, Medikamente oder andere Vorerkrankungen bedingt sein. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass Propofol vermutlich nicht den einzigen relevanten Störfaktor für eine Kardioprotektion durch RIPC im klinischen *Setting* darstellt.

4.4 Limitierungen der Studie

Diese Arbeit ist rein deskriptiv konzipiert und lässt keine Aussage über mögliche Wirkmechanismen zu.

Unsere Probanden waren tatsächliche Patienten mit schweren kardiovaskulären Vorerkrankungen, fortgeschrittenem Alter und meist auch einer Polymedikation. Daher sind Aussagen über die Einflüsse einzelner Erkrankungen, Medikamente oder Patienteneigenschaften nicht spezifisch möglich.

Zudem handelt es sich, trotz translationalem Ansatz, auch um eine Studie an Tieren. Eine Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen und in ein klinisches Umfeld ist somit begrenzt.

Da es sich um eine Studie mit Tierversuchen handelt, wurde die Kohortengröße so gering wie möglich gehalten. Infolgedessen wurden lediglich ausgeprägte Unterschiede als statistisch relevant eingeordnet. Eine größere Fallzahl könnte es ermöglichen, auch subtilere Unterschiede zwischen den verschiedenen Kohorten zu identifizieren, die in unserer Studie möglicherweise nicht erfasst wurden.

4.5 Ausblick/Einordnung

Die eingeschränkte Übertragbarkeit der vielversprechenden experimentellen Ergebnisse könnte auf verschiedene Störfaktoren zurückzuführen sein. Einige dieser Faktoren, wie das Anästhetikum Propofol, konnten bereits identifiziert werden. Im Gegensatz dazu stellen andere potenzielle Störfaktoren, wie das Alter der Patienten oder das Vorliegen einer Diabeteserkrankung, unveränderbare Eigenschaften dar. Um dennoch eine Kardioprotektion durch eine RIPC-Intervention im klinischen *Setting* zu erzielen, ist ein umfassendes Verständnis der spezifischen Signaltransduktionswege erforderlich, über die RIPC seine kardioprotektiven Effekte entfaltet. Diese Mechanismen und die Einflussnahme von Vorerkrankungen, Alter und Medikamenten auf diese sollten in zukünftigen Studien eingehend untersucht werden, um trotz der möglichen unveränderbaren Störfaktoren einen effektiven klinischen Einsatz von RIPC zur Kardioprotektion zu ermöglichen.

Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Statistisches Bundesamt, *Todesursachen 2024: Immer mehr Menschen versterben an Demenz*, in *Pressemitteilung Nr. 377 vom 15. Oktober 2025*. 2025, Statistisches Bundesamt (Destatis): https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2025/10/PD25_377_23211.html (zitiert am 03.02.2026)
2. World Health Organization, *World health statistics 2024: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals*. 2024.
3. World Health Organization. *Cardiovascular diseases (CVDs)*. 2025 31.07.2025; Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (zitiert am 03.02.2026).
4. Busch, M.A. and R. Kuhnert, *12-Month prevalence of coronary heart disease in Germany*. J Health Monit, 2017. **2**(1): p. 58-63.
5. Gosswald, A., et al., *[Prevalence of myocardial infarction and coronary heart disease in adults aged 40-79 years in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2013. **56**(5-6): p. 650-5.
6. Finger, J.D., et al., *Time Trends in Cardiometabolic Risk Factors in Adults*. Dtsch Arztebl Int, 2016. **113**(42): p. 712-719.
7. Herold, G., *Innere Medizin: eine vorlesungsorientierte Darstellung, unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. 2025, Dr. med. Gerd Herold, Dr. med. Heinz Beckers, Dr. med. Karsten Lehmann. p. 237-258 Koronare Herzkrankheit (KHK)
8. Boehm, O., *Morbidität und Sterblichkeit in der Anästhesiologie. Patientensicherheit als Kernkompetenz des Anästhesisten* Anästh Intensivme, 2019.
9. Bundesamt, S., *Kreislaufferkrankungen sowie psychische und Verhaltensstörungen verursachen zusammen 26,0 % der Krankheitskosten im Jahr 2023*, in *Pressemitteilung Nr. 293 vom 8. August 2025*. 2025, Statistisches Bundesamt (Destatis): https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2025/08/PD25_293_236.html (zitiert am 03.02.2026).
10. Böhm, K. and M. Nöthen, *Krankheitskosten*, in *Gesundheitsberichterstattung des Bundes*. 2009, Robert Koch-Institut in Zusammenarbeit mit dem Statistischen Bundesamt
11. Bhatt, D.L., R.D. Lopes, and R.A. Harrington, *Diagnosis and Treatment of Acute Coronary Syndromes*. JAMA, 2022. **327**(7): p. 662.
12. European Society of Cardiology (ESC) and D.G.f.K. (DGK), *Akutes Koronarsyndrom Leitlinien für das Management des akuten Koronarsyndroms*, in *ESC Pocket Guidelines 2023*.
13. Matsumura, K., et al., *Progression of myocardial necrosis during reperfusion of ischemic myocardium*. Circulation, 1998. **97**(8): p. 795-804.
14. Jennings, R.B., et al., *Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog*. Arch Pathol, 1960. **70**: p. 68-78.
15. Parks, D.A. and D.N. Granger, *Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation*. Am J Physiol, 1986. **250**(6 Pt 1): p. G749-53.
16. Lemasters, J.J., et al., *The pH paradox in ischemia-reperfusion injury to cardiac myocytes*. EXS, 1996. **76**: p. 99-114.
17. Piper, H.M., D. García-Dorado, and M. Ovize, *A fresh look at reperfusion injury*. Cardiovascular Research, 1998. **38**.
18. Zweier, J.L., *Measurement of superoxide-derived free radicals in the reperfused heart. Evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury*. J Biol Chem, 1988. **263**(3): p. 1353-7.

19. Sanada, S., I. Komuro, and M. Kitakaze, *Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(5): p. H1723-41.
20. Allen, D.G. and C.H. Orchard, *Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia*. Circ Res, 1987. **60**(2): p. 153-68.
21. Hausenloy, D.J. and D.M. Yellon, *Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target*. J Clin Invest, 2013. **123**(1): p. 92-100.
22. Granger, D.N., *Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury*. Am J Physiol, 1988. **255**(6 Pt 2): p. H1269-75.
23. Yellon, D.M. and D.J. Hausenloy, *Myocardial reperfusion injury*. N Engl J Med, 2007. **357**(11): p. 1121-35.
24. Crompton, M., A. Costi, and L. Hayat, *Evidence for the presence of a reversible Ca²⁺-dependent pore activated by oxidative stress in heart mitochondria*. Biochem J, 1987. **245**(3): p. 915-8.
25. Gateau-Roesch, O., L. Argaud, and M. Ovize, *Mitochondrial permeability transition pore and postconditioning*. Cardiovasc Res, 2006. **70**(2): p. 264-73.
26. Murry, C.E., R.B. Jennings, and K.A. Reimer, *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium*. Circulation, 1986. **74**(5): p. 1124-36.
27. Marber, M.S., et al., *Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction*. Circulation, 1993. **88**(3): p. 1264-72.
28. Schott, R.J., et al., *Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium*. Circ Res, 1990. **66**(4): p. 1133-42.
29. Yellon, D.M., et al., *Ischaemic preconditioning limits infarct size in the rat heart*. Cardiovasc Res, 1992. **26**(10): p. 983-7.
30. Waldow, T., et al., *Protection against acute porcine lung ischemia/reperfusion injury by systemic preconditioning via hind limb ischemia*. Transpl Int, 2005. **18**(2): p. 198-205.
31. Bonventre, J.V., *Kidney ischemic preconditioning*. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2002. **11**(1): p. 43-8.
32. Addison, P.D., et al., *Noninvasive remote ischemic preconditioning for global protection of skeletal muscle against infarction*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **285**(4): p. H1435-43.
33. Lai, I.R., et al., *Transient limb ischemia induces remote preconditioning in liver among rats: the protective role of heme oxygenase-1*. Transplantation, 2006. **81**(9): p. 1311-7.
34. Barone, F.C., et al., *Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, and interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression*. Stroke, 1998. **29**(9): p. 1937-50; discussion 1950-1.
35. Pajdo, R., et al., *Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention: involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves*. Eur J Pharmacol, 2001. **427**(3): p. 263-76.
36. Yellon, D.M., A.M. Alkhulaifi, and W.B. Pugsley, *Preconditioning the human myocardium*. Lancet, 1993. **342**(8866): p. 276-7.
37. Heusch, G., et al., *Coronary microembolization: from bedside to bench and back to bedside*. Circulation, 2009. **120**(18): p. 1822-36.
38. Przyklenk, K., et al., *Regional Ischemic Preconditioning Protects Remote Virgin Myocardium from Subsequent Sustained Coronary-Occlusion*. Circulation, 1993. **87**(3): p. 893-899.
39. Aulakh, A.S., et al., *Neurogenic pathways in remote ischemic preconditioning induced cardioprotection: Evidences and possible mechanisms*. Korean J Physiol Pharmacol, 2017. **21**(2): p. 145-152.
40. Abdul-Ghani, S., et al., *Remote ischemic preconditioning triggers changes in autonomic nervous system activity: implications for cardioprotection*. Physiol Rep, 2017. **5**(3).

