Aus der Klinik für Anästhesiologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

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

Untersuchungen zur Konditionierung mit Intralipid am isoliert perfundierten Rattenherz unter physiologischen Bedingungen und bei Vorliegen einer endothelialen Dysfunktion

Dissertation

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

vorgelegt von
Jan Georg Wübbolt
2026

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

gez.:
Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker
Erstgutachterin: PD Dr. rer. nat. Annika Raupach
Zweitgutachter: Prof. Dr. Dr. med. André Heinen

Für meine Familie

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Stroethoff, M., Schneider, N., Sung, L., **Wübbolt, J**., Heinen, A., Raupach, A., *Cardioprotection by Preconditioning with Intralipid Is Sustained in a Model of Endothelial Dysfunction for Isolated-Perfused Hearts*. International Journal of Molecular Sciences, 2024. 25(20): p. 10975. [1]

Zusammenfassung

Die Kardioprotektion durch Konditionierung zur Reduktion von Ischämie- und Reperfusionsschäden (I/R) stellt angesichts der hohen Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse ein relevantes Forschungsfeld dar. In vorherigen Arbeiten der Arbeitsgruppe konnte bereits gezeigt werden, dass die Präkonditionierung mit Intralipid (IL) eine kardioprotektive Wirkung hat, wohingegen eine 10-minütige Postkonditionierung mit IL keine Protektion induzieren konnte. Neben der direkten rezeptorvermittelten Aktivierung protektiver Signalwege im Kardiomyozyten wird auch eine endothelabhängige Kardioprotektion über parakrine Mediatoren diskutiert. Die Bedeutung des Endothels für die IL-Konditionierung wurde bisher noch nicht untersucht. Ziel dieser Studie war es, den Einfluss einer endothelialen Dysfunktion (ED) auf den protektiven Effekt einer IL-Präkonditionierung sowie den kardioprotektiven Effekt einer 20-minütigen IL-Postkonditionierung zu untersuchen. Die Herzen männlicher Wistar Ratten wurden isoliert an einer modifizierten Langendorff-Apparatur druckkonstant mit Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) perfundiert. Alle Herzen durchliefen eine Einpendelungsphase, eine 33-minütige Globalischämie und eine 60-minütige Reperfusion. Zur Untersuchung des präkonditionierenden Effekts nach Induktion einer ED erfolgte eine flusskonstante Perfusion mit einem KHP mit 60 mM Kaliumchlorid (K60), gefolgt von einer 10-minütigen Perfusion mit 1 % IL vor der Ischämie. Die Postkonditionierung erfolgte durch eine 20-minütige IL-Gabe zu Beginn der Reperfusion. Die Infarktgrößen wurden nach Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) Färbung verblindet planimetrisch bestimmt. Die Perfusion mit K60 hatte keinen Einfluss auf die Infarktgröße (KonPrä: 57 ± 10 %, KonPräK60: 52 ± 12 %, ILPrä: 43 ± 13 %, ILPräK60: 37 ± 6 %; p = 0,15), während die IL-Präkonditionierung die Infarktgröße unabhängig von der ED signifikant reduzierte (p = 0,001). IL-präkonditionierte Herzen zeigten nach Reperfusion einen signifikant höheren linksventrikulär entwickelten Druck (LVDP) (p = 0,0007) und niedrigeren linksventrikulären Minimaldruck (LVP min) (p = 0,0003), wohingegen die K60-Perfusion keinen Einfluss auf die linksventrikuläre Funktion während der Reperfusion hatte. Eine 20-minütige IL-Postkonditionierung führte zu keiner signifikanten Reduktion der Infarktgröße (KonPost: 56 ± 4 %; ILPost: 59 ± 12 %; p = 0,6). In der ILPost-Gruppe war der LVDP signifikant geringer (p = 0,003) und der LVP min höher (p = 0,01) nach 60 min Reperfusion im Vergleich zur Kontrollgruppe. Zusammenfassend führte das verwendete Modell zur Induktion der ED zu keiner signifikanten Infarktgrößenreduktion, während die IL-Präkonditionierung das Herz vor I/R-Schäden, auch nach Induktion einer ED schützte. Somit scheint die Kardioprotektion durch IL endothelunabhängig zu sein. Die 20-minütige IL-Postkonditionierung hatte im verwendeten Versuchsaufbau keinen kardioprotektiven Effekt.

Abstract

Cardioprotection through conditioning to reduce ischaemia and reperfusion injury (I/R) is a relevant field of research given the high incidence of cardiovascular events. Previous work by the research group has already shown that preconditioning with intralipid (IL) has a cardioprotective effect, whereas 10 minutes of postconditioning with IL did not induce any protection. In addition to the direct receptor mediated activation of protective signalling pathways in cardiomyocytes, endothelium-dependent cardioprotection via paracrine mediators is also being discussed. The importance of the endothelium for IL conditioning has not yet been investigated. The aim of this study was to investigate the influence of endothelial dysfunction (ED) on the protective effect of IL preconditioning and the cardioprotective effect of 20 minutes of IL postconditioning. The hearts of male Wistar rats were isolated and perfused at constant pressure with Krebs-Henseleit-buffer (KHB) using a modified Langendorff apparatus. All hearts underwent a stabilisation phase, 33 minutes of global ischaemia and 60 minutes of reperfusion. To investigate the preconditioning effect after induction of ED, flow-constant perfusion with KHB containing 60 mM potassium chloride (K60) was performed, followed by 10 minutes of perfusion with 1 % IL prior to ischaemia. Postconditioning was performed by administering IL for 20 minutes at the start of reperfusion. Infarct sizes were determined blinded by planimetry after Triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining. Perfusion with K60 had no effect on infarct size (KonPrä: 57 ± 10 %, KonPräK60: 52 ± 12 %, ILPrä: 43 ± 13 %, ILPräK60: 37 ± 6 %; p = 0.15), whereas IL preconditioning significantly reduced infarct size independently of ED (p = 0.001). IL-preconditioned hearts showed significantly higher left ventricular developed pressure (LVDP) (p = 0.0007) and lower left ventricular minimum pressure (LVP min) (p = 0.0003), while K60 perfusion had no effect on left ventricular function during reperfusion. 20 minutes of IL postconditioning did not result in a significant reduction in infarct size (KonPost: 56 ± 4 %; ILPost: 59 ± 12 %; p = 0.6). In the ILPost group LVDP was significantly lower (p = 0.003) and LVP min higher (p = 0.01) after 60 minutes of reperfusion compared to the control group. In summary, the model used to induce ED did not result in any significant reduction in infarct size, whereas IL preconditioning protected the heart from I/R damage, even after induction of ED. Thus, cardioprotection by IL appears to be endothelium independent. The 20-minute IL postconditioning had no cardioprotective effect in the experimental setup used.

Abkürzungsverzeichnis

AMI	Akuter Myokardinfarkt
ATP	Adenosintriphosphat
BGA	Blutgasanalyse
bpm	Schläge pro Minute
Casp	Caspase
CF	Koronarfluss
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
CPP	Koronarer Perfusionsdruck
Cyt C	Cytochrom C
ED	Endotheliale Dysfunktion
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
GSK-3β	Glykogensynthasekinase-3-beta
HF	Herzfrequenz
HKE	Herz-Kreislauf-Erkrankungen
I/R	Ischämie/Reperfusion
IL	Intralipid
IPC	Ischämische Präkonditionierung
IPostC	Ischämische Postkonditionierung
KCl	Kaliumchlorid
KHP	Krebs-Henseleit-Puffer
L-NAME	Nω-Nitro-L-Arginin-Methylester
LDL	*Low Density Lipoprotein*
LVDP	Linksventrikulär entwickelter Druck
LVP	Linksventrikulärer Druck
LVP max	Maximaler linksventrikulärer Druck

LVP min	Minimaler linksventrikulärer Druck
mPTP	Mitochondriale Permeabilitäts- und Transitionspore
NCX	Natrium-Calcium-Austauscher
NHE	Natrium-Protonen-Austauscher
NKA	Natrium-Kalium-ATPase
nNOS	Neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOX	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat-Oxidase
OXPHOS	Oxidative Phosphorylierung
PKG	Proteinkinase G
RISK	*Reperfusion injury salvage kinase*
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SAFE	*Survivor activating factor enhancement*
SERCA	Sarkoplasmatische Calcium-ATPase
SNP	Natriumnitroprussid
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
ZETT	Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben
ΔΨm	mitochondriales Membranpotential

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

1.1 Ischämische Herzerkrankungen 1

1.1.1 Relevanz 1

1.1.2 Pathophysiologische Grundlagen 2

1.2 Ischämie- und Reperfusionsschaden 3

1.2.1 Mechanismen der Zellschädigung 3

1.2.2 Klinische Bedeutung 6

1.3 Kardioprotektion durch Konditionierung 7

1.3.1 Überblick über Konditionierungsstrategien 7

1.3.2 Translation kardioprotektiver Strategien 9

1.4 Endothel 10

1.4.1 Physiologische Funktionen des Endothels 10

1.4.2 Pathophysiologie der endothelialen Dysfunktion 11

1.4.3 Relevanz der ED für die Forschung zur Kardioprotektion 12

1.5 Intralipid als kardioprotektives Agens 13

1.5.1 Zusammensetzung, Eigenschaften und medizinische Anwendungen 13

1.5.2 Evidenz für kardioprotektive Effekte 13

1.5.3 Wirkmechanismen im Rahmen der Konditionierung 14

1.6 Das isoliert perfundierte Herz nach Langendorff 15

1.6.1 Beschreibung des Modells und Relevanz 15

1.6.2 Induktion einer endothelialen Dysfunktion im Langendorff-Modell 16

1.7 Ziele der Arbeit 17

2 Material und Methoden 19

2.1 Übersicht der verwendeten Materialien 19

2.2 Versuchstiere 25

2.3 Aufbau der Langendorff-Anlage 26

2.4 Krebs-Henseleit-Puffer 29

2.5 K60-Puffer 29

2.6 Intralipid 29

2.7 Versuchsablauf 30

2.7.1 Vorbereitung der Langendorff-Anlage 30

2.7.2 Anästhesie und Explantation des Herzens 30

2.7.3 Herzpräparation an der Langendorff-Anlage 31
2.7.4 Ballonplatzierung und Druckmessung 31
2.7.5 Ischämie und Reperfusion 32
2.7.6 Protokoll der Präkonditionierung unter endothelialer Dysfunktion 32
2.7.7 Protokoll der Postkonditionierung 33
2.8 Infarktgrößenbestimmung 34
2.9 Hämodynamische Analyse 35
2.10 Statistische Auswertung 36
3 Ergebnisse 37
3.1 Präkonditionierung mit Intralipid unter endothelialer Dysfunktion 37
3.1.1 Infarktgrößen 37
3.1.2 Hämodynamische Variablen 38
3.1.3 Daten der Versuchstiere 40
3.2 Postkonditionierung mit Intralipid 41
3.2.1 Infarktgrößen 41
3.2.2 Hämodynamische Variablen 42
3.2.3 Daten der Versuchstiere 44
4 Diskussion 45
4.1 Diskussion der Ergebnisse 45
4.1.1 Präkonditionierung unter endothelialer Dysfunktion 45
4.1.2 Postkonditionierung mit Intralipid 48
4.2 Diskussion der Methodik 52
4.2.1 Verwendung des Langendorff-Modells 52
4.2.2 Induktion der endothelialen Dysfunktion im Langendorff-Modell 53
4.2.3 Kombination von fluss- und druckkonstanter Langendorff-Anlage 54
4.2.4 Einfluss der Perfusion mit K60 auf I/R-Schäden 54
4.2.5 Herstellung und Perfusion der Intralipidlösung 55
4.3 Relevanz und Übertragbarkeit 56
4.4 Limitationen 59
4.5 Schlussfolgerung und Ausblick 60
5 Literaturverzeichnis 62
6 Abbildungsverzeichnis 71
7 Tabellenverzeichnis 72

1 Einleitung

1.1 Ischämische Herzerkrankungen

1.1.1 Relevanz

Herz-Kreislauf-Erkrankungen (HKE) sind weltweit für etwa ein Drittel aller Todesfälle verantwortlich. Unter diesen Erkrankungen zählt die ischämische Herzerkrankung zu den Hauptursachen für Mortalität und Morbidität. [2] Laut der Weltgesundheitsorganisation war sie im Jahr 2021 für 9,1 Millionen Tode verantwortlich, was 13 % aller Todesfälle entspricht. [3] Dieser Trend spiegelt sich besonders in Industrieländern wie Deutschland wider, wo HKE im Jahr 2023 mit 33,9 % die Hauptursache für Mortalität darstellten. Unter den HKE führte die chronisch ischämische Herzerkrankung die Liste der häufigsten Todesursachen mit 21,4 % an, gefolgt vom akuten Myokardinfarkt (AMI) mit 12,6 %. [4] Diese beiden Erkrankungen sind eng miteinander verbunden, da die chronisch ischämische Herzerkrankung einen wesentlichen Risikofaktor für einen späteren AMI darstellt. [5] Die Herzinsuffizienz als häufige Krankheitsfolge des AMI trägt wesentlich zur Mortalität der ischämischen Herzerkrankung bei. [6]

Durch die steigende Lebenserwartung und die veränderte Altersstruktur der Bevölkerung wird die Inzidenz und Prävalenz von HKE in den nächsten Jahren weiter steigen. [7] Parallel dazu nimmt die Zahl operativer Eingriffe weltweit zu, sodass immer häufiger Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren operiert werden. [8] Diese Patientengruppe hat während und nach nicht kardiochirurgischen Eingriffen ein erhöhtes Mortalitätsrisiko. Eine häufige Komplikation stellt in diesem Zusammenhang der perioperative Myokardinfarkt dar, der mit einer hohen 30-Tage-Mortalität verbunden ist. [9]

Neben den individuellen gesundheitlichen Folgen stellt die hohe Prävalenz von HKE eine erhebliche ökonomische Belastung für das Gesundheitssystem dar. Im Jahr 2020 beliefen sich die durch HKE verursachten Kosten in Deutschland auf

56,7 Milliarden Euro, was 13,1 % des gesamten Krankheitskostenvolumens entspricht. Dadurch rangieren HKE an erster Stelle der krankheitsbedingten Kosten in Deutschland. [10]

Die beschriebenen Punkte verdeutlichen die Notwendigkeit weiterer Forschung zur Reduzierung des Schadens durch HKE, um die individuellen Gesundheitsfolgen und die ökonomische Belastung des Gesundheitssystems zu reduzieren.

1.1.2 Pathophysiologische Grundlagen

Eine myokardiale Ischämie ist häufig die Folge von koronarer Atherosklerose, einer chronisch entzündlichen Erkrankung arterieller Gefäßwände. Bei der Atherosklerose kommt es zu Endothelschäden und in der Folge zu Lipidablagerungen in den Gefäßwänden. [11] Diese Lipidakkumulation löst eine Entzündungsreaktion aus, die zur Bildung atherosklerotischer Plaques führt. Zu den wesentlichen Risikofaktoren zählen unter anderem eine Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus. Die Verengung der Koronargefäße durch die Bildung atherosklerotischer Plaques führt zu einer Minderdurchblutung des versorgten Myokardareals, was als Ischämie bezeichnet wird. Die Funktion der Herzmuskelzellen wird in der Folge durch die Minderversorgung der Kardiomyozyten mit Sauerstoff und Nährstoffen gestört. [12]

Wenn bei einer schwerwiegenden und anhaltenden Ischämie Kardiomyozyten zugrunde gehen, spricht man von einem Myokardinfarkt. Dieser tritt typischerweise als Folge eines partiellen oder vollständigen Verschlusses einer epikardialen Koronararterie durch einen intraluminalen Thrombus auf. Ausgelöst durch Ruptur oder Erosion einer instabilen atherosklerotischen Plaque werden prothrombotische Bestandteile freigesetzt, die zur Thrombozytenaggregation und Aktivierung der Gerinnungskaskade führen. Alternativ kann ein Myokardinfarkt auch durch Koronarspasmen, Embolisationen oder Gefäßdissektionen verursacht werden, die den Blutfluss in den Koronararterien einschränken und eine Ischämie auslösen. [13-15]

Bei einem AMI stellt die frühzeitige Wiederherstellung der Perfusion die einzige Möglichkeit dar, den fortschreitenden Zelluntergang zu limitieren und ischämisches Gewebe zu retten. Die perkutane Koronarintervention (PCI) und die chirurgische koronare Bypassoperation zählen heute zu den Standardtherapien des AMI und ermöglichen durch ihre breite Etablierung eine frühzeitige Reperfusion. Die Reperfusion ist notwendig, um den Infarkt zu limitieren, führt jedoch paradoxerweise auch zu einer weiteren Schädigung des Myokards. [16, 17] Die Größe des abschließenden Infarktareals wird dabei bis zu 50 % durch den Schaden während der Reperfusion bestimmt und scheint daher den Erfolg einer frühzeitigen Reperfusion abzuschwächen. In Kombination wird dieses Phänomen auch als Ischämie- und Reperfusionsschaden (I/R-Schaden) bezeichnet. [18]

1.2 Ischämie- und Reperfusionsschaden

1.2.1 Mechanismen der Zellschädigung

Unter dem Begriff I/R-Schaden werden Prozesse zusammengefasst, die während einer anhaltenden Ischämie mit anschließender Reperfusion zu einer Schädigung des Myokards führen. [19] Der I/R-Schaden am Herzen resultiert in unterschiedlichen Typen kardialer Dysfunktion: Myokardiales *Stunning*, *No-reflow* Phänomen, Arrhythmien während der Reperfusion und myokardialer Zelluntergang. [18] Zu den zugrundeliegenden Mechanismen, die zum irreversiblen Zelluntergang beitragen, zählen oxidativer Stress, intrazelluläre Calciumüberladung sowie eine gesteigerte Öffnungswahrscheinlichkeit der mitochondrialen Permeabilitäts- und Transitionspore (mPTP). [18, 20] In Abbildung 1 (Abb. 1) sind die zentralen Mechanismen des I/R-Schadens schematisch dargestellt.