41. Lim, S.Y., D.M. Yellon, and D.J. Hausenloy, *The neural and humoral pathways in remote limb ischemic preconditioning*. Basic Res Cardiol, 2010. **105**(5): p. 651-5.
42. Donato, M., et al., *Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning*. Exp Physiol, 2013. **98**(2): p. 425-34.
43. Dickson, E., et al., *Rabbit heart can be "preconditioned" via transfer of coronary effluent*. Am J Physiol, 1999.
44. Shimizu, M., et al., *Transient limb ischaemia remotely preconditions through a humoral mechanism acting directly on the myocardium: evidence suggesting cross-species protection*. Clin Sci (Lond), 2009. **117**(5): p. 191-200.
45. Tsibulnikov, S.Y., et al., *A Review of Humoral Factors in Remote Preconditioning of the Heart*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2019. **24**(5): p. 403-421.
46. Schulz, R., et al., *Signal transduction of ischemic preconditioning*. Cardiovasc Res, 2001. **52**(2): p. 181-98.
47. Hausenloy, D.J., et al., *Ischaemic conditioning and targeting reperfusion injury: a 30 year voyage of discovery*. Basic Res Cardiol, 2016. **111**(6): p. 70.
48. Burley, D.S., P. Ferdinandy, and G.F. Baxter, *Cyclic GMP and protein kinase-G in myocardial ischaemia-reperfusion: opportunities and obstacles for survival signaling*. Br J Pharmacol, 2007. **152**(6): p. 855-69.
49. Heusch, G., *Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning*. Circ Res, 2015. **116**(4): p. 674-99.
50. Behmenburg, F., et al., *Impact of Anesthetic Regimen on Remote Ischemic Preconditioning in the Rat Heart In Vivo*. Anesth Analg, 2018. **126**(4): p. 1377-1380.
51. Bunte, S., et al., *Cardioprotection by Humoral Factors Released After Remote Ischemic Preconditioning Depends on Anesthetic Regimen*. Critical Care Medicine, 2019. **47**(3): p. e250-e255.
52. Kindernay, L., et al., *Impact of Maturation on Myocardial Response to Ischemia and the Effectiveness of Remote Preconditioning in Male Rats*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(20).
53. Heinen, A., et al., *The release of cardioprotective humoral factors after remote ischemic preconditioning in humans is age- and sex-dependent*. Journal of Translational Medicine, 2018. **16**(1).
54. Farkasova, F., et al., *Age-Dependent Effects of Remote Preconditioning in Hypertensive Rat Hearts are Associated With Activation of RISK Signaling*. Physiol Res, 2023. **72**(S1): p. S11-S22.
55. Kristiansen, S.B., et al., *Impact of hyperglycemia on myocardial ischemia-reperfusion susceptibility and ischemic preconditioning in hearts from rats with type 2 diabetes*. Cardiovasc Diabetol, 2019. **18**(1): p. 66.
56. Torregroza, C., et al., *Influence of Hyperglycemia and Diabetes on Cardioprotection by Humoral Factors Released after Remote Ischemic Preconditioning (RIPC)*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(16).
57. Karuppasamy, P., et al., *Remote intermittent ischemia before coronary artery bypass graft surgery: a strategy to reduce injury and inflammation?* Basic Res Cardiol, 2011. **106**(4): p. 511-9.
58. Lucchinetti, E., et al., *Remote Ischemic Preconditioning Applied during Isoflurane Inhalation Provides No Benefit to the Myocardium of Patients Undergoing On-pump Coronary Artery Bypass Graft Surgery Lack of Synergy or Evidence of Antagonism in Cardioprotection?* Anesthesiology, 2012. **116**(2): p. 296-310.
59. McCrindle, B.W., et al., *Remote ischemic preconditioning in children undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a single-center double-blinded randomized trial*. J Am Heart Assoc, 2014. **3**(4).
60. Rahman, I.A., et al., *Remote ischemic preconditioning in human coronary artery bypass surgery: from promise to disappointment?* Circulation, 2010. **122**(11 Suppl): p. S53-9.

61. Hausenloy, D.J., et al., *Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial*. The Lancet, 2007. **370**(9587): p. 575-579.
62. Cheung, M.M., et al., *Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans*. J Am Coll Cardiol, 2006. **47**(11): p. 2277-82.
63. Ali, N., et al., *Induced remote ischemic pre-conditioning on ischemia-reperfusion injury in patients undergoing coronary artery bypass*. J Coll Physicians Surg Pak, 2010. **20**(7): p. 427-31.
64. Candilio, L., et al., *Effect of remote ischaemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery: a randomised controlled clinical trial*. Heart, 2015. **101**(3): p. 185-92.
65. Hoole, S.P., et al., *Cardiac Remote Ischemic Preconditioning in Coronary Stenting (CRISP Stent) Study*. Circulation, 2009. **119**(6): p. 820-827.
66. Hausenloy, D.J., et al., *Effect of Remote Ischaemic preconditioning on Clinical outcomes in patients undergoing Coronary Artery bypass graft surgery (ERICCA study): a multicentre double-blind randomised controlled clinical trial*. Efficacy and Mechanism Evaluation, 2016. **3**(4).
67. Meybohm, P., et al., *Remote ischaemic preconditioning for heart surgery. The study design for a multi-center randomized double-blinded controlled clinical trial--the RIPHeart-Study*. Eur Heart J, 2012. **33**(12): p. 1423-6.
68. Meybohm, P., et al., *A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery*. N Engl J Med, 2015. **373**(15): p. 1397-407.
69. Meybohm, P., et al., *RIPHeart (Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery) Study: Myocardial Dysfunction, Postoperative Neurocognitive Dysfunction, and 1 Year Follow-Up*. J Am Heart Assoc, 2018. **7**(7).
70. Kottenberg, E., et al., *Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol - a clinical trial*. Acta Anaesthesiol Scand, 2012. **56**(1): p. 30-8.
71. Kersten, J.R., et al., *Diabetes abolishes ischemic preconditioning: role of glucose, insulin, and osmolality*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000. **278**(4): p. H1218-24.
72. Ostadal, B., et al., *Gender differences in cardiac ischemic injury and protection--experimental aspects*. Exp Biol Med (Maywood), 2009. **234**(9): p. 1011-9.
73. Song, X., et al., *Effects of sex, gonadectomy, and oestrogen substitution on ischaemic preconditioning and ischaemia-reperfusion injury in mice*. Acta Physiol Scand, 2003. **177**(4): p. 459-66.
74. Kim, Y.D., et al., *17 beta-Estradiol prevents dysfunction of canine coronary endothelium and myocardium and reperfusion arrhythmias after brief ischemia/reperfusion*. Circulation, 1996. **94**(11): p. 2901-8.
75. *Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2*. 2021, Bundesministerium für Gesundheit <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/themen/praevention/gesundheitsgefahren/diabetes.html> (zitiert am 03.02.2026).
76. *Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2021 Die Bestandsaufnahme*. 2021, Deutsche Diabetes Gesellschaft (DDG) und diabetesDE – Deutsche Diabetes-Hilfe.
77. Azoulay, L. and S. Suissa, *Sulfonylureas and the Risks of Cardiovascular Events and Death: A Methodological Meta-Regression Analysis of the Observational Studies*. Diabetes Care, 2017. **40**(5): p. 706-714.
78. Abdelmoneim, A.S., et al., *Cardiovascular safety of sulphonylureas: over 40 years of continuous controversy without an answer*. Diabetes Obes Metab, 2015. **17**(6): p. 523-532.
79. Langendorff, O., *Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen*. Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, 1895. **61**(6): p. 291-332.