Während der Ischämie wird der Zellmetabolismus der Kardiomyozyten aufgrund des Sauerstoffmangels von der oxidativen Phosphorylierung auf die anaerobe Glykolyse umgestellt, um den Energiebedarf der Zelle weiterhin zu decken. Kurzfristig kann der anaerobe Stoffwechsel die zellulären Prozesse aufrechterhalten, doch bei anhaltender Ischämie reicht die Adenosintriphosphat-Produktion (ATP-Produktion) nicht aus, um die sarkolemmalen Ionengradienten und das mito-

chondriale Membranpotenzial zu stabilisieren. Dies führt zur Bildung eines intrazellulären Ödems und vermehrter Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), die zur Nekrose der Zelle beitragen. Zudem akkumulieren Stoffwechselprodukte wie anorganisches Phosphat und Laktat. Die gleichzeitig zunehmende Protonenkonzentration führt zu einem Abfall des intrazellulären pH-Wertes. [21] Der pH-Abfall steigert die Aktivität des Natrium-Protonen-Austauschers (Na^+/H^+-Austauschers) und führt dadurch zu einem Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration. Dieser Anstieg wird infolge des ATP-Mangels durch die verminderte Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase (Na^+/K^+-ATPase) weiter verstärkt. Der erhöhte intrazelluläre Natriumspiegel wiederum aktiviert den energieunabhängigen Natrium-Calcium-Austauscher (Na^+/Ca^{2+}-Austauscher), der in umgekehrter Richtung Na^+ aus der Zelle und Ca^{2+} in die Zelle transportiert. In der Folge steigt die intrazelluläre Calciumkonzentration stark an. [22] Durch die erhöhte Calciumkonzentration bei gleichzeitigem ATP-Mangel wird die Zelle während der Ischämie in einer Hyperkontraktur gehalten. Die Calciumüberladung trägt über eine Aktivierung von Phospholipasen und Proteasen zur Schädigung und folglich Nekrose der Zelle bei. Die während der Ischämie auftretende Azidose verlangsamt diese Prozesse und hält die mPTP, ein nicht selektiver Kanal auf der inneren Mitochondrienmembran, geschlossen. [18]

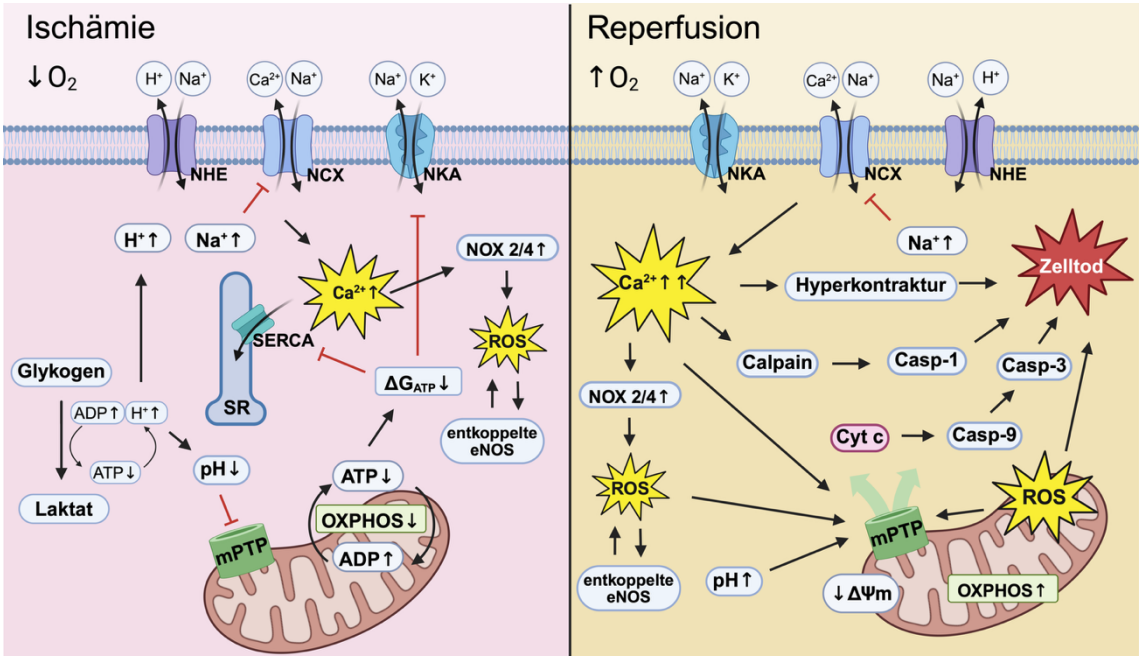


Abb. 1: Schematische Darstellung der zentralen Mechanismen des Ischämie- und Reperfusionsschadens

Casp = Caspase, Cyt C = Cytochrom C, eNOS = endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, mPTP = mitochondriale Permeabilitäts- und Transitionspore, NCX = Natrium-Calcium-Austauscher, NHE = Natrium-Protonen-Austauscher, NKA = Natrium-Kalium-ATPase, NOX = Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat-Oxidase, OXPHOS = oxidative Phosphorylierung, ROS = Reaktive Sauerstoffspezies, SERCA = Sarkoplasmatische Calcium-ATPase, SR = Sarkoplasmatisches Retikulum, ΔΨm = mitochondriales Membranpotential. Erstellt mit BioRender.com. Modifiziert nach Wang et al. [23] und Hofmann et al. [24].

In der folgenden Reperfusion werden die Kardiomyozyten wieder mit Sauerstoff versorgt und die ATP-Bereitstellung erfolgt erneut über die mitochondriale Atmungskette. [23] Es kommt dabei zu einer raschen Wiederherstellung des physiologischen pH-Wertes durch das Auswaschen des akkumulierten Laktats und die Aktivierung des Na^+/H^+-Austauschers durch den Anstieg der ATP-Konzentration. Die folgende Erhöhung der intrazellulären Natriumkonzentration führt zu einer weiteren Beeinträchtigung oder Umkehrung des Na^+/Ca^{2+}-Austauschers, sodass Na^+ aus der Zelle transportiert wird auf Kosten einer stärkeren Ca^{2+} Überladung. Die starke Erhöhung des zytosolischen Calciumspiegels führt unter anderem zur Aktivierung von Calpainen. Diese proteolytischen Enzyme bauen Zellstrukturen ab und setzen Caspasen frei, indem sie diese programmierten Zelltodenzyme aus dem Zytoskelett lösen. Durch die Reperfusion wird auch die

Produktion von ROS stark angeregt, unter anderem durch die entkoppelte endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) und die Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat-Oxidasen 2/4 (NOX 2/4), was zu weiteren Zellschäden führt. [23] ROS locken neutrophile Granulozyten an, oxidieren zelluläre Bestandteile und aktivieren proteolytische Enzyme. [25] Zudem verursachen sie eine dysfunktionale Freisetzung von Calcium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum. Die daraus resultierenden unkontrollierten Hyperkontraktionen manifestieren sich morphologisch in Form von Kontraktionsnekrosen während der Reperfusion. [18]

Die mitochondriale Dysfunktion spielt eine zentrale Rolle bei der Vermittlung myokardialen Schadens. Der erhöhte zytosolische Calciumspiegel führt zu einer Überladung der Mitochondrien mit Calcium. In Kombination mit der unregulierten ROS-Produktion und einem raschen Anstieg des intrazellulären pH-Wertes begünstigt dies die Öffnung der mPTP. Deren Öffnung erhöht die Permeabilität der inneren Mitochondrienmembran und ermöglicht den Austausch gelöster Stoffe sowie den Einstrom von Wasser aus dem Zytosol. Das führt zur Depolarisation der mitochondrialen Membran, zur Schwellung und Ruptur der Matrix und letztlich zum Zelltod. [26-28] Unter anderem wird Cytochrom C aus den Mitochondrien in das Zytosol freigesetzt, wo es Caspasen aktiviert und dadurch die Apoptose einleitet. [23] Neben dem Zelluntergang durch Nekrose und Apoptose wurde in den vergangenen Jahren auch die Beteiligung weiterer programmierter Zelltodesmechanismen wie Nekroptose, Ferroptose und Pyroptose beschrieben. [29]

1.2.2 Klinische Bedeutung

Durch die Standardisierung von Reperfusionsstrategien und Verbesserung der Akutversorgung konnte die Mortalität infolge koronarer Herzerkrankungen seit 1998 deutlich gesenkt werden. [30] Trotz dieser Fortschritte bleibt die Sterblichkeit nach einem abgelaufenen Infarkt weiterhin auf einem hohen Niveau. Daher ist die Erforschung additiver Interventionen zum Schutz des Herzens vor I/R-Schaden von zentraler Bedeutung, um die Entwicklung und den Progress von

HKE weiter zu reduzieren. Im Fokus der Forschung stehen nicht nur kardioprotektive Strategien beim ST-Hebungsinfarkt, sondern auch Maßnahmen zur Reduktion periprozeduraler Myokardinfarkte im Rahmen einer elektiven PCI sowie perioperativer Myokardinfarkte bei operativer Revaskularisation. Auch bei großen herzchirurgischen Eingriffen ist eine zusätzliche Kardioprotektion erforderlich. [31] Die Infarktgröße nach einem Myokardinfarkt steht in engem Zusammenhang mit dem linksventrikulären Remodelling und der Entwicklung einer Herzinsuffizienz. [32] Sie hat somit einen wesentlichen Einfluss auf die Prognose nach einer PCI. [33] Vor diesem Hintergrund richtet sich das Forschungsinteresse verstärkt auf zusätzliche kardioprotektive Maßnahmen, die das Ausmaß des infarzierten Myokards nach I/R-Schaden reduzieren können.

1.3 Kardioprotektion durch Konditionierung

1.3.1 Überblick über Konditionierungsstrategien

Eine Möglichkeit, das Herz vor I/R-Schäden zu schützen, stellt die Konditionierung dar. Dieses Konzept beruht auf der Beobachtung, dass das Herz durch kontrollierte Stressreize widerstandsfähiger gegenüber Schädigungen wird, die bei längerer Ischämie und anschließender Reperfusion auftreten. [19] In den vergangenen Jahren wurden verschiedene Ansätze erforscht, um eine Konditionierung des Herzens zu induzieren. Die ischämische Präkonditionierung (IPC) ist die älteste und am besten untersuchte Methode, um eine Kardioprotektion auszulösen. Erstmals wurde die IPC am Herzen im Jahr 1986 von Murray et al. beschrieben. Die Autoren zeigten in einer *in vivo* Studie am Herzen von Hunden, dass durch wiederholte kurze Zyklen von I/R (4 x 5 Minuten Ischämie, gefolgt von 5 Minuten Reperfusion) vor einer längeren Ischämiephase von 40 Minuten eine Infarktgrößenreduktion um 70 % nach einer 4-tägigen Reperfusion erzielt werden konnte. [34] In den darauffolgenden Jahren wurde die Protektion durch IPC in weiteren Studien an anderen tierischen Spezies und auch am Menschen bestätigt. [35-38] Neben dem Herzen wurde der protektive Effekt einer IPC auch in anderen Organen, wie beispielsweise der Leber [39], der Niere [40] und dem Ge-

hirn [41] nachgewiesen. Ein Nachteil der Präkonditionierung im klinischen Kontext besteht darin, dass der Zeitpunkt des ischämischen Ereignisses im Voraus bekannt sein muss. Das ist bei herz- und gefäßchirurgischen Eingriffen sowie elektiven PCIs der Fall, jedoch nicht bei Patienten mit AMI. [19] Vor diesem Hintergrund stellte die erstmalige Beschreibung der ischämischen Postkonditionierung (IPostC) durch Zhao et al. im Jahr 2003 einen weiteren Meilenstein dar. Die Autoren zeigten, dass die Applikation kurzer mehrfacher I/R-Zyklen direkt nach einer andauernden Ischämie die Infarktgröße bei Hunden reduzieren konnte. [42]

Ein protektiver Effekt am Herzen im Sinne einer Infarktgrößenreduzierung kann auch durch kurze, nicht letale I/R-Zyklen an den Extremitäten oder anderen parenchymatösen Organen ausgelöst werden. [43] Diese Methode, genannt ischämische Fernkonditionierung, stellt eine nicht invasive und einfach zu applizierende Alternative zur ischämischen Konditionierung dar. Die Konditionierung kann dabei vor (*remote ischemic preconditioning*), während (*remote ischemic perconditioning*) oder nach einer Ischämie (*remote ischemic postconditioning*) appliziert werden. Trotz einiger vielversprechender Studien ist der Nachweis eines Benefits der ischämischen Fernkonditionierung in großen klinischen Studien bisher nicht gelungen. [44]

Eine Konditionierung des Herzens kann auch durch Pharmaka ausgelöst werden. Ziel der pharmakologischen Konditionierung ist dabei entweder die Inhibition schädlicher Prozesse, beispielsweise durch das Abfangen von ROS, oder die Aktivierung schützender Signalwege. [19] In präklinischen Studien konnten bereits kardioprotektive Wirkungen verschiedener Substanzen nachgewiesen werden, darunter Opioide, Bradykinin, Acetylcholin, Testosteron sowie volatile Anästhetika. [45] Die pharmakologische Konditionierung stellt aufgrund ihrer geringen Invasivität und einfachen Anwendbarkeit eine attraktive Methode zur Kardioprotektion dar. Bisher ist es allerdings nicht gelungen, einen effektiven kardioprotektiven Wirkstoff aus experimentellen Studien in der Klinik erfolgreich zu etablieren, weshalb an den Ursachen einer ausbleibenden erfolgreichen Translation weiter geforscht wird.

Unabhängig von der jeweiligen Konditionierungsstrategie sind ähnliche intrazelluläre Signalwege beteiligt. Zahlreiche Signalmoleküle, die eine Rolle bei der Vermittlung von konditionierenden Effekten im Kardiomyozyten spielen, konnten bereits identifiziert werden. Die Gesamtheit und Wechselwirkungen der verschiedenen intrazellulären Signalmolekülen sind dabei noch nicht vollständig verstanden. Drei zentrale Signalwege der Kardioprotektion sind der *Reperfusion Injury Salvage Kinase* (RISK) Signalweg, der *Survivor Activating Factor Enhancement* (SAFE) Signalweg und der Stickstoffmonoxid-zyklisches Guanosinmonophosphat-Proteinkinase-G (NO-cGMP-PKG) Signalweg. Als gemeinsamer Endeffektor dieser Signalwege spielt das Mitochondrium eine zentrale Rolle. Die Protektion wird dabei unter anderem über die Öffnung des mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanals und die Hemmung der Öffnung der mPTP vermittelt. [46]

1.3.2 Translation kardioprotektiver Strategien

Trotz vielversprechender Ergebnisse präklinischer Untersuchungen zu verschiedenen kardioprotektiven Interventionen und einiger positiver klinischer Studien ist eine Etablierung konditionierender Strategien in die klinische Praxis bisher nicht gelungen. [47-49] Es ist allgemein anerkannt, dass häufige Komorbiditäten wie arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus oder Hyperlipidämie sowie Komedikationen, etwa Thrombozytenaggregationshemmer oder Antiarrhythmika, die Wirksamkeit kardioprotektiver Strategien abschwächen können. [49, 50] Auch nicht modifizierbare Risikofaktoren wie Alter und Geschlecht gelten als wichtige inhibierende Einflussfaktoren der Kardioprotektion. [51] Gerade bei Patienten mit ischämischen Herzerkrankungen, die ein erhöhtes Risiko haben, einen I/R-Schaden zu erleiden, liegen die genannten Störfaktoren häufig vor. In präklinischen Studien werden hingegen meist junge, gesunde Tiere eingesetzt, wodurch relevante Einflussfaktoren der Konditionierung nicht abgebildet werden. Die großen Unterschiede zwischen der kontrollierten Umgebung experimenteller Untersuchungen und den komplexen Bedingungen klinischer Studien mit zahlreichen Einflussgrößen stellen eine zentrale Hürde für die erfolgreiche Translation dar. [52] Um die klinische Relevanz präklinischer Forschung zu verbessern,

sollten daher neue kardioprotektive Therapien zunächst in Tiermodellen, die beispielsweise Komorbiditäten oder Komedikationen der Patienten berücksichtigen, getestet werden. Dies ermöglicht ein besseres Verständnis des individuellen Therapieansprechens und schafft die Grundlage für eine gezieltere Planung klinischer Studien. Nur so kann langfristig eine erfolgreiche Translation kardioprotektiver Strategien in die klinische Anwendung gelingen. [53]

1.4 Endothel

1.4.1 Physiologische Funktionen des Endothels

Das Gefäßendothel bildet die innere Zellschicht der Blutgefäße und übernimmt als endokrines Organ eine Vielzahl von Funktionen, die weit über eine reine Barrierefunktion hinausgehen. Im gesunden Gefäßsystem steuert das Endothel den Gefäßtonus durch Synthese und Freisetzung vasoaktiver Substanzen. Ein zentraler Signalstoff in diesem Zusammenhang ist NO. Die Entdeckung, dass es sich bei dem bereits zuvor beschriebenen „aus dem Endothel stammenden Relaxationsfaktor“ um NO handelt, war ein bedeutender Durchbruch für die Forschung am Endothel, für den Robert Furchgott, Louis Ignarro und Ferid Murad 1998 den Nobelpreis für Medizin erhielten. [54] NO wird durch die Aktivierung der eNOS gebildet, nachdem endotheliale Chemorezeptoren oder Mechanorezeptoren stimuliert wurden. Anschließend diffundiert NO in die benachbarte glatte Gefäßmuskulatur und induziert dort eine Vasodilatation durch Aktivierung der cGMP-Signalkaskade. [55] NO ist nicht nur ein starker Vasodilatator, sondern hemmt auch die Thrombozytenaggregation, die Leukozytenadhäsion sowie die Proliferation und Migration glatter Gefäßmuskelzellen. Darüber hinaus reduziert NO oxidativen Stress und wirkt antiinflammatorisch. [56] Neben der Regulation des Gefäßtonus steuert das Endothel als semipermeable Membran die Extravasation von Flüssigkeiten, Makromolekülen und Blutzellen. Zudem hält es ein Gleichgewicht zwischen Gerinnung und Fibrinolyse aufrecht und spielt eine wichtige Rolle bei der Regulierung von Immunreaktionen, Inflammation und Angiogenese. [57] Am Endothel freigesetzte Substanzen, insbesondere NO, spielen außerdem eine

Rolle beim Schutz vor I/R-Schäden. Erhöhte NO-Spiegel führten zu einer kardioprotektiven Wirkung in Mausmodellen *in vivo*. [58] Bei Mäusen mit einem eNOS-Knockout zeigte sich zudem ein größerer I/R-Schaden mit einer signifikant erhöhten Infarktgröße und einer vermehrten Ansammlung neutrophiler Granulozyten im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen. [59] Zu den Mechanismen der Protektion scheinen die Verringerung der Calciumüberladung, die Hemmung der ROS-Bildung und Öffnung der mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanäle zu gehören. [60]

1.4.2 Pathophysiologie der endothelialen Dysfunktion

Die endotheliale Dysfunktion (ED) fördert die Entwicklung zahlreicher Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems und ist mit typischen kardiovaskulären Risikofaktoren wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie und Rauchen assoziiert. Sie ist gekennzeichnet durch einen Funktionsverlust des Endothels als zentraler Regulator der Gefäßhomöostase und einer gestörten Balance zwischen vasodilatatorischen und vasokonstriktorischen Faktoren. [61] Im Jahr 1998 beschrieben Hunt und Jurd fünf zentrale Mechanismen, die die ED kennzeichnen. Dazu zählen der Verlust der vaskulären Integrität, die vermehrte Expression von Adhäsions-Molekülen, die Ausbildung eines prothrombotischen Milieus, die vermehrte Produktion von Zytokinen sowie die Hochregulation von Leukozytenantigenen. [62] Die meisten kardiovaskulären Risikofaktoren sind Treiber dieser proinflammatorischen Aktivierung des Endothels und führen zu einer Einschränkung der Endothelfunktion, was die Entwicklung chronischer Gefäßerkrankungen, wie der Atherosklerose, begünstigt. [63] Die ED stellt eine der frühesten nachweisbaren Veränderungen einer späteren atherosklerotischen Läsion in vorgeschädigten Bereichen des Gefäßsystems dar. [64]