80. Bell, R.M., M.M. Mocanu, and D.M. Yellon, *Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion*. J Mol Cell Cardiol, 2011. **50**(6): p. 940-50.
81. Rich, P.R., et al., *The sites of interaction of triphenyltetrazolium chloride with mitochondrial respiratory chains*. FEMS Microbiol Lett, 2001. **202**(2): p. 181-7.
82. Feige, K., et al., *Cardioprotective Properties of Humoral Factors Released after Remote Ischemic Preconditioning in CABG Patients with Propofol-Free Anesthesia—A Translational Approach from Bedside to Bench*. JCM, 2022. **11**(5).
83. Jensen, R.V., et al., *Release of a humoral circulating cardioprotective factor by remote ischemic preconditioning is dependent on preserved neural pathways in diabetic patients*. Basic Res Cardiol, 2012. **107**(5): p. 285.
84. Feige, K., et al., *Effluent from ischemic preconditioned hearts confers cardioprotection independent of the number of preconditioning cycles*. PLoS One, 2020. **15**(12): p. e0243220.
85. Cho, Y.J., et al., *Sevoflurane, Propofol and Carvedilol Block Myocardial Protection by Limb Remote Ischemic Preconditioning*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(2).
86. Sutherland, F.J. and D.J. Hearse, *The isolated blood and perfusion fluid perfused heart*. Pharmacol Res, 2000. **41**(6): p. 613-27.
87. Fukunami, M. and D.J. Hearse, *The inotropic consequences of cooling: studies in the isolated rat heart*. Heart Vessels, 1989. **5**(1): p. 1-9.
88. Khaliulin, I., et al., *Temperature preconditioning of isolated rat hearts--a potent cardioprotective mechanism involving a reduction in oxidative stress and inhibition of the mitochondrial permeability transition pore*. J Physiol, 2007. **581**(Pt 3): p. 1147-61.
89. Schmitz-Spanke, S., et al., *[The isolated rabbit heart: comparison between five different modifications]*. Herz, 2002. **27**(8): p. 803-13.
90. Qiu, Y. and D.J. Hearse, *Comparison of ischemic vulnerability and responsiveness to cardioplegic protection in crystalloid-perfused versus blood-perfused hearts*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1992. **103**(5): p. 960-8.
91. Song, Y., et al., *Effects of remote ischemic preconditioning in patients with concentric myocardial hypertrophy: A randomized, controlled trial with molecular insights*. Int J Cardiol, 2017. **249**: p. 36-41.
92. Piriou, V., et al., *Pharmacological preconditioning: comparison of desflurane, sevoflurane, isoflurane and halothane in rabbit myocardium*. Br J Anaesth, 2002. **89**(3): p. 486-91.
93. Lee, H.T., et al., *Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury in vivo*. Anesthesiology, 2004. **101**(6): p. 1313-24.
94. Boengler, K., R. Schulz, and G. Heusch, *Loss of cardioprotection with ageing*. Cardiovasc Res, 2009. **83**(2): p. 247-61.
95. Pierce, B., et al., *Clinical Outcomes of Remote Ischemic Preconditioning Prior to Cardiac Surgery: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. J Am Heart Assoc, 2017. **6**(2).
96. Wu, Z.K., et al., *The protective effects of preconditioning decline in aged patients undergoing coronary artery bypass grafting*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2001. **122**(5): p. 972-8.
97. Behmenburg, F., et al., *Cardioprotection by Remote Ischemic Preconditioning is Blocked in the Aged Rat Heart in Vivo*. Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia, 2017. **31**(4): p. 1223-1226.
98. Leon, B.M. and T.M. Maddox, *Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research*. World J Diabetes, 2015. **6**(13): p. 1246-58.
99. Coutinho, M., et al., *The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years*. Diabetes Care, 1999.