In der Pathogenese der ED ist oxidativer Stress ein zentraler Mechanismus. [65] Die vermehrte Bildung von ROS in Endothelzellen wird durch verschiedene schädigende Einflüsse ausgelöst, darunter oxidiertes *Low Density Lipoprotein* (LDL), erhöhte Plasmaglukose, freie Fettsäuren, Feinstaub oder Schwermetalle wie Arsen. ROS können durch Oxidation von Makromolekülen, wie Nukleinsäuren,

Lipiden oder Proteinen, strukturelle und funktionelle Schäden im vaskulären Endothel verursachen. [55] Für die ROS-Produktion in den Endothelzellen ist unter anderem die sogenannte Entkopplung der eNOS verantwortlich. Die entkoppelte eNOS produziert statt des vasoprotektiven NO vermehrt Superoxid-Radikale. Diese können mit NO zu Peroxynitrit reagieren, was zu weiterem oxidativem Stress führt. Oxidativer Stress ist eine wesentliche Ursache für die eNOS-Entkopplung und Reduktion der NO-Bioverfügbarkeit. Aufgrund der zentralen Bedeutung von NO für die physiologische Funktion des Endothels (s. Abschnitt 1.4.1) wird eine ED häufig vereinfacht durch eine verminderte Bioverfügbarkeit von NO definiert. [66]

Scherstress zählt neben Inflammation und oxidativem Stress zu den wichtigsten Ursachen einer reduzierten NO-Bioverfügbarkeit. [65] Ein physiologischer Scherstress infolge laminarer Strömung ist wichtig für die Aufrechterhaltung der Gefäßfunktion und wirkt über die Aktivierung der eNOS atheroprotektiv. Im Gegensatz dazu ist ein niedriger Scherstress, wie er bei turbulenter Strömung im Bereich von Gefäßverzweigungen oder dem Aortenbogen auftritt, mit einer ED assoziiert. Auch ein dauerhaft erhöhter Scherstress, wie er im Rahmen einer arteriellen Hypertonie vorliegt, kann über eine gesteigerte mechanische Belastung des Endothels oxidativen Stress verursachen und die NO-Bioverfügbarkeit beeinträchtigen. [67]

1.4.3 Relevanz der ED für die Forschung zur Kardioprotektion

In der klinischen Praxis ist bisher kein standardisiertes Screening zur Erfassung einer ED etabliert, weshalb sich ihre Prävalenz nicht exakt angeben lässt. [61] Aufgrund der engen Assoziation der ED mit Atherosklerose und kardiovaskulären Risikofaktoren ist jedoch davon auszugehen, dass sie insbesondere in Patientenkollektiven mit erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse und I/R-Schäden weit verbreitet ist. Besonders diese Patienten würden von wirksamen kardioprotektiven Strategien profitieren. Kardioprotektive Effekte einiger Konditionierungsstrategien scheinen jedoch durch eine ED abgeschwächt zu werden. Zudem ist ein funktionsfähiges Endothel an kardioprotektiven Signalwegen beteiligt. [68, 69]

Vor diesem Hintergrund ergibt sich die Notwendigkeit, kardioprotektive Strategien unter pathophysiologisch relevanten Bedingungen wie einer bestehenden ED zu untersuchen, um deren Wirksamkeit unter realitätsnäheren Voraussetzungen besser beurteilen zu können und eine spätere erfolgreiche Translation in die Klinik zu ermöglichen.

1.5 Intralipid als kardioprotektives Agens

1.5.1 Zusammensetzung, Eigenschaften und medizinische Anwendungen

Intralipid (IL) ist der Markenname einer Lipidemulsion, die 1962 von Arvid Wretlind zur parenteralen Ernährung entwickelt und anschließend für den klinischen Gebrauch am Menschen zugelassen wurde. [70] IL wird auf Basis von Sojabohnenöl und Eigelb hergestellt und enthält Phospholipide, Glycerin und neutrale Triglyceride. Die wichtigsten Fettsäurebestandteile sind Linolsäure (~ 60 %), Ölsäure (~ 30 %) und Palmitinsäure (~ 10 %). Im klinischen Setting wird IL sowohl zur parenteralen Ernährung als auch als Vehikel für zahlreiche lipophile Medikamente, wie beispielsweise Propofol, eingesetzt. [71] Darüber hinaus ist IL die Erstlinientherapie bei systemischer Lokalanästhetika-Toxizität, einer potenziell lebensbedrohlichen Komplikation regionaler Nervenblockaden. [72, 73] Auch zur Behandlung von Überdosierungen mit lipophilen Substanzen, wie trizyklischen Antidepressiva, Betablockern, Calciumkanalblockern oder Bupropion wird IL angewendet. [74]

1.5.2 Evidenz für kardioprotektive Effekte

In den vergangenen Jahren konnten kardioprotektive Effekte einer Konditionierung mit IL nachgewiesen werden. Im Jahr 2011 zeigten Rahman et al. *in vivo* am Rattenherzen und *in vitro* am Mäuseherzen, dass die Applikation von IL zu Beginn der Reperfusion die Infarktgröße signifikant reduzierte und die funktionelle Erholung im Vergleich zur Kontrolle verbesserte. [75] In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe bestätigten Li et al. diese Ergebnisse und zeigten, dass die Wirkung von IL im Vergleich zu Ciclosporin A, einem bekannten mPTP-Inhibitor,

überlegen war. [76] Der kardioprotektive Effekt einer IL-Postkonditionierung wurde in späteren Studien auch unter modifizierten Bedingungen beobachtet, beispielsweise *ex vivo* an Herzen trächtiger Ratten oder in strukturell umgebauten Rattenherzen nach Myokardinfarkt. [77, 78]

In einer Studie unserer Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass die Präkonditionierung mit IL im unbehandelten *ex vivo* Rattenherz einen protektiven Effekt im Sinne einer Infarktgrößenreduktion und Verbesserung der Herzfunktion nach I/R-Schaden vermittelt. [1] Im Gegensatz zur Studie von Rahman et al. führte die Postkonditionierung mit IL für 10 Minuten allerdings zu keiner signifikanten Infarktgrößenreduktion. [1, 75]

Erste klinische Studien mit kleinen Patientenkollektiven zeigten bisher keine konsistenten Hinweise auf eine kardioprotektive Wirkung durch IL. Während in einzelnen Studien eine Reduktion kardialer Biomarker nach Bypass-Operationen ohne Herz-Lungen-Maschine durch die IL-Konditionierung nachgewiesen werden konnte, blieben signifikante Effekte auf die untersuchten klinischen Endpunkte aus. [79, 80]

1.5.3 Wirkmechanismen im Rahmen der Konditionierung

In tierexperimentellen Studien wurden bereits erste beteiligte Signalwege der IL-Konditionierung identifiziert. Rahman et al. zeigten, dass die kardioprotektive Wirkung von IL über die Aktivierung des RISK-Signalwegs vermittelt wird. [75] Zentrale Komponenten dieses Signalwegs sind die Proteinkinase B sowie die extrazellulär regulierten Kinasen 1/2. Deren Aktivierung führt zur Phosphorylierung und damit Inaktivierung der Glykogensynthasekinase-3-beta (GSK-3β). Die inaktive, phosphorylierte Form von GSK-3β hemmt die Öffnung der mPTP. Durch Inhibition der mPTP-Öffnung scheint die Myokardprotektion durch IL entscheidend vermittelt zu werden. [75] Lou et al. zeigten, dass Palmitoylcarnitin, ein Metabolit der in IL zu etwa 10–15 % enthaltenen Fettsäure Palmitinsäure, den Komplex IV der Atmungskette hemmt und dadurch moderat ROS generiert. [81] Diese frühe ROS-Produktion während der Reperfusion aktiviert den RISK-Signalweg und führt zu einer Reduktion des I/R-Schadens. Bemerkenswert ist, dass nur Palmitoylcarnitin, nicht aber Oleoyl- oder Linolylcarnitin, diese Effekte auslöste. [81]

In einer Untersuchung von Ma et al. am hypertrophierten Rattenmyokard war die kardioprotektive Wirkung einer IL-Präkonditionierung aufgehoben. Die Autoren führten dies auf Veränderungen des RISK/GSK-3β-Signalwegs zurück. [82]

In einer Studie von Weihrauch et al. wurde gezeigt, dass die Behandlung humaner Endothelzellen mit 1 % IL über einen Zeitraum von 2 Stunden zu einer Aktivierung der eNOS und einer vermehrten Freisetzung von NO führt. Dieser Effekt konnte durch die Hemmung der eNOS mit Nω-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME) blockiert werden. Die Autoren schlussfolgerten, dass IL die eNOS-Aktivität im Endothel steigert und die NO-Freisetzung erhöht, wodurch NO als parakriner Mediator kardioprotektive Effekte auslösen könnte. [83] Ob sich diese Beobachtungen jedoch auf das isoliert perfundierte Rattenherz übertragen lassen, ist bislang nicht geklärt, da entsprechende *ex vivo* Studien zur Rolle der eNOS in der IL-vermittelten Kardioprotektion fehlen. Auch die Bedeutung eines funktionsfähigen Endothels für die Kardioprotektion mit IL wurde noch nicht untersucht.

1.6 Das isoliert perfundierte Herz nach Langendorff

1.6.1 Beschreibung des Modells und Relevanz

Die isolierte Perfusion eines Säugetierherzens wurde erstmals im Jahr 1895 von Oskar Langendorff beschrieben. [84] Die Langendorff-Anlage hat sich seither als eines der wichtigsten Modelle in der kardiovaskulären Grundlagenforschung etabliert. Langendorff entwickelte einen Aufbau, bei dem das Herz nach Entnahme aus dem Versuchstier *ex vivo* retrograd über die Aorta mit einer sauerstoffreichen, nährstoffhaltigen Pufferlösung perfundiert wird. Durch den retrograden Perfusionsfluss schließt die Aortenklappe und die oberhalb liegenden Ostien der Koronargefäße werden direkt durchströmt. Dadurch bleibt die koronare Zirkulation erhalten und das Herz schlägt spontan an der Anlage weiter. Durch die freie Drainage des Perfusats aus dem rechten Vorhof werden die Herzkammern nicht befüllt. [85] Diese Methode ermöglicht eine isolierte Untersuchung des Herzens frei von systemischen Einflüssen wie neuronaler Steuerung oder

hormoneller Regulation. Aufgrund ihrer einfachen Handhabung, hohen Reproduzierbarkeit und breiten Anwendbarkeit ist die Langendorff-Anlage bis heute eines der gängigsten Modelle in der kardiovaskulären Forschung. [86]

Die Perfusion des Herzens ist in einem druck- oder flusskonstanten Modus möglich. Im druckkonstanten Aufbau wird ein konstanter koronarer Perfusionsdruck (CPP) in der Anlage eingestellt, während der resultierende Koronarfluss (CF) vom Herzen selbst reguliert wird. Im Gegensatz dazu wird beim flusskonstanten Aufbau ein konstanter CF vorgegeben, auf den das Herz durch Anpassung des Gefäßwiderstandes reagiert und damit den CPP bestimmt. [85]

Das Langendorff-Modell hat maßgeblich zur Erforschung von Konditionierungsstrategien zur Reduzierung des I/R-Schadens beigetragen. Durch eine Unterbrechung der Perfusion können standardisierte I/R-Schäden induziert und der Einfluss kardioprotektiver Interventionen untersucht werden. [85] Darüber hinaus können pathophysiologische Zustände durch Modifikationen der Perfusionsbedingungen imitiert werden. Ein Beispiel hierfür ist die gezielte Schädigung des Endothels zur Induktion einer ED (s. Abschnitt 1.6.2). Die Verwendung dieser Modelle soll ein besseres Verständnis des Einflusses von Begleiterkrankungen oder Komedikationen auf die Wirksamkeit kardioprotektiver Maßnahmen liefern, um anschließend präklinische Konditionierungsstrategien erfolgreich in die Klinik zu übertragen. [50]

1.6.2 Induktion einer endothelialen Dysfunktion im Langendorff-Modell

Die gezielte Schädigung des Endothels im Langendorff-Modell bietet die Möglichkeit, die Bedeutung eines funktionsfähigen Endothels für kardioprotektive Strategien zu untersuchen. Eine Methode zur Induktion einer ED stellt die Gabe von Triton X-100 dar, einem nichtionischen Tensid, das zu einer unspezifischen Lyse von Zellen führt. Dieses Verfahren wurde in bisherigen Studien häufig verwendet, birgt jedoch das Risiko, dass nicht nur Endothelzellen, sondern auch tieferliegende Zellschichten zerstört werden. [87]

Eine weitere Methode zur Induktion einer ED stellt die Perfusion mit Pufferlösungen, die eine hohe Kaliumkonzentration enthalten, dar. Diese Methode wurde

bereits in mehreren experimentellen Studien beschrieben, wobei unterschiedliche Kaliumkonzentrationen und Perfusionsbedingungen verwendet wurden. [88, 89] He et al. beschrieben ein Protokoll zur gezielten Schädigung des Endothels durch flusskonstante Kaliumperfusion, um den Einfluss einer ED auf die Konditionierung mit Dexmedetomidin (Dex) zu untersuchen. Die Autoren verwendeten einen modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) mit einer Konzentration von 60 mM Kaliumchlorid (KCl) und perfundierten die Versuchsherzen für 10 Minuten flusskonstant mit einer Flussrate von 8–9 ml/min. [90]

Im Rahmen der Dissertation von N. Schneider wurde im Langendorff-Modell ein Protokoll zur Induktion einer ED mit hochmolaren Kaliumkonzentrationen etabliert. [1] Die ED ließ sich durch eine flusskonstante Perfusion mit einem KHP, der 60 mM KCl (K60) enthielt, mit einer Flussrate von 12,5 ml/min zuverlässig induzieren. Die erfolgreiche Induktion der ED wurde über eine reduzierte vasodilatatorische Reaktion des Endothels auf den endothelabhängigen Stimulus Histamin nachgewiesen. Die Vasodilatation wurde dabei indirekt über Veränderungen des CPP im flusskonstanten Aufbau gemessen. Während unter Kontrolle mit dem Standard-KHP kaum Veränderungen der Reaktion auf Histamin beobachtet wurden, war die vasodilatatorische Antwort nach K60-Perfusion deutlich vermindert. Eine Schädigung der glatten Gefäßmuskulatur konnte ausgeschlossen werden, da deren Funktionalität durch die unveränderte Reaktion auf den endothelunabhängigen Vasodilatator Natriumnitroprussid (SNP) bestätigt wurde. SNP wirkt als NO-Donor, aktiviert endothelunabhängig die cGMP-Synthese in den glatten Muskelzellen und induziert dadurch eine Vasodilatation. [1]

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Induktion der ED die flusskonstante Perfusion mit K60 gewählt, da für diese Methode bislang keine Zellschädigung beschrieben wurde, die über eine endotheliale Schädigung hinausgeht.

1.7 Ziele der Arbeit

Viele HKE und deren Komorbiditäten sind eng mit dem Vorliegen einer ED assoziiert. Eine ED könnte die Wirkung kardioprotektiver Strategien, wie der Konditi-

onierung mit IL, abschwächen. Um eine erfolgreiche Translation dieser Maßnahmen in die Klinik zu ermöglichen, wird gefordert, präklinische Modelle um relevante Begleiterkrankungen der Patienten zu erweitern.

In einer Studie unserer Arbeitsgruppe wurde bereits eine signifikante Infarktgrößenreduktion und Verbesserung hämodynamischer Variablen durch eine 10-minütige IL-Präkonditionierung im unbehandelten *ex vivo* Rattenherz nachgewiesen. [1] Aufbauend auf diesen Ergebnissen war das Ziel der ersten Versuchsreihe dieser Arbeit, den kardioprotektiven Effekt einer IL-Präkonditionierung unter einer ED zu untersuchen. Die Fragestellung lautete:

Beeinflusst das Vorliegen einer endothelialen Dysfunktion die kardioprotektive Wirkung einer IL-Präkonditionierung im isoliert perfundierten Rattenherz?

Ein protektiver Effekt einer Postkonditionierung mit 1 % IL wurde bereits in Vorstudien beschrieben. Sowohl *in vitro* als auch *in vivo* konnte in Maus- und Rattenherzen eine signifikante Infarktgrößenreduktion und Verbesserung hämodynamischer Parameter gezeigt werden. [75, 76] In einer laboreigenen Studie konnte hingegen kein protektiver Effekt durch eine 10-minütige postischämische IL-Applikation ausgelöst werden. [1] Die Postkonditionierung führte zu keiner signifikanten Infarktgrößenreduktion und verschlechterte sogar die Herzfunktion nach 60 Minuten Reperfusion im Vergleich zur Kontrollgruppe. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurde vermutet, dass eine Applikationsdauer von 10 Minuten möglicherweise nicht ausreicht, um eine effektive Protektion auszulösen. Daher wurde in der zweiten Versuchsreihe dieser Arbeit die postischämische IL-Gabe auf 20 Minuten verlängert. Die Fragestellung lautete:

Hat eine postischämische Perfusion mit 1 % IL über einen Zeitraum von 20 Minuten einen kardioprotektiven Effekt im Sinne einer Infarktgrößenreduktion und Verbesserung hämodynamischer Parameter nach I/R-Schaden?

Zur Beantwortung dieser Fragestellungen wurden Experimente am isoliert perfundierten Rattenherz an einer Langendorff-Anlage durchgeführt. Die Untersuchung der IL-Präkonditionierung unter einer ED erfolgte an dem in unserer Arbeitsgruppe etablierten Modell zur Induktion einer ED im Langendorff-Modell. [1]

2 Material und Methoden

2.1 Übersicht der verwendeten Materialien

Tabelle 1: Laborgeräte

Bezeichnung	Produktdaten
Blutgasanalysegerät	ABL800 FLEX Blutgasanalysator, Radiometer GmbH, Krefeld, Deutschland
Digitalthermometer	GTH1160, Greisinger electronic GmbH, Regenstauf, Deutschland
Druckkalibriergerät	KAL84, Halstrup Walcher GmbH, Kirchzarten, Deutschland
Flachbettscanner	CanoScan LIDE 700F, Canon Deutschland GmbH, Krefeld, Deutschland
Magnet-Heizrührer	MR Hei-Tec, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland
Magnetrührer	VARIOMAG Mono, H+P Labortechnik GmbH, Oberschleißheim, Deutschland
pH-Meter	SevenCompact S220, Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Schweiz
Präzisionswaagen (3x)	LA 230 S Analysewaage Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
	KERN 440-45N KERN & Sohn GmbH, Balingen, Deutschland
	Scout Pro SPU202 Ohaus Corporation, Pine Brook, NJ USA
Wasserbad	GFL Typ 1001, Firma Gesellschaft für Labortechnik mbH & Co., Hannover, Deutschland

Tabelle 2: Instrumente

Bezeichnung	Produktdaten
Bulldogklemme	Bulldogklemme gerade, 38 mm, Maullänge: 12 mm, Art. BH020R, B. Braun AESCULAP AG, Tuttlingen, Deutschland
Guillotine	Kleintierdekapitator Modell 7950, Ugo Basile SRL, Gemonio, Italien
Pinzetten	Aesculap BD 589 chirurgische Pinzette, gerade, 3 x 4 Zähne, 16 cm, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
	Aesculap OC022R Irispinzette, stark gebogen, 10 cm, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
	Graefe Forceps 11051-10, gebogen, 10 cm, Fine Science Tools GmbH, Heidelberg, Deutschland
Pipette	Eppendorf Research Plus 100-1000 µl, Art. Nr. 3123000063, Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland
Scheren	Aesculap BC252R (Mayo), B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
	Aesculap BC257R (Strabismus), B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
	Aesculap D0208R, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
Skalpell	Skalpellgriff, 135 mm, Nr. 4, unsteril, wiederverwendbar, Art. BB084R, B. Braun AESCULAP AG, Tuttlingen, Deutschland
	Carbon Steel Skalpellklingen #21, Art. BB521, B. Braun AESCULAP AG, Tuttlingen, Deutschland

Tabelle 3: Bestandteile der Langendorff-Anlage

Bezeichnung	Produktdaten
Aortenkanüle	Aortic metal cannula 2.0 with luer for rat, Art. 782868, Harvard Apparatus, Holliston (MA), USA
Aufsatz für Schlauchpumpe	Pump Head, R2, Art. F117800, Gilson Incorporated, Middleton (WI), USA
Badthermostate (2x)	Corio C-B17 Badthermostat mit Edelstahl-Badgefäß, JULABO GmbH, Seelbach, Deutschland
Combi-Stopper	REF 4495152, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
Datenschreiber	PowerLab 04/26, Art. ML846, AD Instruments, Dunedin, Neuseeland
Dreiwegehahn	Discofix C, REF 16494, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Druckaufnehmer	Disposable BP Transducer, Art. MLT0699, AD Instruments, Dunedin, Neuseeland
Gasverteilungsrohr	Gasverteilungsrohr Typ B, Art. 19221, Robu Glasfilter GmbH, Hattert, Deutschland
Heizspirale	Sonderanfertigung, Glastechnische Werkstatt Verhees, Neuss, Deutschland
Laborflaschen	Duran Protect Laborflasche, 250/1000/2000/5000 ml DWK Life Sciences GmbH, Wertheim/Main, Deutschland
Luer Adapter	Connector Kit, Art. 72-1445, Art. 72-1441, Art. 72-1444, Art. 72-1455, Harvard Apparatus, Holliston (MA), USA
Luftfänger	Sonderanfertigung, Glastechnische Werkstatt Verhees, Neuss, Deutschland

Metalldreiwegehahn	Metallhahn mit Luer-Lock Anschlüssen, Art. 2-6286, neoLab Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland
Perfusatschläuche	Tygon E-3603: 3,18 x 6,35 mm Art. ACF00007, 6x9 mm Art. ACF1S1504, Saint Gobain, Courbevoie, Frankreich
Schlauchpumpe (3x)	Minipuls 3 Peristaltic Pumps, Gilson Incorporated, Middleton (WI), USA
Silikonschlauch	Nr. 11000508, elastomer24.de, BD Elastomertechnik UG, Salach, Deutschland
Spezialschlauch für Schlauchpumpe	Tygon LMT-55 3,17 x 0,9 mm, Art. 070534-25-ND, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
	Tygon LMT-55 1,65 x 0,85 mm, Art. 3700218, PROLIQUID GmbH, Freiburg, Deutschland
Verbindungsstück mit loser Überwurfmutter	REF 4090705, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
Verstärker (2x)	BridgeAmp, Art. FE221-1255, AD Instruments, Dunedin, Neuseeland
Wärmebäder (2x)	Julabo MEC-5, Firma Julabo GmbH, Seelbach, Deutschland
Wärmeschild	Sonderanfertigung, Glastechnische Werkstatt Verhees, Neuss, Deutschland
Wasserbad (offen)	Pura 22, JULABO GmbH, Seelbach, Deutschland

Tabelle 4: Software

Bezeichnung	Produktdaten
Aufzeichnungssoftware	LabChart 8, AD Instruments, Dunedin, Neuseeland
Datenspeicherungssoftware	Microsoft Excel, Microsoft Corporation, Redmond, USA
Planimetrie	Sigma Scan Pro 5, Systat Software Inc., San Jose, USA
Software für Gruppengrößen-berechnung	G*Power 3.1.9.7, Axel Buchner, Edgar Erdfelder, Franz Faul, Albert-Georg Lang
Statistiksoftware	GraphPad Prism 10, GraphPad Software, Boston, USA

Tabelle 5: Chemikalien

Substanz	Produktdaten
Calciumchlorid ($CaCl_2$)	CAS: 10043-52-4, Acros Organics, Geel, Belgien
D-(+)-Glukose (wasserfrei) ($C_6H_{12}O_6$)	CAS: 50-99-7, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	CAS: 60-00-4, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Formaldehyd 37% (CH_2O)	CAS: 50-00-0, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Heparin-Natrium (5000 IE/ml)	CAS: 9041-08-1, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
Intralipid 20%	CAS: 68890-65-3, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland
Kaliumchlorid (KCl)	CAS: 7447-40-7, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	CAS: 7778-77-0, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

Magnesiumsulfat-Heptahydrat ($MgSO_4 + 7H_2O$)	CAS: 10034-99-8, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl)	CAS: 7647-14-5, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid 0,9% Lösung (NaCl)	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat ($NaHCO_3$)	CAS: 144-55-8, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Natrium-L-(+)-Lactat ($C_3H_5NaO_3$)	CAS: 867-56-1, AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Pentobarbital-Natrium (Narcoren)	CAS: 57-33-0, Boehringer-Ingelheim GmbH & Co. KG, Ingelheim, Deutschland
Perform sterile mucasol	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
Salzsäure rauchend 37% (HCl)	CAS: 7647-01-0, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) ($C_{19}H_{15}ClN_4$)	CAS: 298-96-4, SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan ($C_4H_{11}NO_3$)	CAS: 77-86-1, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland

Tabelle 6: Gase

Gas	**Produktdaten**
Carbogen Gas (5% CO_2, 95% O_2)	CAS: 124-38-9, 7782-44-7, Linde Plc., Dublin, Irland
Stickstoff Gas (N_2)	CAS: 7727-37-9, Linde Plc., Dublin, Irland

Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Produktdaten
Faden (ad usum veterinarium)	Nr. R 00058762, Resorba Medical GmbH, Nürnberg, Deutschland
Injektionskanüle	Sterican Einmalkanülen Gr.14, Durchmesser: 0,6 mm, Länge: 30 mm, Art. 4657640, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Injektionsspritze 1 ml	1 ml Omnifix Einmalspritze, REF 9161406V, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Injektionsspritze 3 ml	3 ml Omnifix Einmalspritze, REF 4617022V, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Injektionsspritze 20 ml	20 ml Injekt, REF 4606205V, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Pipettenspitzen	Pipette tips 1000 µl, Art. Nr. 70.3050.100, SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Wellplatte	TC-Platte 24 Well, Art. Nr. 83.3922, SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland

2.2 Versuchstiere

Die Versuchstiere stammten aus der internen Tierzucht der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf oder wurden von der Firma Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, Frankreich) bezogen. Es handelte sich ausschließlich um gesunde, männliche Wistar Ratten, die zwischen 250–350 g wogen. Zu Versuchsbeginn waren die Tiere circa 3 Monate alt. Die Haltung der Tiere erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit einer Raumtemperatur von 22 ± 2 °C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 ± 10 % und einer Luftumwälzrate von 15-mal pro Stunde. Zudem herrschte ein 12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus mit einer künstlichen Raumbeleuchtung mit einer Intensität von 300–320 Lux. Den Tieren stand ein Alleinfuttermittel sowie keimfreies Wasser *ad libitum* zur Verfügung. [1]

Vor Durchführung der Versuche wurde ein Übungsschein erworben, bei dem die notwendigen Kenntnisse und praktischen Fähigkeiten zum Töten von Ratten vermittelt wurden. Die Erlaubnis zur Organentnahme durch die ZETT lag unter der Projektnummer O27/12 vor. [1]

2.3 Aufbau der Langendorff-Anlage

Zur Untersuchung der Effekte der IL-Konditionierung auf den I/R-Schaden am Herzen, sowohl mit als auch ohne vorbestehende ED, wurde eine kombinierte fluss- und druckkonstante Langendorff-Anlage verwendet (s. Abb. 2). Diese bestand aus drei getrennten Perfusionskreisläufen, die oberhalb des Herzens verbunden waren. Durch Umschalten eingebauter Dreiwegehähne konnte das Herz selektiv über einen der drei Kreisläufe perfundiert werden. Der Aufbau der Anlage stellte dabei sicher, dass es während des Perfusionswechsels zu keiner Ischämie kam und somit unerwünschte konditionierende Effekte verhindert wurden.

In den beiden druckkonstanten Kreisläufen erfolgte die Perfusion mit einem konstanten Druck von 80 mmHg, der vor jedem Versuch überprüft wurde. Um eine genaue und reproduzierbare Konditionierung mit IL zu gewährleisten und eine Kontamination durch IL der restlichen Langendorff-Anlage zu verhindern, wurde IL über einen zweiten, separaten Kreislauf appliziert. [1]

Die ED wurde über einen dritten Kreislauf durch die flusskonstante Perfusion mit K60 induziert. Für Kontrollbedingungen wurde mit KHP perfundiert. Die Flussrate wurde auf 12,5 ml/min eingestellt, da sich dieser Wert in Vorversuchen als geeignet zur Induktion einer ED erwiesen hatte. [1]

Der Puffer wurde in einer Laborflasche aufbewahrt und durch ein 42 °C warmes Wasserbad vorgewärmt, um beim Transport zur Anlage Wärmeverluste auszugleichen und eine konstante Temperatur von 37 °C an der Aortenkanüle sicherzustellen. Der Puffer wurde zudem kontinuierlich mit Carbogen begast, um eine adäquate Oxygenierung und einen konstanten pH-Wert zu gewährleisten.

Mithilfe peristaltischer Pumpen wurde der Puffer in die Langendorff-Anlage geleitet. Der Transport zur Anlage erfolgte über gasundurchlässige Tygon-Schläuche, um Sauerstoffverluste zu minimieren. Der Puffer durchlief zunächst eine Luftfalle,

um das Eindringen von Luftblasen in das nachgeschaltete System zu verhindern. Anschließend gelangte der Puffer über eine Wärmespirale zur Aortenkanüle unterhalb eines metallenen Dreiwegehahns, an der das fixierte Herz retrograd perfundiert wurde. Ein vorgeschalteter Rücklauf leitete überschüssigen Puffer zurück in das Reservoir und diente gleichzeitig zur Druckregulation in den druckkonstanten Kreisläufen. Im flusskonstanten Teil war dieser Flussweg ausgeschaltet, wodurch nur ein Weg für den Puffer blieb und die Förderleistung der Pumpe dem CF entsprach. Nach Passage des Herzens wurde der Puffer durch eine Öffnung im Boden des Wärmeschildes in einen Ablaufbehälter geleitet und nicht erneut zur Perfusion verwendet. Alle Luftfallen, Wärmespiralen und das Wärmeschild bestanden aus doppelwandigem Glas und wurden mit 38,5 °C warmem Wasser aus zwei Wärmebädern durchströmt, um eine konstante Innentemperatur von 37 °C sicherzustellen.

Zur Messung der Druckentwicklung und Einstellung eines enddiastolischen Druckes von 4–6 mmHg wurde ein wassergefüllter Ballon im linken Ventrikel platziert. [1] Der linksventrikuläre Druck (LVP) wurde kontinuierlich über einen luftblasenfrei verbundenen Druckaufnehmer erfasst, mithilfe eines Analog-Digital-Wandlers bei einer Abtastrate von 500 Hz digitalisiert und mit der Software LabChart 8 auf einem Computer aufgezeichnet. Zusätzlich wurde während der flusskonstanten Perfusion der CPP über einen zweiten Druckaufnehmer direkt am Herzen erfasst. [1] Der Aufbau der Langendorff-Anlage ist in Abb. 2 schematisch dargestellt.

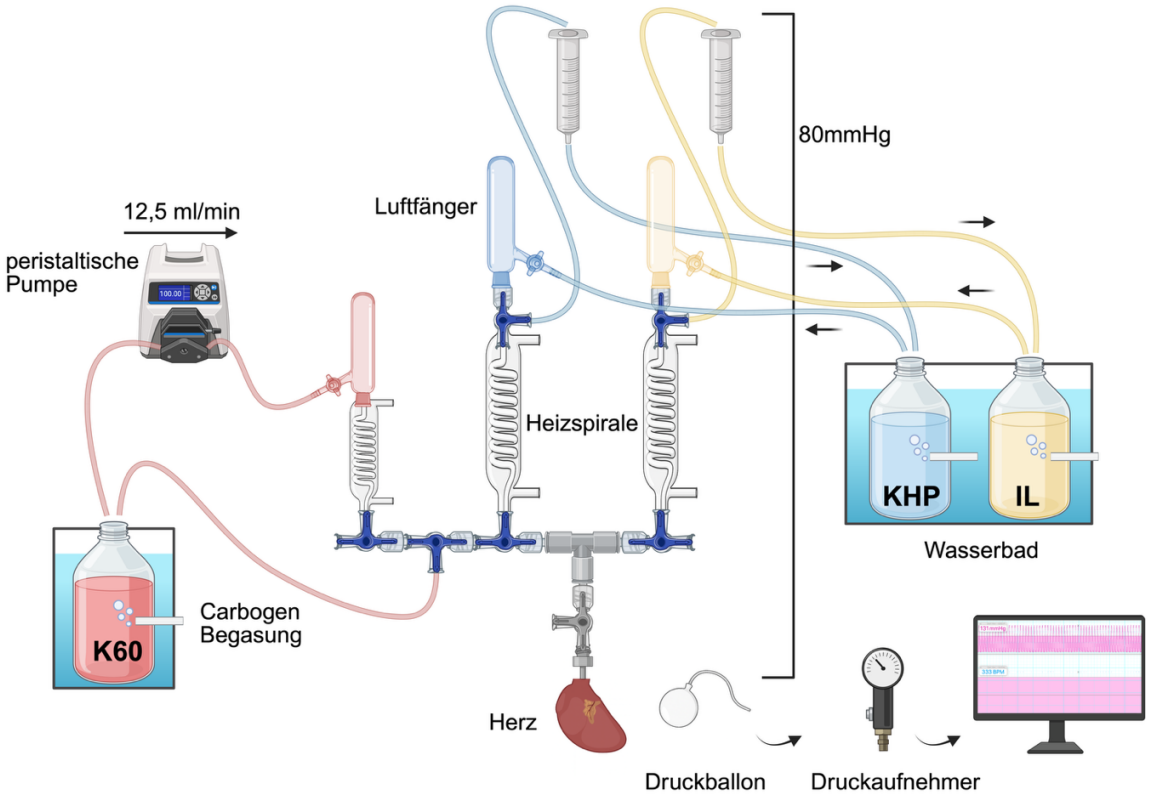


Abb. 2: Schematische Darstellung der Langendorff-Anlage

Krebs-Henseleit-Puffer (KHP) sowie KHP mit 1 % Intralipid (IL) wurden in separaten Kreisläufen druckkonstant (Perfusionsdruck = 80 mmHg) perfundiert. Zur Induktion einer endothelialen Dysfunktion (ED) erfolgte eine flusskonstante Perfusion mit KHP, der 60 mM KCl enthielt (K60; Flussrate: 12,5 ml/min). Eine flusskonstante Perfusion mit KHP diente als Kontrolle. Durch Umschalten der Dreiwegehähne wurde abhängig von der jeweiligen Versuchskonstellation die Perfusion über die drei Kreisläufe gesteuert. Erstellt mit BioRender.com. Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

2.4 Krebs-Henseleit-Puffer

Zur Perfusion der Versuchsherzen wurde ein modifizierter KHP verwendet (s. Tabelle 8). Dieser wurde vor jedem Versuchstag frisch hergestellt. Hierzu wurden die enthaltenen Substanzen mithilfe einer Präzisionswaage abgewogen, in MilliQ-Reinstwasser in einer Laborflasche gelöst und anschließend mithilfe eines Magnetrührers vermischt. Der Puffer wurde bis zur Verwendung für maximal 24 Stunden bei 8 °C im Kühlschrank gelagert, um ein Bakterienwachstum zu vermeiden. Das Calciumchlorid wurde erst unmittelbar vor Versuchsbeginn hinzugegeben und der Puffer erneut gerührt, um die Bildung von Präzipitaten zu vermeiden. Die Kontrolle der Stoffkonzentrationen sowie des pH-Wertes des Puffers erfolgte mittels Blutgasanalyse (BGA).

Tabelle 8: Krebs-Henseleit-Puffer

Substanz	Stoffmengenkonzentration (mM)
NaCl	118
KCl	4,7
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1,2
KH_2PO_4	1,2
$NaHCO_3$	25
EDTA	0,5
Glukose	11
Laktat	1
$CaCl_2$	2,25

2.5 K60-Puffer

Zur Endothelschädigung wurde ein KHP mit einer KCl-Konzentration von 60 mM KCl verwendet. [1] Um die osmotischen Bedingungen an den Standard-KHP anzugleichen, wurde die NaCl-Konzentration von 118 mM auf 63 mM reduziert. Die übrige Zusammensetzung entsprach der des Standard-KHP (s. Tabelle 9). Die Herstellung erfolgte analog zur Zubereitung des KHP.

Tabelle 9: K60-Puffer

Substanz	Stoffmengenkonzentration (mM)
NaCl	63
KCl	60
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1,2
KH_2PO_4	1,2
$NaHCO_3$	25
EDTA	0,5
Glukose	11
Laktat	1
$CaCl_2$	2,25

2.6 Intralipid

Zur Konditionierung wurde IL 20 %, eine fettemulgierte parenterale Nährstofflösung, verwendet. Für den Einsatz im Rahmen der Versuche wurde IL auf eine

Konzentration von 1 % mit KHP verdünnt. [1] Die Verdünnung erfolgte unmittelbar vor Versuchsbeginn, wobei die Lösung durch wiederholtes Schwenken der Laborflasche homogenisiert wurde.

2.7 Versuchsablauf

2.7.1 Vorbereitung der Langendorff-Anlage

Vor Versuchsbeginn wurden alle Pufferlösungen in einem auf 42 °C vorgeheizten Wasserbad erwärmt und mit Carbogen (95 % O_2, 5 % CO_2) begast. Dadurch wurde ein Sauerstoffpartialdruck von > 300 mmHg und ein physiologischer pH-Wert im Bereich von 7,35–7,45 erreicht. Aus dem erwärmten KHP wurde der Ischämiepuffer hergestellt, indem etwa 50 ml Puffer in eine Laborflasche gefüllt und mit Stickstoff desoxygeniert wurden. Nach erfolgreicher Kontrolle der Puffer mittels BGA wurden die drei Kreisläufe der Langendorff-Anlage mit den entsprechenden Lösungen befüllt und mithilfe einer 20 ml Spritze vollständig entlüftet. Zusätzlich wurden die beiden Druckaufnehmer sowie der Druckballon auf mögliche Luftblasen überprüft. Zur Kalibrierung wurden die Druckaufnehmer zunächst auf den atmosphärischen Nullpunkt geeicht und anschließend mittels eines Druck-Eichgerätes zweipunktkalibriert. Um die Dichtigkeit des Systems sicherzustellen wurde der Druckballon für 15 Minuten bei einem eingestellten Druck von 150 mmHg vorgedehnt. Abschließend wurde der CPP im druckkonstanten Teil der Anlage über die Höhenverstellung der Wassersäule auf 80 mmHg eingestellt. Im flusskonstanten Teil wurde die Flussrate durch Einstellung der peristaltischen Pumpe auf 12,5 ml/min festgelegt.