100. Gerstein, H.C., et al., *Relationship of glucose and insulin levels to the risk of myocardial infarction: a case-control study*. J Am Coll Cardiol, 1999. **33**(3): p. 612-9.
101. Ishihara, M., et al., *Diabetes mellitus prevents ischemic preconditioning in patients with a first acute anterior wall myocardial infarction*. J Am Coll Cardiol, 2001. **38**(4): p. 1007-11.
102. Wider, J., et al., *Remote ischemic preconditioning fails to reduce infarct size in the Zucker fatty rat model of type-2 diabetes: role of defective humoral communication*. Basic Res Cardiol, 2018. **113**(3): p. 16.
103. Yin, X., et al., *Diabetic inhibition of preconditioning- and postconditioning-mediated myocardial protection against ischemia/reperfusion injury*. Exp Diabetes Res, 2012. **2012**: p. 198048.
104. Yadav, H.N., M. Singh, and P.L. Sharma, *Involvement of GSK-3 β in attenuation of the cardioprotective effect of ischemic preconditioning in diabetic rat heart*. Mol Cell Biochem, 2010. **343**(1-2): p. 75-81.
105. Yang, Z., et al., *Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning by inhibiting Akt phosphorylation: normalizing blood glucose before ischemia restores ischemic preconditioning*. Oxid Med Cell Longev, 2013. **2013**: p. 329183.
106. Herold, G., *Innere Medizin: eine vorlesungsorientierte Darstellung, unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. 2025, Dr. med. Gerd Herold, Dr. med. Heinz Beckers, Dr. med. Karsten Lehmann. p. 721-749 Diabetes mellitus
107. Rosenow, G., *Der Blutzucker Im Arteriellen und Venösen Blut*. Klinische Wochenschrift, 1928. **7**(16): p. 750-752.
108. Roumie, C.L., et al., *Comparative effectiveness of sulfonylurea and metformin monotherapy on cardiovascular events in type 2 diabetes mellitus: a cohort study*. Ann Intern Med, 2012. **157**(9): p. 601-10.
109. Kottenberg, E., et al., *Myocardial protection by remote ischaemic pre-conditioning is abolished in sulphonylurea-treated diabetics undergoing coronary revascularisation*. Acta Anaesthesiologica Scandinavica, 2014. **58**(4): p. 453-462.
110. Marczak, J., et al., *Is remote ischaemic preconditioning of benefit to patients undergoing cardiac surgery?* Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2012. **14**(5): p. 634-9.
111. Lange, M., et al., *Role of the beta1-adrenergic pathway in anesthetic and ischemic preconditioning against myocardial infarction in the rabbit heart in vivo*. Anesthesiology, 2006. **105**(3): p. 503-10.
112. Steensrud, T., et al., *Pretreatment with the nitric oxide donor SNAP or nerve transection blocks humoral preconditioning by remote limb ischemia or intra-arterial adenosine*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010. **299**(5): p. H1598-603.
113. Sloth, A.D., et al., *Impact of cardiovascular risk factors and medication use on the efficacy of remote ischaemic conditioning: post hoc subgroup analysis of a randomised controlled trial*. BMJ Open, 2015. **5**(4): p. e006923.
114. Cheng, X.Y., et al., *Effects of dexmedetomidine postconditioning on myocardial ischemia and the role of the PI3K/Akt-dependent signaling pathway in reperfusion injury*. Mol Med Rep, 2016. **14**(1): p. 797-803.
115. Zuo, Y., et al., *Effect of aortic root infusion of sufentanil on ischemia-reperfusion injury in patients undergoing mitral valve replacement*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2014. **28**(6): p. 1474-8.
116. Wong, G.T., et al., *Remifentanyl reduces the release of biochemical markers of myocardial damage after coronary artery bypass surgery: a randomized trial*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2010. **24**(5): p. 790-6.
117. Greco, M., et al., *Remifentanyl in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2012. **26**(1): p. 110-6.
118. Bhamra, G.S., et al., *Metformin protects the ischemic heart by the Akt-mediated inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening*. Basic Res Cardiol, 2008. **103**(3): p. 274-84.