2.7.2 Anästhesie und Explantation des Herzens

Vor der Entnahme des Herzens wurden die Ratten durch eine intraperitoneale Injektion von 80 mg/kg Körpergewicht Pentobarbital-Natrium, verdünnt in 1,8 ml 0,9 % NaCl-Lösung, anästhesiert. Um das Risiko einer Thrombusbildung während der Herzpräparation zu minimieren, wurden zusätzlich 3330 IU/kg Körpergewicht Heparin injiziert. [1] 5 Minuten nach der Injektion wurde die Narkosetiefe durch Überprüfung des Zehenreflexes kontrolliert. Bei ausreichender Sedierung

erfolgte die Tötung der Tiere durch Dekapitation mit einer Kleintier-Guillotine. Anschließend wurde der Brustkorb durch mediane Thorakotomie eröffnet, Perikard und Thymus wurden entfernt und das Herz freigelegt. Der aufsteigende Teil der Aorta wurde unterhalb des Aortenbogens durchtrennt, das Herz entnommen und in 10 ml sterile, raumtemperierte 0,9 % NaCl-Lösung überführt, um die Bildung von Embolien zu vermeiden.

2.7.3 Herzpräparation an der Langendorff-Anlage

Nach der Entnahme wurde das Herz unmittelbar an der Langendorff-Anlage aufgehängt. Hierzu wurde die Aorta mithilfe zweier Pinzetten über die metallene Aortenkanüle der Anlage gezogen und zunächst mit einer Bulldog-Klemme befestigt. Anschließend erfolgte die endgültige Fixierung mit zwei Polyesterfäden der Stärke 4-0. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Spitze der Kanüle wenige Millimeter oberhalb der Klappenebene positioniert war, um eine Okklusion der Koronarostien oder eine Verletzung der Aortenklappe zu vermeiden. Zur Vermeidung von Luftembolien wurde ein kontinuierlich tropfender Pufferfluss eingestellt. Unmittelbar nach der Fixierung begann die druckkonstante Perfusion mit KHP bei einem Druck von 80 mmHg am Herzen. Die Zeitspanne zwischen Dekapitation und Beginn der Perfusion an der Langendorff-Anlage durfte maximal 3 Minuten betragen, um konditionierende Effekte durch die Ischämie während der Präparation zu minimieren.

2.7.4 Ballonplatzierung und Druckmessung

Zur Messung des LVP wurde ein flüssigkeitsgefüllter Ballon im linken Ventrikel platziert. [1] Dafür wurde das linke Herzohr entfernt und der entleerte Ballon über die Mitralklappe in den linken Ventrikel eingeführt. Die Zeitspanne zwischen Dekapitation und Ballonplatzierung durfte maximal 5 Minuten betragen. Unmittelbar nach Ballonplatzierung wurde die Aufzeichnung des LVP gestartet, was den Beginn des Versuchs darstellte. Zur Aufrechterhaltung einer konstanten Umgebungstemperatur von 37 °C wurde ein Wärmeschild um das Herz platziert und nach oben mit Aluminiumfolie abgedichtet. Es folgte eine 20-minütige Stabilisie-

rungsphase, in der der Druckballon während der ersten 10 Minuten mit destilliertem Wasser gefüllt wurde, bis ein enddiastolischer Druck von 4–6 mmHg erreicht war. In die Auswertung wurden nur Herzen eingeschlossen, die eine Frequenz von > 250 Schlägen pro Minute (bpm) und einen linksventrikulär entwickelten Druck (LVDP) von > 80 mmHg erreichten. Wurden diese Kriterien nicht erfüllt, wurde die Herzfunktion als unzureichend bewertet und der Versuch abgebrochen.

2.7.5 Ischämie und Reperfusion

Alle Herzen durchliefen eine 33-minütige Globalischämie gefolgt von einer 60-minütigen Reperfusion. Zu Beginn der Ischämie wurde der Dreiwegehahn oberhalb der Aortenkanüle umgelegt und damit die Perfusion des Herzens unterbrochen. Zusätzlich wurde das Wärmeschild des Herzens mit Stickstoff begastem KHP gefüllt, um eine Sauerstoffaufnahme über die Raumluft und ein Auskühlen des Herzens zu verhindern. [1] Während der gesamten Ischämie wurde der Puffer stetig mit Stickstoff begast, um eine Erhöhung des Sauerstoffgehalts durch Diffusion zu verhindern.

Zur Beendigung der Ischämie wurde der Hahn oberhalb der Aortenkanüle wieder geöffnet, sodass das Herz erneut druckkonstant mit 80 mmHg perfundiert wurde. Gleichzeitig wurde der Ischämiepuffer aus dem Wärmeschild entfernt. Ein persistierendes Flimmern des Herzens nach Wiedererreichen eines erkennbar regelmäßigen Rhythmus wurde durch eine kurzzeitige manuelle Stimulation des Herzens limitiert. Nach Ablauf der 60-minütigen Reperfusion wurde das Herz von der Anlage abgehängt, das Herznassgewicht bestimmt und das Herz anschließend in einer 3 ml Spritze bei -20 °C für die Infarktgrößenbestimmung konserviert. [1]

2.7.6 Protokoll der Präkonditionierung unter endothelialer Dysfunktion

In der ersten Versuchsreihe wurde der kardioprotektive Effekt einer Präkonditionierung mit IL bei bestehender ED untersucht. Zur Endothelschädigung erfolgte nach der 20-minütigen Stabilisierungsphase eine 10-minütige flusskonstante Perfusion mit K60. Anschließend folgte eine 5-minütige Auswaschphase, bevor

die Herzen für 10 Minuten mit IL (Gruppe ILPräK60) oder mit KHP (Gruppe KonPräK60) perfundiert wurden. Nach einer weiteren 5-minütigen Auswaschphase folgte die Globalischämie. Zur Kontrolle der ED wurden die Herzen flusskonstant mit KHP perfundiert, gefolgt von einer 10-minütigen Perfusion mit IL (Gruppe ILPrä) oder KHP (Gruppe KonPrä). Den vier Versuchsgruppen wurden jeweils sieben Tiere randomisiert zugeteilt. Das Versuchsprotokoll ist in Abb. 3 schematisch dargestellt.

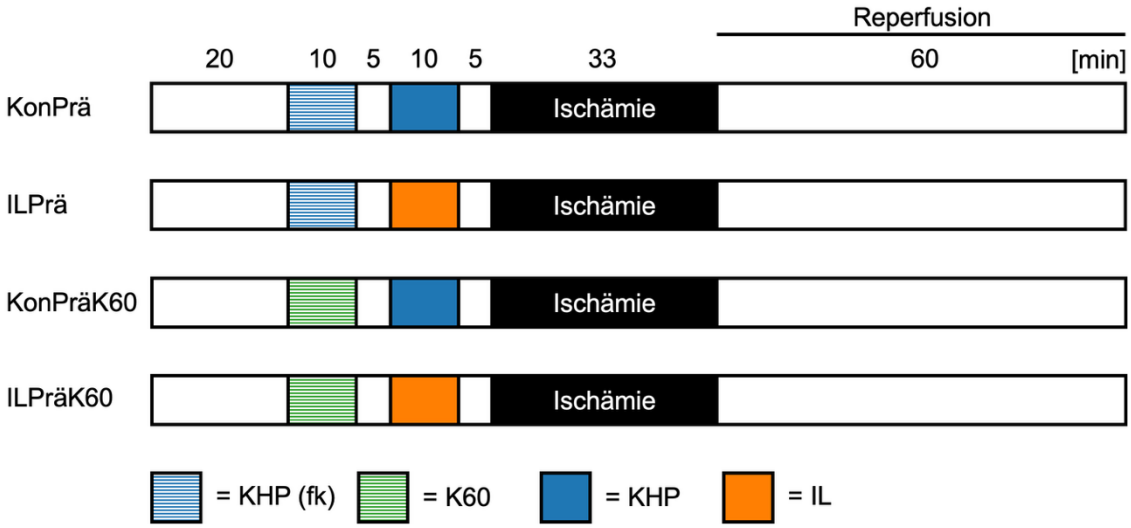


Abb. 3: Versuchsprotokoll zur Präkonditionierung mit Intralipid

KHP (fk) = flusskonstante Perfusion mit Krebs-Henseleit-Puffer (KHP), K60 = flusskonstante Perfusion mit KHP mit 60 mM KCl, KHP = druckkonstante Perfusion mit KHP, IL = Perfusion mit 1 % Intralipid (IL). Alle Herzen durchliefen eine 20-minütige Stabilisierungsphase, eine 33-minütige Globalischämie und eine 60-minütige Reperfusion. Die ED wurde durch eine 10-minütige flusskonstante Perfusion mit K60 mit einer 5-minütigen Auswaschphase induziert, gefolgt von einer 10-minütigen Perfusion mit 1 % IL (ILPräK60) oder KHP (KonPräK60) und einer weiteren 5-minütigen Auswaschphase vor Globalischämie. Zur Kontrolle erfolgte eine flusskonstante Perfusion mit KHP, gefolgt von einer 10-minütigen Perfusion mit 1 % IL (ILPrä) oder KHP (KonPrä). Zeitangaben in Minuten. n = 7 pro Gruppe. Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

2.7.7 Protokoll der Postkonditionierung

In der zweiten Versuchsreihe wurde untersucht, ob eine postischämische Perfusion mit 1 % IL über einen Zeitraum von 20 Minuten einen kardioprotektiven Effekt vermittelt. Die Postkonditionierung erfolgte unmittelbar zu Beginn der Reperfusion nach einer 33-minütigen Globalischämie. Die Herzen wurden entweder mit 1 % IL (Gruppe ILPost) oder als Kontrolle mit KHP (Gruppe KonPost) perfundiert.

Um als Kontrolle für weitere Untersuchungen unter ED dienen zu können, erfolgte in beiden Versuchsgruppen eine 10-minütige flusskonstante Perfusion mit KHP nach der 20-minütigen Stabilisierungsphase. Den beiden Versuchsgruppen wurden jeweils sechs Tiere randomisiert zugeteilt. Das Versuchsprotokoll ist in Abb. 4 schematisch dargestellt.

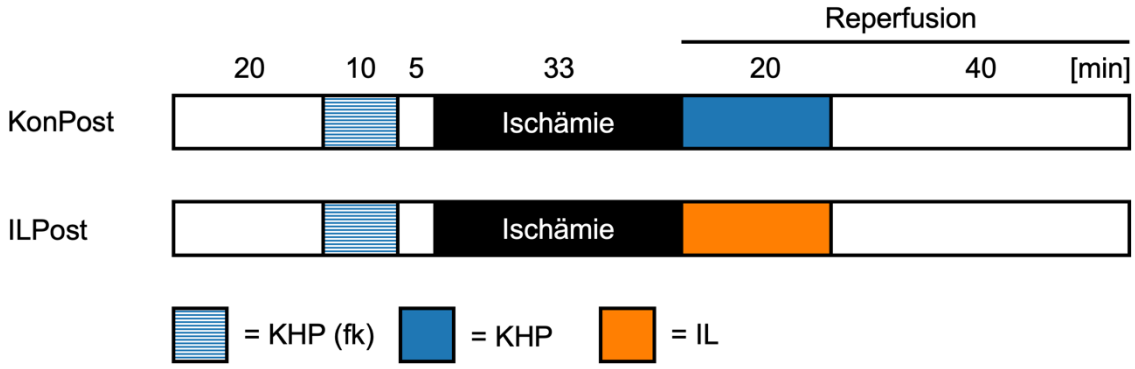


Abb. 4: Versuchsprotokoll zur Postkonditionierung mit Intralipid

KHP (fk) = flusskonstante Perfusion mit Krebs-Henseleit-Puffer (KHP), KHP = druckkonstante Perfusion mit KHP, IL = Perfusion mit 1 % Intralipid. Alle Herzen durchliefen eine 20-minütige Stabilisierungsphase, eine 33-minütige Globalischämie und eine 60-minütige Reperfusion. Die Postkonditionierung erfolgte zu Beginn der Reperfusion durch eine 20-minütige Perfusion mit 1 % IL (ILPost) oder als Kontrolle mit KHP (KonPost). In beiden Versuchsgruppen wurde zudem nach der Stabilisierungsphase eine 10-minütige flusskonstante Perfusion mit KHP durchgeführt. Zeitangaben in Minuten. n = 6 pro Gruppe. Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

2.8 Infarktgrößenbestimmung

Die Infarktgröße stellte den primären Endpunkt der Versuche dar und wurde mittels Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung (TTC-Färbung) bestimmt. [1] Dazu wurde eine 0,75 %-TTC-Lösung durch Lösen von 0,75 g TTC und 1,41 g Sigma-Tris in 100 ml NaCl hergestellt und auf 37 °C erwärmt. Anschließend wurde die Lösung mit 37 %-Salzsäure auf einen pH-Wert von 7,42 titriert. In vitalen Zellen wird das farblose TTC durch die Aktivität mitochondrialer Dehydrogenasen zu rotem Formazan reduziert, sodass intaktes Myokard rot gefärbt wird. Infarzierte Areale erscheinen dagegen weiß, da dort keine Reduktion von TTC stattfindet. [91]

Die Herzen wurden im gefrorenen Zustand in acht 1–2 mm dicke Scheiben geschnitten. Anschließend wurden die Herzscheiben auf Zellkulturplatten mit nach

unten liegender Schnittfläche in der TTC-Lösung für 15 Minuten bei 37 °C inkubiert. Um eine gleichmäßige Anfärbung zu gewährleisten, wurden die Herzscheiben nach der Hälfte der Zeit umgedreht. Anschließend erfolgte die Fixierung der Färbung für 24 Stunden in einer 4 % Formalin-Lösung auf einer weiteren Zellkulturplatte. Die gefärbten Herzscheiben wurden danach mit einem Flachbettscanner digitalisiert und für etwa sieben Tage unter einem Abzug getrocknet, um das Trockengewicht zu bestimmen. [1]

Die planimetrische Messung der Infarktgrößen erfolgte verblindet durch einen unabhängigen Untersucher unter Verwendung der Software Sigma Scan Pro 5. Zur Bestimmung der relativen Infarktgröße wurden zunächst die weißen Infarktareale im linken Ventrikel markiert und vermessen. Anschließend wurde die Gesamtfläche des linken Ventrikels erfasst. Die relative Infarktgröße des Herzens wurde dann aus dem Verhältnis der summierten Infarktflächen zur linksventrikulären Gesamtfläche der acht Herzscheiben ermittelt. [1]

2.9 Hämodynamische Analyse

Die hämodynamischen Parameter der Versuchsherzen wurden als sekundäre Endpunkte erfasst. Nach Abschluss der Versuche wurden im Aufzeichnungsprogramm Lab Chart 8 zuvor definierte 1-minütige Zeitintervalle markiert. Für die Versuchsreihe zur Präkonditionierung unter ED wurden folgende Zeitpunkte ausgewertet: Minute 18 (Baseline), Minute 28 (K60/KHP flusskonstant), Minute 34 (Prä-IL), Minute 43 (IL), Minute 48 (Prä-Ischämie), die vorletzte Minute der Ischämie (Ischämie) und Minute 15, 30, 45 und 60 der Reperfusion (Rep 15, Rep 30, Rep 45 und Rep 60). In der Versuchsreihe zur Postkonditionierung umfassten die ausgewerteten Zeitpunkte: Minute 18 (Baseline), Minute 28 (KHP flusskonstant), Minute 33 (Prä-Ischämie), die vorletzte Minute der Ischämie (Ischämie), Minute 5 und 18 der IL-Applikation (IL 5, IL 18) und Minute 30, 45 und 60 der Reperfusion (Rep 30, Rep 45 und Rep 60).

Für diese Zeitintervalle wurden mithilfe von Lab Chart 8 die mittlere Herzfrequenz (HF) sowie der maximale und minimale linksventrikuläre Druck (LVP max und LVP min) ermittelt. Zusätzlich wurde während der flusskonstanten Perfusion bei

Minute 28 der CPP ausgewertet. Der Zeitpunkt und die Amplitude der maximalen ischämischen Kontraktur wurden ebenfalls bestimmt. Die Daten wurden in Microsoft Excel archiviert und der entwickelte linksventrikuläre Druck (LVDP = LVP max - LVP min) berechnet. Der CF wurde manuell bestimmt, indem das Effluat des Herzens über eine Minute gesammelt, gewogen und in ml/min umgerechnet wurde. [1]

2.10 Statistische Auswertung

Die Gruppengrößen wurden mithilfe der Software G*Power 3.1.9.7 berechnet, wobei die Infarktgröße als primärer Endpunkt definiert wurde. Zur statistischen Auswertung wurde Prism 10 verwendet. [1]

Zur Untersuchung des Einflusses einer ED auf die IL-Präkonditionierung wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse (Zwei-Wege ANOVA) durchgeführt. Die berechnete Fallzahl zum Nachweis von Effekten und Interaktionen auf die Infarktgröße bei zwei unabhängigen Variablen (ED-Induktion: K60/KHP; und Präkonditionierung: IL/Kon) betrug 29 Tiere (vier Gruppen, Effektstärke 0,55, Numerator df 1, Power 80 %, $\alpha = 0{,}05$). [1]

Der Effekt einer 20-minütigen Postkonditionierung mit IL wurde mittels t-Test analysiert. Die erforderliche Gruppengröße zum Nachweis einer Infarktgrößendifferenz von 30 % bei einer angenommenen Standardabweichung von 18 % lag bei sechs Tieren pro Gruppe (Power 80 %, $\alpha = 0{,}05$). [1]

Zur Sicherstellung vergleichbarer Ausgangsbedingungen wurden die hämodynamischen Parameter bei Minute 18 (Baseline) analysiert. Die Messwerte nach 60 Minuten Reperfusion (Rep 60) wurden als sekundäre Endpunkte zur Beurteilung funktioneller Unterschiede herangezogen. [1]

Ein p-Wert $< 0{,}05$ wurde als statistisch signifikant gewertet, bei p-Werten $\geq 0{,}05$ wurde der Unterschied als nicht signifikant (ns) eingestuft. Alle Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. [1]

3 Ergebnisse

3.1 Präkonditionierung mit Intralipid unter endothelialer Dysfunktion

3.1.1 Infarktgrößen

In der ersten Versuchsreihe wurde der kardioprotektive Effekt einer IL-Präkonditionierung nach Induktion einer ED untersucht. Die flusskonstante Perfusion mit K60 hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Infarktgröße im Vergleich zur flusskonstanten Perfusion mit KHP (KonPrä: 57 ± 10 %, KonPräK60: 52 ± 12 %, ILPrä: 43 ± 13 %, ILPräK60: 37 ± 6 %; p = 0,15). Die Präkonditionierung mit IL führte zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße im Vergleich zur Kontrolle mit KHP (p = 0,001). Der protektive Effekt war unabhängig von der Induktion einer ED (Interaktion: p = 0,93). [1] Die Infarktgrößen sind in Abb. 5 dargestellt.

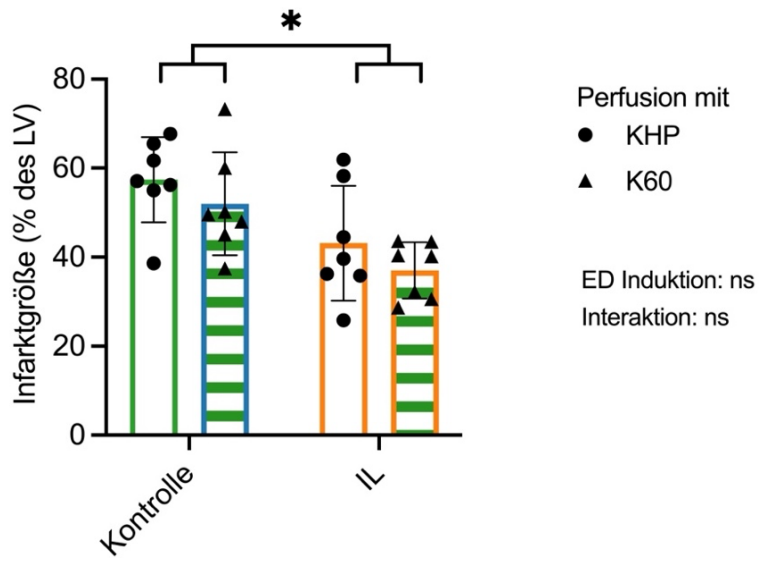


Abb. 5: Infarktgrößen der Versuchsreihe zur Präkonditionierung

Dargestellt sind die Infarktgrößen der Herzen nach Präkonditionierung mit 1 % Intralipid (IL) oder Krebs-Henseleit-Puffer (KHP; Kontrolle) und vorheriger flusskonstanter Perfusion mit KHP oder KHP mit 60 mM KCl (K60). Die Werte sind dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung, n = 7 Tiere pro Gruppe. Zwei-Wege ANOVA, * = p < 0,05 für Effekt durch IL-Konditionierung, ns = nicht signifikant für Effekt durch endotheliale Dysfunktion und Interaktion (p ≥ 0,05). LV = linker Ventrikel. Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

3.1.2 Hämodynamische Variablen

Während der Versuche wurden kontinuierlich hämodynamische Variablen der Herzen aufgezeichnet. Zu definierten Zeitpunkten (Baseline, flusskonstante Perfusion mit K60/KHP, Prä-IL, IL-Präkonditionierung, Prä-Ischämie, Ischämie, Reperfusion Minute 15, 30, 45 und 60) wurden die HF, der LVP max, der LVP min, der LVDP und der CF bestimmt (s. Abb. 6).

Die flusskonstante Perfusion mit K60 hatte einen Stillstand der Versuchsherzen und eine dauerhafte Kontraktur mit einem deutlichen Anstieg des LVP min zur Folge. Zudem wurden während der K60-Perfusion signifikant erhöhte Perfusionsdrücke im Vergleich zur Kontrolle gemessen (KonPrä: 60 ± 13 mmHg, KonPräK60: 153 ± 5 mmHg, ILPrä: 60 ± 5 mmHg, ILPräK60: 167 ± 8 mmHg; $p < 0,001$). Nach Beendigung der flusskonstanten Perfusion zeigten die mit K60 perfundierten Herzen ein Wiedereinsetzen eines regelmäßigen Herzschlags und Absinken des LVP min auf die Ausgangswerte.

Die statistischen Analysen wurden an den Zeitpunkten Baseline und Rep 60 durchgeführt. Am Zeitpunkt Baseline gab es zwischen den Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede der hämodynamischen Parameter. Nach 60 Minuten Reperfusion führte die Präkonditionierung mit IL zu einem signifikant erniedrigten LVP min (KonPrä: 82 ± 7 mmHg, KonPräK60: 81 ± 5 mmHg, ILPrä: 68 ± 5 mmHg, ILPräK60: 74 ± 8 mmHg; $p < 0,001$). In Kombination mit einem vergleichbaren LVP max (KonPrä: 105 ± 10 mmHg, KonPräK60: 99 ± 5 mmHg, ILPrä: 107 ± 11 mmHg, ILPräK60: 103 ± 7 mmHg; $p = 0,42$) resultierte daraus ein signifikant erhöhter LVDP durch die Konditionierung (KonPrä: 23 ± 7 mmHg, KonPräK60: 19 ± 9 mmHg, ILPrä: 38 ± 8 mmHg, ILPräK60: 29 ± 11 mmHg; $p < 0,001$). [1] Keine Effekte durch die IL-Konditionierung waren bei der HF (KonPrä: 251 ± 70 bpm, KonPräK60: 285 ± 21 bpm, ILPrä: 295 ± 24 bpm, ILPräK60: 272 ± 49 bpm; $p = 0,38$) und dem CF (KonPrä: 7 ± 1 ml/min, KonPräK60: 10 ± 1 ml/min, ILPrä: 8 ± 1 ml/min, ILPräK60: 8 ± 1 ml/min; $p = 0,93$) erkennbar.

Die flusskonstante Perfusion mit K60 führte zu einem signifikant erhöhten CF am Zeitpunkt Rep 60 ($p = 0,01$). [1] Keine Effekte durch die Perfusion mit K60 waren bei der HF ($p = 0,75$), dem LVP max ($p = 0,42$), dem LVP min ($p = 0,38$) und dem

LVDP (p = 0,06) messbar. In Abb. 6 sind die erhobenen Werte im Zeitverlauf graphisch dargestellt.

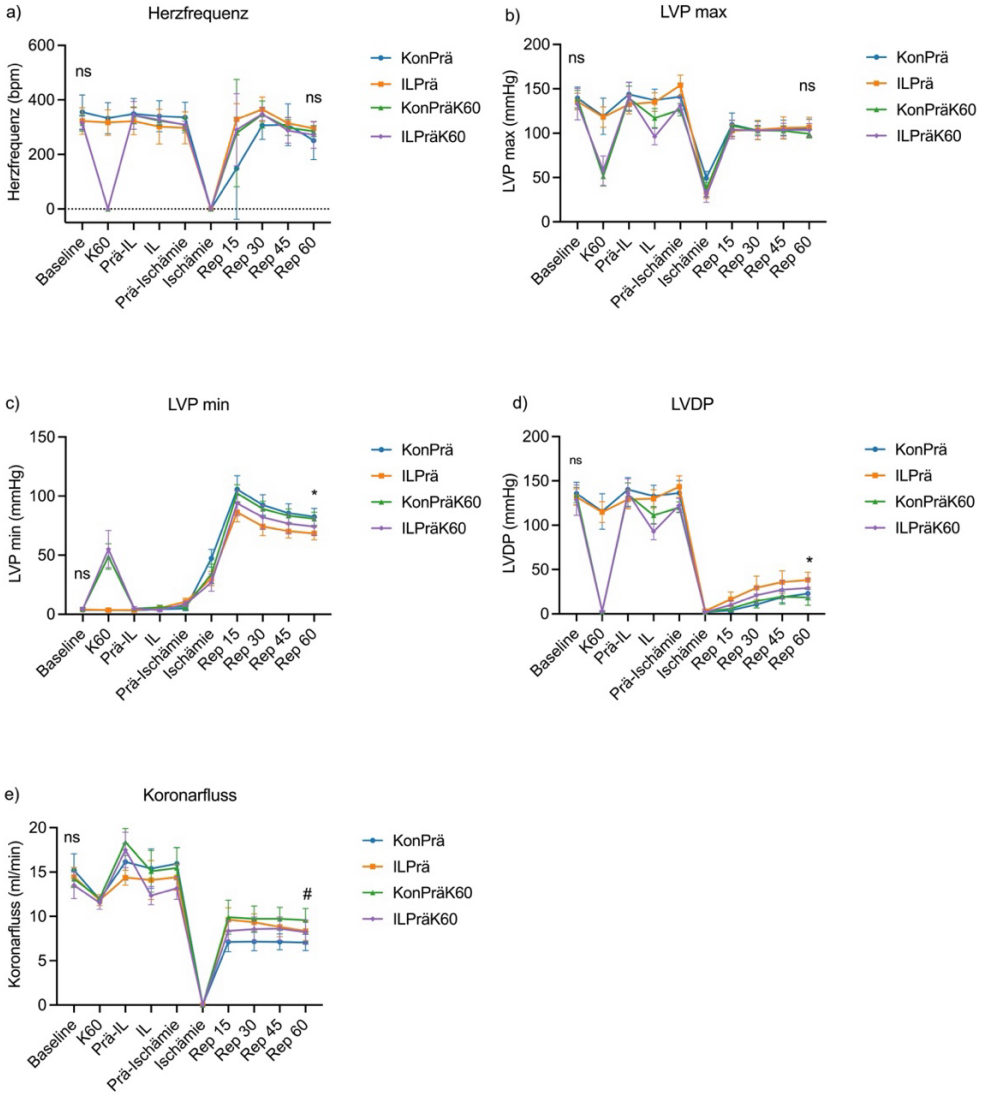


Abb. 6: Hämodynamik der Versuchsreihe zur Präkonditionierung mit Intralipid

Dargestellt sind die hämodynamischen Parameter der Herzen nach Präkonditionierung mit 1 % Intralipid (IL) oder Krebs-Henseleit-Puffer (KHP; Kon) und vorheriger flusskonstanter Perfusion mit KHP oder KHP mit 60 mM KCl (K60) zu definierten Zeitpunkten im Versuchsverlauf: a) Herzfrequenz (HF) in Schlägen pro Minute [bpm], b) linksventrikulärer Maximaldruck (LVP max) [mmHg], c) linksventrikulärer Minimaldruck (LVP min) [mmHg], d) Linksventrikulär entwickelter Druck (LVDP) [mmHg], e) Koronarfluss (CF) [ml/min]. Die Werte sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardabweichung, n = 7 Tiere pro Gruppe. Statistische Analysen der Hämodynamik wurden durchgeführt am Zeitpunkt Baseline und nach 60 Minuten Reperfusion. Zwei-Wege ANOVA, * = $p < 0,05$ für Effekt durch IL-Konditionierung, # = $p < 0,05$ für Effekt durch endotheliale Dysfunktion (ED) und Interaktion, ns = nicht signifikant für Effekt durch Konditionierung, ED und Interaktion ($p \geq 0,05$). Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

3.1.3 Daten der Versuchstiere

Neben der Auswertung der Infarktgröße und der hämodynamischen Parameter wurden alle Tiere vor Versuchsbeginn gewogen. Zusätzlich wurden das Herznass- und Trockengewicht sowie Amplitude der maximalen ischämischen Kontraktur bestimmt. Die Versuchsherzen hatten nach Perfusion mit IL signifikant erhöhte Herztrockengewichte ($p = 0,02$). Zusätzlich reduzierten die IL-Präkonditionierung und die Perfusion mit K60 die Höhe der maximalen ischämischen Kontraktur (Konditionierung: $p = 0,002$, ED-Induktion: $p < 0,001$, Interaktion: $p = 0,009$). [1] Beim Körpergewicht und Herznassgewicht gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Die Werte sind in Tabelle 10 dargestellt.

	KonPrä	ILPrä	KonPräK60	ILPräK60	Signifikanz
Körpergewicht [g]	286 ± 14	284 ± 12	278 ± 11	284 ± 20	ns
Ischämie Peak [mmHg]	74 ± 8	57 ± 4	55 ± 8	53 ± 8	* Konditionierung, ED-Induktion, Interaktion
Herznassgewicht [g]	0,99 ± 0,06	1,00 ± 0,05	1,01 ± 0,06	0,98 ± 0,05	ns
Herztrockengewicht [mg]	166 ± 10	176 ± 10	166 ± 8	174 ± 11	* Konditionierung

Tabelle 10: Tierdaten der Versuchsreihe zur Präkonditionierung mit Intralipid

Dargestellt sind das Körpergewicht der Versuchstiere, das Herznass- und Trockengewicht sowie die Amplitude der maximalen ischämischen Kontraktion (Ischämie Peak). Die Werte sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardabweichung, n = 7 Tiere pro Gruppe. Zwei-Wege ANOVA, * = $p < 0,05$, ns = nicht signifikant ($p \geq 0,05$). Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

3.2 Postkonditionierung mit Intralipid

3.2.1 Infarktgrößen

Das Ziel der zweiten Versuchsreihe war es zu untersuchen, ob eine postischämische IL-Applikation über 20 Minuten das Herz vor I/R-Schaden schützt, da in einer vorherigen Studie eine 10-minütige IL-Applikation keinen protektiven Effekt gezeigt hatte. In der Kontrollgruppe (KonPost) betrug die Infarktgröße 56 ± 4 %. Eine 20-minütige postischämische Perfusion mit IL führte zu keiner statistisch signifikanten Reduktion der Infarktgröße (KonPost: 56 ± 4 % vs. ILPost: 59 ± 12 %; p = 0,6). [1] Die Infarktgrößen sind in Abb. 7 dargestellt.

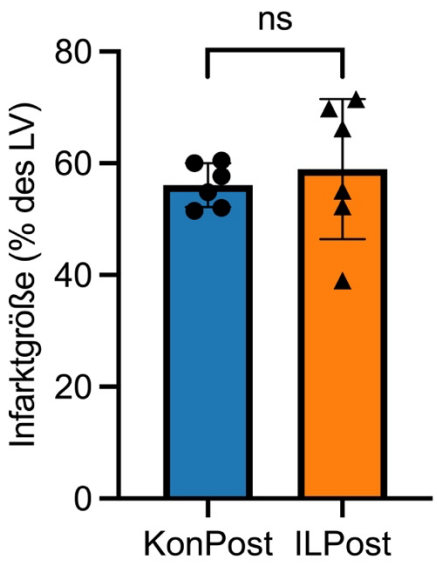


Abb. 7: Infarktgrößen der Versuchsreihe zur Postkonditionierung mit Intralipid

Dargestellt sind die Infarktgrößen der Herzen nach I/R und Postkonditionierung mit 1 % Intralipid (ILPost) oder Krebs-Henseleit-Puffer (KonPost) für 20 Minuten. Die Werte sind dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung, n = 6 Tiere pro Gruppe. t-Test, ns = nicht signifikant (p ≥ 0,05). LV = linker Ventrikel. Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

3.2.2 Hämodynamische Variablen

Auch in der zweiten Versuchsreihe wurden die hämodynamischen Variablen der Versuchsherzen kontinuierlich aufgezeichnet und zu definierten Zeitpunkten (Baseline, KHP flusskonstant, Prä-Ischämie, Ischämie, IL-Applikation Minute 5 und 18, Reperfusion Minute 30, 45 und 60) bestimmt (s. Abb. 8).

Die statistischen Analysen wurden an den Zeitpunkten Baseline und Rep 60 durchgeführt. Am Zeitpunkt Baseline gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen hinsichtlich der HF (KonPost: 340 ± 55 bpm vs. ILPost: 305 ± 24 bpm, p = 0,17), des LVP max (KonPost: 140 ± 12 mmHg vs. ILPost: 139 ± 12 mmHg, p = 0,84), des LVP min (KonPost: 3 ± 1 mmHg vs. 4 ± 2 mmHg, p = 0,45) und des LVDP (KonPost: 137 ± 11 mmHg vs. ILPost: 135 ± 11 mmHg, p = 0,74). Der CF war in der KonPost-Gruppe am Zeitpunkt Baseline höher als bei der ILPost-Gruppe (KonPost: 17 ± 1 ml/min vs. ILPost: 15 ± 1 ml/min, p = 0,01). Nach 60 Minuten Reperfusion wiesen die Herzen der ILPost-Gruppe einen signifikant erhöhten LVP min im Vergleich zur Kontrollgruppe auf (KonPost: 79 ± 7 mmHg vs. ILPost: 93 ± 9 mmHg, p = 0,01). Bei einem vergleichbaren LVP max (KonPost: 100 ± 4 mmHg vs. 102 ± 7 mmHg; p = 0,44) resultierte daraus eine signifikante Reduktion des LVDP (KonPost: 20 ± 5 mmHg vs. ILPost: 9 ± 5 mmHg, p = 0,003) in der ILPost-Gruppe. [1] Keine signifikanten Unterschiede zeigten sich bei dem Vergleich der HF (KonPost: 322 ± 28 bpm vs. ILPost: 286 ± 85 bpm, p = 0,34) und des CF (KonPost: 9 ± 2 ml/min vs. ILPost: 6 ± 3 ml/min, p = 0,07) zwischen den Gruppen nach 60 Minuten Reperfusion, wobei ein Abfall des CF während der IL-Perfusion erkennbar war. In Abb. 8 sind die erhobenen Werte im Zeitverlauf graphisch dargestellt.