119. Haffner, S.M., *Clustering of Cardiovascular Risk Factors*, in *Multiple Risk Factors in Cardiovascular Disease*. 1998. p. 233-237.
120. Kleinbongard P, B.H., Ovize M, Hausenloy DJ, Heusch G, *Co-morbidities and co-mediations as confounders of cardioprotection—Does it matter in the clinical setting?* British Journal of Pharmacology, 2019.
121. Yadav, H.N., M. Singh, and P.L. Sharma, *Modulation of the cardioprotective effect of ischemic preconditioning in hyperlipidaemic rat heart*. Eur J Pharmacol, 2010. **643**(1): p. 78-83.
122. Hong, J., et al., *Pharmacological Inhibition of PTEN Restores Remote Ischemic Postconditioning Cardioprotection in Hypercholesterolemic Mice: Potential Role of PTEN/AKT/GSK3beta SIGNALS*. Shock, 2019. **52**(5): p. 522-531.
123. Ma, L.L., et al., *Hypercholesterolemia Abrogates Remote Ischemic Preconditioning-Induced Cardioprotection: Role of Reperfusion Injury Salvage Kinase Signals*. Shock, 2017. **47**(3): p. 363-369.

Anhang

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Ischämie und Reperfusion.....	4
Abb. 2: Kardioprotektive Signalwege	7
Abb. 3: RIPC Protokoll.....	13
Abb. 4: Schematische Darstellung der Langendorff-Anlage.....	18
Abb. 5: Versuchsprotokoll	19
Abb. 6: Herzscheiben.....	20
Abb. 7: Infarktgrößen der vier Untersuchungsgruppen	26

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien bei der Patientenauswahl	12
Tabelle 2: Materialien in der Klinik.....	14
Tabelle 3: Materialien im Labor – Krebs-Henseleit-Puffer	21
Tabelle 4: Materialien im Labor - Chemikalien und Medikamente.....	21
Tabelle 5: Materialien im Labor - Geräte, Versuchstiere und Verbrauchsmaterialien	22
Tabelle 6: Materialien im Labor – Software	22
Tabelle 7: Patienteneigenschaften	24
Tabelle 8: Versuchstier- und Herzeigenschaften.....	25
Tabelle 9: Hämodynamische Parameter zu verschiedenen Versuchszeitpunkten	27
Tabelle 10: arterielle Nüchternblutglucose- und HbA1c-Werte der Patienten	36

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die mich auf dem Weg zur Promotion begleitet und unterstützt haben.

Zuallererst danke ich meinem Doktorvater, Prof. Dr. Dr. Ragnar Huhn-Wientgen, für das Vertrauen in mich durch die Übertragung des Themas sowie für die unkomplizierte und stets unterstützende Begleitung.

Bei Dr. Katharina Feige, dafür dass Du auch nach längeren Pausen ein offenes Ohr für meine Anliegen hattest und mich auf dem Weg zum wissenschaftlichen Arbeiten angeleitet hast.

Zudem bei Dr. Sebastian Roth, danke, dass ich mich jederzeit an Dich wenden konnte und Du mir dadurch, insbesondere während der klinischen Arbeit, ein Gefühl von Sicherheit und Selbstvertrauen vermittelt hast.

Darüber hinaus möchte ich auch allen weiteren Mitarbeitenden der Arbeitsgruppe sowie der Klinik danken, ohne deren Unterstützung die Durchführung dieser Doktorarbeit nicht möglich gewesen wäre. Mein Dank gilt, PD Dr. Dr. Carolin Torregroza, PD Dr. Annika Raupach und Dr. Martin Ströthoff.

Zuletzt, und doch am allerwichtigsten, danke ich meiner Familie und Freunden, deren ständige Begleitung, Mitfiebern und deren Glaube an mich mir in so manchen schwierigen Momenten die Motivation zurück gaben.

Insbesondere Dir, Max, danke.