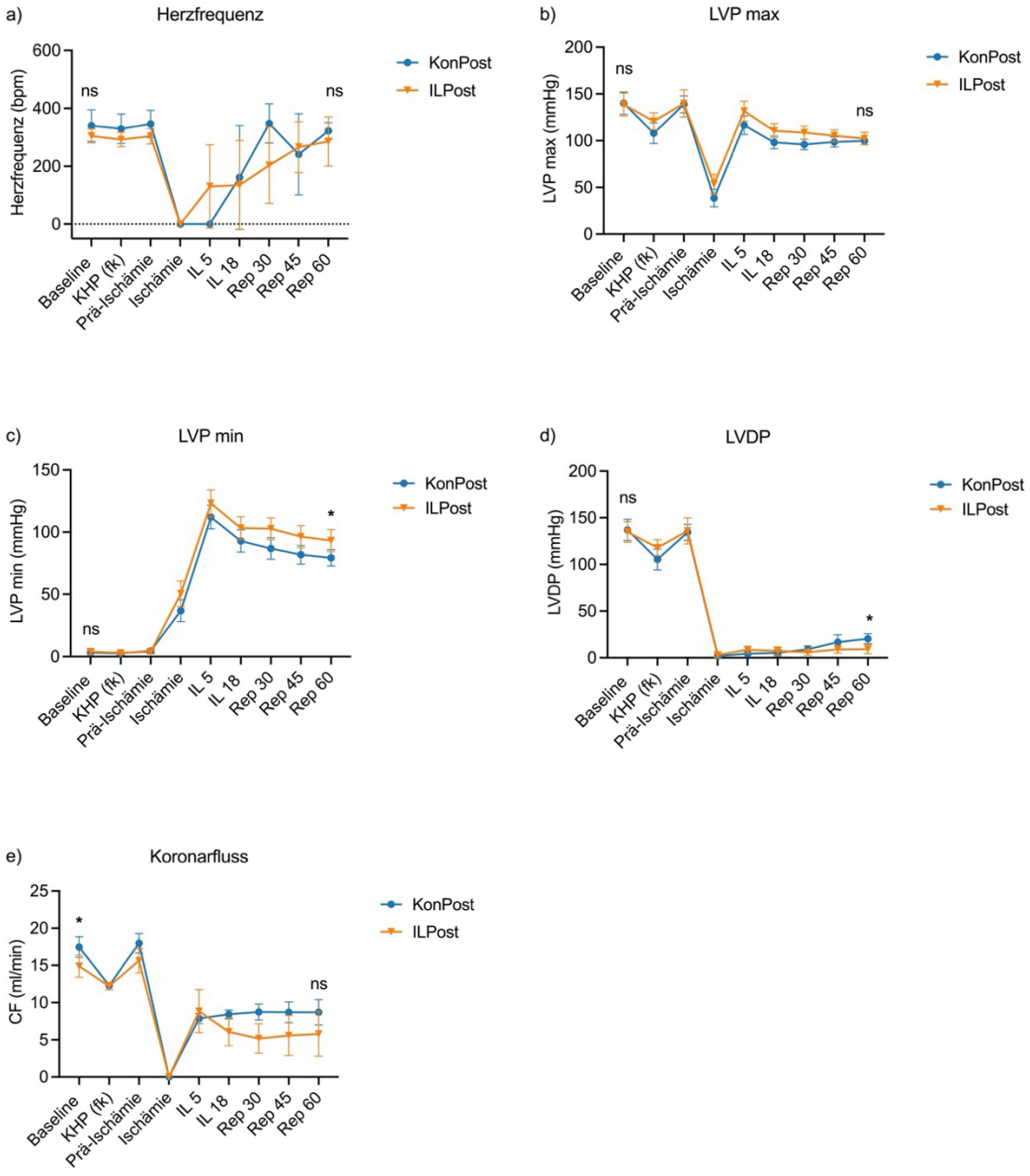


Abb. 8: Hämodynamik der Versuchsreihe zur Postkonditionierung mit Intralipid

Dargestellt sind die hämodynamischen Parameter der Herzen nach I/R und Postkonditionierung mit 1 % Intralipid (ILPost) oder Krebs-Henseleit-Puffer (KonPost) für 20 Minuten zu definierten Zeitpunkten im Versuchsverlauf: a) Herzfrequenz (HF) in Schlägen pro Minute [bpm], b) linksventrikulärer Maximaldruck (LVP max) [mmHg], c) linksventrikulärer Minimaldruck (LVP min) [mmHg], d) Linksventrikulär entwickelter Druck (LVDP) [mmHg], e) Koronarfluss (CF) [ml/min]. Die Werte sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardabweichung, n = 6 Tiere pro Gruppe. Statistische Analysen der Hämodynamik wurden durchgeführt am Zeitpunkt Baseline und nach 60 Minuten Reperfusion. t-Test, * = $p < 0,05$, ns: nicht signifikant. Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

3.2.3 Daten der Versuchstiere

Auch in der zweiten Versuchsreihe wurde das Körpergewicht der Versuchstiere, Herznass- und Trockengewicht, sowie die Amplitude der maximalen ischämischen Kontraktur bestimmt und zwischen den Versuchsgruppen verglichen. Das Körpergewicht der Ratten unterschied sich zwischen den beiden Versuchsgruppen nicht signifikant ($p = 0,09$). In der ILPost-Gruppe zeigte sich ein signifikant höheres Herznassgewicht ($p = 0,001$) und Herztrockengewicht ($p < 0,001$). [1] Zudem war die Amplitude der maximalen ischämischen Kontraktur in der ILPost-Gruppe signifikant erhöht ($p = 0,03$). Die Werte sind in Tabelle 11 dargestellt.

	KonPost	ILPost
Körpergewicht [g]	286 ± 18	303 ± 13 ^{ns}
Ischämie Peak [mmHg]	63 ± 9	78 ± 11 *
Herznassgewicht [g]	1,08 ± 0,03	1,23 ± 0,07 *
Herztrockengewicht [mg]	168 ± 12	207 ± 14 *

Tabelle 11: Tierdaten der Versuchsreihe zur Postkonditionierung mit Intralipid

Dargestellt sind das Körpergewicht der Versuchstiere, das Herznass- und Trockengewicht sowie die Amplitude der maximalen ischämischen Kontraktion (Ischämie Peak). Die Werte sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardabweichung, n = 6 Tiere pro Gruppe. t-Test, * = $p < 0,05$, ns = nicht signifikant. Modifiziert nach Stroethoff et al. [1]

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse

4.1.1 Präkonditionierung unter endothelialer Dysfunktion

Das Ziel der ersten Versuchsreihe dieser Arbeit war es, den kardioprotektiven Effekt einer IL-Präkonditionierung nach Induktion einer endothelialen Dysfunktion der Koronargefäße zu untersuchen. Diese Untersuchung baut auf einer Vorarbeit unserer Arbeitsgruppe auf, in der eine 10-minütige IL-Präkonditionierung im unbehandelten *ex vivo* Rattenherz zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgrößen führte. [1] In der vorliegenden Studie sollte dieser protektive Effekt in einem modifizierten Langendorff-Modell mit der Möglichkeit zur gezielten Endothelschädigung überprüft werden, um die Bedeutung eines intakten Endothels für die Wirksamkeit von IL besser zu verstehen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die 10-minütige Präkonditionierung mit IL im Vergleich zur KHP-Perfusion in der Kontrollgruppe zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgrößen führte. Zudem war der LVP min signifikant erniedrigt und der LVDP nach 60-minütiger Reperfusion entsprechend erhöht. Das weist auf eine verbesserte Erholung der myokardialen Funktion nach IL-Präkonditionierung hin. Diese kardioprotektiven Effekte blieben nach Induktion einer ED durch flusskonstante Perfusion mit K60 erhalten. Das spricht dafür, dass die Wirkung von IL weitgehend endothelunabhängig vermittelt wird. [1]

In dieser Arbeit wurde erstmals der Einfluss einer ED auf die Protektion durch IL untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass der protektive Effekt der IL-Präkonditionierung unter ED erhalten bleibt. Auch für andere kardioprotektive Substanzen konnte eine erhaltene Protektion nach Induktion einer ED detektiert werden. [90, 92] So zeigten He et al. an Herzen männlicher Ratten im flusskonstanten Langendorff-Modell, dass die Präkonditionierung mit dem selektiven α_2-Adrenozeptor-Agonisten Dexmedetomidin (Dex) auch bei induzierter ED durch flusskonstante K60-Perfusion eine signifikante Reduktion der Infarktgröße be-

wirkte. Die Autoren schlussfolgerten, dass ein intaktes Endothel an der Vermittlung kardioprotektiver Effekte von Dex im isoliert perfundierten Rattenherz nicht beteiligt zu sein scheint und vermuteten eine Wirkung über NO unabhängige Signalwege. [90] Im Gegensatz dazu wurde in einer Studie von Riquelme et al. die Schutzwirkung von Dex im isoliert perfundierten Rattenherz durch die unspezifische Hemmung der eNOS mittels L-NAME oder durch den NO-Scavenger 2-Phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide (PTIO) aufgehoben, was für eine NO-abhängige Schutzwirkung durch Dex spricht. [93] Ähnliche widersprüchliche Ergebnisse durch zwei unterschiedliche Methoden zur Prüfung der eNOS/NO-Abhängigkeit wurden auch für die kardioprotektive Wirkung von Oxytocin beschrieben. Während Wang et al. eine erhaltene Protektion nach der Induktion einer ED durch Perfusion mit 0,01 % Triton X-100 beobachteten, führte in anderen Studien die direkte Inhibition der eNOS zu einem Verlust der durch Oxytocin vermittelten Protektion. [92, 94, 95] Die Ergebnisse der Studien legen nahe, dass die Mechanismen der Protektion weitgehend unabhängig vom Endothel, jedoch NO-abhängig vermittelt werden. Auch für IL könnte dies zutreffen, da Hinweise auf einen Wirkmechanismus über die Aktivierung der eNOS im Endothel vorliegen. In einer Studie von Weihrauch et al. wurde gezeigt, dass die Behandlung humaner Endothelzellen mit 1 % IL über einen Zeitraum von 2 Stunden zu einer Aktivierung der eNOS und einer vermehrten Freisetzung von NO führte. [83] Dieser Effekt konnte durch die Hemmung der eNOS mit L-NAME blockiert werden. Die Autoren schlussfolgerten, dass IL die eNOS-Aktivität im Endothel steigert und die NO-Freisetzung erhöht, wodurch NO als parakriner Mediator kardioprotektive Effekte auslösen könnte. [83] Ob eine IL-Applikation auch im isoliert perfundierten Rattenherz zu einer vermehrten NO-Freisetzung im Endothel führt und ob dieser Effekt durch L-NAME blockiert werden kann, müssen zukünftige Studien untersuchen. (In ähnlicher Form bereits veröffentlicht in [1]).

Interessanterweise scheinen langfristigere IL-Gaben hingegen einen eher negativen Einfluss auf das Endothel zu haben. So beobachteten Wu et al. in einem *in vivo* Mausmodell, dass eine Infusion von IL über 6 Stunden zu Endothelschäden im Herzen führte. Dieser schädliche Effekt war mit einer Hemmung des AMP-aktivierte Proteinkinase/Krüppel-like Faktors 2/eNOS Signalwegs verbunden, der

eine zentrale Rolle für die Aufrechterhaltung der endothelialen Funktion und NO-Produktion spielt. [96] Auch beim Menschen wurden negative Effekte auf die Endothelfunktion nach 2- bis 24-stündigen IL-Infusionen beobachtet. [97, 98] Eine Erklärung für diese widersprüchlichen Beobachtungen könnte in der unterschiedlichen Expositionsdauer gegenüber IL liegen. Während eine kurzfristige Gabe offenbar protektive, eNOS-aktivierende Effekte vermittelt, scheint eine langanhaltende oder übermäßige Exposition eher schädlich auf das Endothel zu wirken und die NO-Bioverfügbarkeit zu reduzieren.

Zusammenfassend fügen sich die Ergebnisse dieser Arbeit zur Konditionierung mit IL unter ED gut in das Bild jener Studien zu Dex oder Oxytocin ein, die eine erhaltene Schutzwirkung auch nach Induktion einer ED im Langendorff-Modell zeigen. Die Ergebnisse legen nahe, dass NO- oder NOS-abhängige Schutzmechanismen möglicherweise kein intaktes Endothel erfordern. Kardiomyozyten könnten selbst als alternative NO-Quelle fungieren, da sie eNOS und neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase (nNOS) exprimieren und somit grundsätzlich in der Lage sind, NO für kardioprotektive Signalwege bereitzustellen. [99] (In ähnlicher Form bereits veröffentlicht in [1]).

Die vorliegende Studie wurde durchgeführt, um erstmals die Endothelabhängigkeit der IL-Präkonditionierung im isoliert perfundierten Rattenherz zu untersuchen. Es konnte gezeigt werden, dass die durch IL vermittelte Protektion auch bei einer ED erhalten bleibt. Das spricht dafür, dass die kardioprotektive Wirkung von IL weitgehend endothelunabhängig vermittelt wird. [1] Ob diese Wirkung jedoch NOS-/NO-abhängig ist, bleibt offen, da weder die NOS-Aktivität noch die NO-Konzentrationen bestimmt wurden. Zukünftige Studien sollten daher untersuchen, ob eine unspezifische NOS-Hemmung, beispielsweise mittels L-NAME, die kardioprotektive Wirkung von IL im isoliert perfundierten Herzen aufhebt. Bleibt die Protektion trotz NOS-Hemmung bestehen, würde dies auf einen endothel- und NO-unabhängigen Wirkmechanismus hindeuten. Sollte der Effekt hingegen durch L-NAME aufgehoben werden, könnte mit unserem Versuchsansatz untersucht werden, ob NOS-/NO-abhängige Signalwege bei eingeschränkter Endothelfunktion eine zentrale Rolle spielen.

Darüber hinaus sind weiterführende Studien erforderlich, um endothelunabhängige Aktivierungsmechanismen protektiver Signalwege in Kardiomyozyten zu identifizieren und die zugrundeliegenden Mechanismen der IL-vermittelten Kardioprotektion umfassend zu verstehen.

4.1.2 Postkonditionierung mit Intralipid

In der zweiten Versuchsreihe wurde untersucht, ob eine postischämische Applikation von IL über 20 Minuten im Sinne einer Postkonditionierung einen kardioprotektiven Effekt auslösen kann. Die Fragestellung ergab sich aus einer früheren Untersuchung unserer Arbeitsgruppe, in der eine 10-minütige IL-Postkonditionierung lediglich zu einer geringen, statistisch nicht signifikanten Reduktion der Infarktgröße geführt hatte. [1] Aufbauend auf den Ergebnissen von Rahman et al., die eine zeitabhängige Verstärkung des protektiven Effekts von IL beschrieben, wurde angenommen, dass die initial gewählte Applikationsdauer von 10 Minuten möglicherweise nicht ausreicht, um eine effektive Protektion auszulösen. [75] Vor diesem Hintergrund wurde die IL-Postkonditionierung in der vorliegenden Arbeit auf 20 Minuten verlängert, um den protektiven Effekt unter diesen Bedingungen erneut zu untersuchen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass eine verlängerte IL-Postkonditionierung über 20 Minuten nicht zu einer Infarktgrößenreduktion nach I/R-Schaden führte. Zusätzlich war keine Verbesserung funktioneller Parameter nachweisbar. Im Gegenteil, die Ergebnisse zeigen eine schlechtere diastolische Herzfunktion der behandelten Herzen, erkennbar am signifikant erhöhten LVP min und reduzierten LVDP nach 60 Minuten Reperfusion. [1] Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu mehreren präklinischen Studien, in denen protektive Effekte einer IL-Postkonditionierung in unbehandelten Herzen unter ähnlichen Bedingungen beobachtet wurden. So konnten Rahman et al. eine signifikante Reduktion der Infarktgröße durch IL-Postkonditionierung sowohl bei *in vivo* Modellen am Rattenherzen als auch *in vitro* Modellen am Mäuseherzen nachweisen. Bereits eine 5-minütige Applikation von 1 % IL zu Beginn der Reperfusion führte im isoliert perfundierten Mäuseherz nach 40-minütiger Reperfusion zu einer Infarktgrößen-

reduktion um 50 % und zu einer Verbesserung der Herzfunktion. Zusätzlich wiesen die Autoren einen zunehmenden protektiven Effekt bei längerer IL-Applikation (10, 20 und 40 Minuten) nach. [1, 75] In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe bestätigten Li et al. mit einem gleichen Versuchsaufbau diese Ergebnisse und konnten zeigen, dass die Infarktgrößenreduktion überlegen zu Ciclosporin A, einem bekannten mPTP-Inhibitor war. [76] Eine Infarktgrößenreduktion und Verbesserung funktioneller Parameter durch eine IL-Konditionierung beobachteten Li et al. auch an Herzen trächtiger Ratten und Mäuse. [77] Ein möglicher Grund für die fehlende Reproduzierbarkeit der in der Literatur beschriebenen kardioprotektiven Effekte könnte in Unterschieden des experimentellen Versuchsaufbaus liegen. In der vorliegenden Arbeit wurde IL über einen separaten Perfusionskreislauf zugeführt, der eine kontrollierte Gabe während der Konditionierungsphase ermöglichte. [1] Im Gegensatz dazu machen andere Studien zur IL-Konditionierung im Langendorff-Modell keine detaillierten Angaben zum Applikationsweg, was einen direkten methodischen Vergleich erschwert. [1] Auffällig war, dass die Herzen nach IL-Konditionierung ein signifikant erhöhtes Herztrockengewicht im Vergleich zu den Kontrollherzen hatten (s. Tabelle 11). Zudem waren die Koronargefäße zum Versuchsende, also nach der 60-minütigen Reperfusion mit KHP, bei der optischen Kontrolle der Herzen noch deutlich weiß angefärbt. Diese Beobachtungen könnten auf Ablagerungen von IL in den Gefäßen hinweisen. Es ist denkbar, dass die Ablagerung von IL in den Koronargefäßen eine Beeinträchtigung des koronaren Flusses während der IL-Konditionierung zur Folge hatte. Die resultierende eingeschränkte Perfusion könnte im weiteren Verlauf nicht ausgereicht haben, um das IL effektiv aus den Koronargefäßen auszuwaschen. Dies könnte zu einer anhaltenden Minderperfusion des Myokards während der Reperfusion geführt haben. Zwar waren nach 60-minütiger Reperfusion keine signifikanten Unterschiede im CF zwischen den Versuchsgruppen messbar, allerdings zeigte sich während der IL-Perfusion ein Trend zu einem verringerten CF in der IL-Gruppe (s. Abb. 8 e)). [1] Auch in der anschließenden Reperfusion war lediglich eine geringfügige Verbesserung des CF zu beobachten. Die eingeschränkte Perfusion während der Reperfusion könnte ursächlich für das Ausbleiben einer Infarktgrößenreduzierung und Verschlechterung funktioneller Parameter sein. [1]

Vergleichbare Beobachtungen wurden in bisherigen Studien zur IL-Konditionierung im Langendorff-Modell nicht beschrieben. Allerdings bleibt bei den meisten Arbeiten unklar, welcher Perfusionsmodus verwendet wurde, da die Angaben zur Perfusionsstrategie häufig unzureichend oder nicht eindeutig beschrieben sind. [75, 77] Auch eine kontinuierliche Erfassung des CF wurde in den veröffentlichten Daten nicht dargestellt, sodass ein direkter Vergleich nur eingeschränkt möglich ist. [78, 81]

Eine flusskonstante Perfusion während der Reperfusion, wie in der Studie von Li et al., stellt einen gleichbleibend hohen CF sicher und könnte so eine vollständige Auswaschung des IL ermöglichen. [76] Dadurch ließen sich wahrscheinlich schädliche Ablagerungen in den Koronargefäßen verhindern. Ob diese ursächlich für die ausbleibenden kardioprotektiven Effekte in dieser Studie sind, lässt sich an dieser Stelle jedoch nicht abschließend verifizieren.

Die Annahme, dass es infolge der IL-Konditionierung zu Ablagerungen in den Koronargefäßen gekommen ist, wird dadurch unterstützt, dass die Herznassgewichte nach 20-minütiger IL-Konditionierung im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht waren (s. Tabelle 11). Zusätzlich deutet der im Vergleich zum Herztrockengewicht deutlichere Anstieg des Herznassgewichts auf eine vermehrte Ödembildung hin. [1] Eine mögliche Ursache dafür könnte in der Verdünnung des KHP durch die Zugabe der 20 %-IL-Lösung liegen, wodurch sich die osmotischen Eigenschaften des Puffers verändern. [1] Da IL überwiegend aus osmotisch inaktiven Lipidtröpfchen besteht, sinkt die effektive Osmolarität der Lösung. Die dadurch begünstigte Ödembildung könnte zu einer Einschränkung der myokardialen Funktion führen und potenziell protektive Effekte der IL-Gabe abschwächen.

Derartige Beobachtungen sind in anderen experimentellen Studien zur IL-Konditionierung bisher nicht beschrieben. Klinische Erfahrungen sprechen ebenfalls gegen einen relevanten negativen Effekt der IL-Applikation *in vivo*. Bei der Behandlung systemischer Toxizität durch Lokalanästhetika wird eine vergleichbare Plasmakonzentration von etwa 1 % durch Infusion der 20 %-IL-Lösung empfoh-

len und in der Regel gut vertragen. [1, 100] Auch klinische Studien zur kardioprotektiven Wirkung von IL, im Rahmen von Herzklappen- oder Bypassoperationen, bestätigen die Sicherheit der IL-Applikation. [79, 101, 102] Es ist daher naheliegend, dass die beobachtete Ödembildung durch IL-Perfusion ein modellabhängiges Phänomen darstellt, das im Langendorff-System durch die fehlende kolloidosmotische Regulation und die ohnehin geringe Osmolarität des KHP relevant wird. [103]

Im Versuchsprotokoll ist dokumentiert, dass nach der initialen druckkonstanten Einpendelungsphase eine 10-minütige flusskonstante Perfusion mit KHP erfolgte. Diese Gruppe war ursprünglich als Kontrolle für nachfolgende ED-Versuche vorgesehen. Auf eine weiterführende Untersuchung der IL-Postkonditionierung unter Bedingungen einer ED wurde allerdings verzichtet, da bereits bei physiologischer Endothelfunktion kein protektiver Effekt nachgewiesen werden konnte.

Zusammenfassend konnten in der vorliegenden Arbeit durch eine Verlängerung der postischämischen IL-Applikation auf 20 Minuten keine protektiven Effekte im Sinne einer Infarktgrößenreduktion ausgelöst werden. Zusätzlich war die IL-Postkonditionierung mit negativen Effekten auf die Herzfunktion nach 60 Minuten Reperfusion assoziiert. [1] Um dennoch eine kardioprotektive Wirkung im verwendeten Langendorff-Modell nachzuweisen, könnte eine Verkürzung der IL-Applikation auf 5 Minuten einen erfolgversprechenden Ansatz darstellen. In einer Studie von Rahman et al. führte bereits eine 5-minütige IL-Postkonditionierung zu einer signifikanten Infarktgrößenreduktion und einer Verbesserung hämodynamischer Parameter. [75] Auch Zaugg et al. konnten ex vivo an postinfarkt-remodellierten Rattenherzen zeigen, dass eine lediglich 2-minütige 1 % IL-Gabe zu Beginn der Reperfusion hinsichtlich der Erholung der linksventrikulären Funktion und des Energiestoffwechsels eine vergleichbare protektive Wirkung entfaltete wie eine kontinuierliche Gabe über die gesamte 30-minütige Reperfusion. [78] Eine kurzzeitige IL-Postkonditionierung könnte daher ausreichen, um zelluläre Schutzmechanismen zu aktivieren, ohne die potenziell negativen Effekte einer längeren IL-Exposition hervorzurufen.

4.2 Diskussion der Methodik

4.2.1 Verwendung des Langendorff-Modells

Das isoliert perfundierte Langendorff-Herz stellt auch mehr als hundert Jahre nach seiner Erstbeschreibung ein zentrales Modell in der kardiovaskulären Forschung dar. [84] Aufgrund seines einfachen technischen Aufbaus, der geringen Kosten und seiner hohen Reproduzierbarkeit findet es weiterhin breite Anwendung in experimentellen Studien. [104] Die Möglichkeit zur Messung zahlreicher Parameter der Herzfunktion, wie HF, LVP oder CF, stellt einen wichtigen Vorteil des Modells dar. Zusätzlich ermöglicht es die Analyse pharmakologischer Effekte direkt am Myokard, da systemische Einflüsse, wie neuronale oder hormonelle Regulation, ausgeschlossen sind. [85] Durch die gezielte Unterbrechung der Perfusion können zudem reproduzierbare I/R-Schäden induziert werden, was die Untersuchung kardioprotektiver Strategien unter standardisierten Bedingungen ermöglicht. [86] Abhängig von der jeweiligen Fragestellung kann die Technik gezielt angepasst werden, beispielsweise durch Modifikation des Perfusionsmodus oder die simultane Induktion pathologischer Zustände. [104]

Trotz zahlreicher Vorteile weist das Langendorff-Modell einige methodische Einschränkungen auf. Da das Herz vollständig vom Gesamtorganismus isoliert betrachtet wird, bleiben systemische Einflüsse wie hormonelle, humorale und neuronale Regulationen unberücksichtigt. [104] Die Perfusion erfolgt mit einem zellfreien, kristalloiden Puffer, was in druckkonstanten Anlagen zu deutlich erhöhten koronaren Flussraten im Vergleich zur physiologischen Blutperfusion führt. Dies kann zu erhöhtem Scherstress am Endothel führen und die vaskuläre Reaktivität beeinflussen. [103] Die geringe kolloidosmotische Kapazität der Pufferlösungen begünstigt zudem die Entstehung von Myokardödemen, was die funktionelle Beurteilung der Herzaktion erschweren kann. [105] Das isolierte Herz ist darüber hinaus besonders vulnerabel gegenüber äußeren Einflüssen. Bei der Entnahme und Präparation des Herzens ist daher größte Sorgfalt und ein zügiges Arbeiten erforderlich, um Schäden zu vermeiden und eine Konditionierung durch eine längere Ischämie zu verhindern. [104] Sorgfältiges Arbeiten ist auch erforderlich, um

während der gesamten Versuchsdauer eine konstante Temperatur aufrechtzuerhalten, die der physiologischen Körpertemperatur der Wistar Ratten entspricht. Auf diese Weise lassen sich konditionierende Effekte durch Hypo- oder Hyperthermien verhindern. [106, 107] Schließlich muss berücksichtigt werden, dass sich die Physiologie des Rattenherzens trotz vieler Gemeinsamkeiten von der des menschlichen Herzens unterscheidet. [108]

Trotz der genannten Limitationen stellt das Langendorff-Modell nach wie vor ein unverzichtbares experimentelles Werkzeug dar. Gerade im Bereich der Grundlagenforschung dient es als wichtiges Bindeglied zwischen Zellkulturmodellen und komplexen *in vivo* Tiermodellen.

4.2.2 Induktion der endothelialen Dysfunktion im Langendorff-Modell

Ein Protokoll zur Induktion einer ED im Langendorff-Modell durch flusskonstante Perfusion mit einem KHP mit hoher KCl Konzentration wurde bereits von He et al. beschrieben. [90] Dieses Protokoll wurde in einer Vorarbeit unserer Arbeitsgruppe weiterentwickelt, indem die flusskonstante Perfusion in eine ansonsten druckkonstante Anlage integriert wurde. Dadurch ist die Durchführung von Studien zur Kardioprotektion im druckkonstanten Aufbau möglich (s. Abschnitt 4.2.3). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die modifizierte Anlage erstmals systematisch angewendet, um die Bedeutung eines funktionsfähigen Endothels für die kardioprotektive Wirkung von IL zu untersuchen. Die ED wurde dabei durch eine 10-minütige flusskonstante Perfusion mit einem KHP mit 60 mM KCl induziert. [1]

Die Induktion der ED durch eine flusskonstante Perfusion mit K60 scheint primär auf scherstressbedingte Mechanismen zurückzuführen zu sein. Darauf weist eine Studie von Cartier et al. hin, in der eine Abhängigkeit der Endothelschädigung vom CPP beschrieben wurde. [89] Eine Schädigung der Koronarien durch erhöhten Scherstress ist im Langendorff-Modell zudem bereits beschrieben worden. [85] Beobachtungen unserer Arbeitsgruppe während der Etablierung des Modells unterstützen diese Annahme, da bei druckkonstanter Perfusion mit K60-Gabe keine Beeinträchtigung der Endothelfunktion nachgewiesen werden konnte. [1] Die Perfusion mit K60 führte zu einer anhaltenden Kontraktion des

Herzens mit nahezu vollständig erliegendem CF, sodass kein ausreichender Scherstress auf die Gefäßwand ausgeübt wurde. Im flusskonstanten System hingegen wird der Fluss trotz der Kontraktion aufrechterhalten, was zu einem Anstieg des CPP und einer erhöhten Scherstressbelastung der Koronarien führt.

4.2.3 Kombination von fluss- und druckkonstanter Langendorff-Anlage

In der vorliegenden Studie wurde eine modifizierte Langendorff-Anlage verwendet, bei der eine flusskonstante Perfusion zur Induktion der ED in einen ansonsten druckkonstanten Aufbau integriert wurde. Diese modifizierte Langendorff-Anlage verbindet die Vorteile beider Perfusionsmodi. Einerseits ermöglicht die flusskonstante Perfusion die standardisierte Applikation des K60-Puffers unter kontrollierten Flussbedingungen und die Sicherstellung eines hohen CPP, der für die Induktion der ED erforderlich ist. Andererseits erlaubt die druckkonstante Perfusion jedoch eine realitätsnähere Beurteilung der kardioprotektiven Effekte unter physiologischen Druckverhältnissen. Im Gegensatz zu druckkonstanten Systemen besteht bei rein flusskontrollierten Anlagen das Risiko einer übermäßigen Perfusion in nicht infarzierten Arealen während der Reperfusion. Dies kann zu überhöhtem Scherstress und folglich zu einer zusätzlichen, nicht gewünschten Myokardschädigung führen, die das Ergebnis hinsichtlich der tatsächlichen protektiven Wirkung verfälschen kann. Die Verwendung einer druckkonstanten Perfusion birgt dieses Risiko nicht und bietet daher Vorteile in der Untersuchung von I/R-Schäden. [85]

4.2.4 Einfluss der Perfusion mit K60 auf I/R-Schäden

Ein zentraler Aspekt bei Studien zur Kardioprotektion ist die Frage, ob das verwendete Modell selbst einen Einfluss auf die Infarktgröße ausübt, da diese als Goldstandard zur Beurteilung der Kardiomyozytenvitalität gilt. [109] Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die flusskonstante Perfusion mit einem KHP mit 60 mM KCl keinen signifikanten Einfluss auf die Infarktgröße hatte (s. Abb. 5). Zusätzlich lagen die Infarktgrößen unter Kontrollbedingungen im Bereich von 50–60 % der linksventrikulären Fläche und entsprechen den Ergebnissen vergleichbarer Studien ohne Induktion einer ED. [1, 110, 111]

Die Verwendung des K60 führte während der flusskonstanten Perfusion zu einer vorübergehenden Asystolie, was auf die starke Depolarisation der Zellmembranen durch die hohe extrazelluläre Kaliumkonzentration zurückzuführen ist. [112] Diese führte zu einer temporären Störung der Herzfunktion, die sich jedoch nach Umstellung auf die druckkonstante Perfusion und Auswaschung des K60 nach 1–2 Minuten normalisierte. Nach 60-minütiger Reperfusion zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der hämodynamischen Parameter zwischen den ED- und Kontrollgruppen. Lediglich der CF war nach flusskonstanter Perfusion mit K60 signifikant erhöht, was ein Hinweis auf eine gestörte Fähigkeit der Herzen zur Regulation der Vasodilatation durch die ED sein könnte. Die gesteigerte Perfusion korreliert in diesem Fall jedoch nicht mit einer signifikanten Infarktgrößenreduzierung. Zwar wurde durch die Perfusion mit K60 eine Verminderung des ischämischen Spitzendruckes beobachtet, was auf einen geringeren ischämischen Schaden hindeuten könnte, jedoch spiegelte sich dies nur in einer geringgradigen, nicht signifikanten Reduktion der Infarktgröße wider. Auch in der Studie von He et al. hatte die Perfusion mit K60 einen zu vernachlässigenden Einfluss auf die Infarktgröße. [90] Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen, dass das verwendete Protokoll keinen Einfluss auf die Infarktgröße hat und daher geeignet ist, die Relevanz des Endothels für kardioprotektive Effekte unterschiedlicher Pharmaka zu untersuchen. [1]

4.2.5 Herstellung und Perfusion der Intralipidlösung

Ein zentraler methodischer Aspekt dieser Studie war die Herstellung und kontrollierte Applikation der IL-Lösung. Verwendet wurde eine Konzentration von 1 % IL, was auch in anderen Studien zur Konditionierung mit IL im Langendorff-Modell als Standard etabliert ist. In einer Studie von Li et al. wurden unterschiedliche Konzentrationen hinsichtlich ihrer kardioprotektiven Wirkung verglichen. [76] Dabei zeigte sich, dass eine Konzentration von 1 % die höchste kardioprotektive Potenz aufwies, was die Auswahl dieser Konzentration in der vorliegenden Arbeit rechtfertigt. Auch bei *in vivo* Studien sowie in klinischen Anwendungen beim Menschen werden durch i.v. Bolusgaben oder kontinuierliche Infusion von 20 % IL vergleichbare Konzentrationen im Plasma erreicht. [76, 102]

Da kommerziell ausschließlich eine 20 % IL-Stammlösung erhältlich war, musste zur Herstellung der Perfusionslösung zunächst eine Verdünnung erfolgen. [1] Eine direkte Applikation der Stammlösung über eine Spritzenpumpe in das Langendorff-System wurde bewusst vermieden. Zum einen wäre es im druckkonstanten Perfusionsmodus nicht praktikabel gewesen, da der CF in Abhängigkeit vom Gefäßwiderstand schwankt und der Spritzenpumpenfluss daher kontinuierlich an den momentanen CF hätte angepasst werden müssen, um eine konstante Zielkonzentration zu gewährleisten. Zum anderen ist die Zugabe über eine Spritzenpumpe ohnehin auf maximal etwa 3 % des CF limitiert, da es sonst zu detektierbaren Druckveränderungen am Herzen kommt. Mit der verfügbaren 20 % Stammlösung hätte jedoch eine deutlich höhere Flussrate gewählt werden müssen, um die gewünschte Zielkonzentration zu erreichen. Zudem hätten die viskösen Eigenschaften des IL sowie dessen Adhäsion an den Innenwänden von Schläuchen eine gleichmäßige Zufuhr über die feine Leitung der Spritzenpumpe erschwert. Auch eine homogene Durchmischung mit dem KHP in der Langendorff-Anlage und ein komplettes Auswaschen des IL nach Ende der Konditionierung hätte auf diese Weise nicht sichergestellt werden können. Eine präzise Steuerung von Beginn und Ende der IL-Gabe wäre so nicht möglich gewesen. Aus diesen Gründen erfolgte die Applikation über einen separaten, druckkonstanten Perfusionskreislauf, der in das Langendorff-Modell integriert wurde. Die 20 % Stammlösung wurde vor Beginn des Versuchs mit KHP auf 1 % verdünnt und die Homogenität der Lösung sichergestellt. Dieser Aufbau ermöglichte eine gleichbleibende Konzentration während der gesamten Applikationsdauer und stellte eine standardisierte Dauer der Konditionierung sicher. [1]

4.3 Relevanz und Übertragbarkeit

Mit der pharmakologischen Konditionierung sollen Myokardschädigungen durch I/R reduziert werden und damit die Prognose von Patienten mit HKE verbessert und die Belastung des Gesundheitssystems reduziert werden. Besonders interessant sind in diesem Kontext Substanzen, die wie IL bereits klinisch etabliert sind und bei anderen Indikationen routinemäßig eingesetzt werden (s. Abschnitt 1.5.1). [113]

Präklinische Studien konnten bereits kardioprotektive Effekte einer Konditionierung mit IL nachweisen. [75, 76] Klinische Untersuchungen bestätigten zwar die Sicherheit der IL-Infusion, lieferten jedoch bislang keine konsistenten Hinweise auf einen signifikanten Nutzen. So wurden in einzelnen Studien zur Präkonditionierung mit IL bei Bypass-Operationen ohne Herz-Lungen-Maschine eine Reduktion kardialer Biomarker und eine Verbesserung funktioneller Parameter beschrieben. [79, 114] Auch in Studien zur Postkonditionierung zeigten z. B. zwei Studien eine Verbesserung kardialer Biomarker [101, 115], während andere Studien keine Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe feststellen konnten. [102, 116] In keiner der bisher veröffentlichten Studien konnten jedoch signifikante Effekte auf klinische Endpunkte nachgewiesen werden. [80] Wie bei anderen pharmakologischen Konditionierungsstrategien, beispielsweise durch volatile Anästhetika, Betablocker oder Cyclosporin A, gestaltet sich auch hier die Übertragung in die klinische Praxis schwierig. [117-119] Die großen Unterschiede zwischen einer experimentellen Untersuchung mit klar definierten Bedingungen, einschließlich kontrollierter Tiermodelle hinsichtlich Alter, Geschlecht und Gesundheitszustand, und einer klinischen Studie mit einer Vielzahl von Einflussgrößen, wie Komorbiditäten, Begleitmedikationen oder heterogenen Patientenkollektiven, scheinen eine erfolgreiche Translation zu erschweren. [48]

Angesichts einer alternden Bevölkerung mit einer hohen Prävalenz kardiovaskulärer Erkrankungen hat die Erforschung kardioprotektiver Strategien unter klinisch relevanteren Bedingungen eine wichtige Bedeutung. Besonders im Hinblick auf eine erfolgreichere Translation von Konditionierungsstrategien in die klinische Anwendung ist es entscheidend, pathophysiologische Zustände adäquat in präklinische Modelle zu integrieren. [49] Ein wesentliches Merkmal der vorliegenden Studie ist daher die Berücksichtigung der ED, die einen zentralen Faktor bei der Entstehung und Progression kardiovaskulärer Erkrankungen darstellt und eng mit häufigen Komorbiditäten wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus und Hyperlipidämie assoziiert ist. [55] Zahlreiche Studien zeigen, dass diese Komorbiditäten mit kardioprotektiven Konditionierungsstrategien interferieren und deren Wirksamkeit abschwächen können. [120, 121] Bei der ED ist zusätzlich von Be-

deutung, dass das Endothel über die Freisetzung von NO an zahlreichen zellulären Schutzmechanismen beteiligt ist, sodass eine reduzierte NO-Bioverfügbarkeit zu einer Abschwächung protektiver Signalwege führen kann. [122]

Das in dieser Arbeit eingesetzte Modell bietet eine praktikable Möglichkeit, eine ED unter kontrollierten Bedingungen im *ex vivo* Setting zu induzieren und die Interaktion mit kardioprotektiven Strategien zu untersuchen. Die Beurteilung der Endothelfunktion erfolgte bei der Etablierung des Modells über die NO-vermittelte Vasodilatation. [1] Das Konzept der ED umfasst jedoch ein deutlich breiteres Spektrum von Veränderungen, darunter eine gesteigerte Thrombozytenaggregation, eine gestörte Barrierefunktion sowie proinflammatorische Prozesse. [123] Inwieweit diese Funktionen im vorliegenden Modell beeinträchtigt sind, wurde bei der Etablierung des Modells nicht untersucht. Zwar ist anzunehmen, dass auch andere NO-vermittelten Signalwege betroffen sind, die genaue Charakterisierung der Pathophysiologie der ED im verwendeten Modell erfordert jedoch weiterführende Untersuchungen.

In diesem Zusammenhang ist zu beachten, dass sich die ED im Gefäßsystem häufig chronisch entwickelt und typischerweise mit einer Atherosklerose assoziiert ist. [55] Im verwendeten Modell wird die ED dagegen durch eine kurzzeitige, flusskonstante Perfusion mit K60 induziert. Der zugrundeliegende Pathomechanismus basiert auf einem Anstieg des CPP, wodurch eine Beeinträchtigung der NO-vermittelten endothelialen Funktion hervorgerufen wird. Auf zellulärer Ebene lässt sich dieser Prozess mit der Scherstress-induzierten ED im Menschen vergleichen. [124] Jedoch wird die ED im Modell der vorliegenden Arbeit innerhalb eines kurzen Zeitrahmens induziert, während sie beim Menschen typischerweise über Jahre hinweg entsteht und mit komplexen adaptiven Umbauprozessen im Gefäßsystem einhergeht. [123] Solche graduellen Anpassungen können in einem zeitlich begrenzten Versuch am isolierten Herzen nicht abgebildet werden. Das verwendete Modell stellt somit eine funktionelle, zeitlich begrenzte Form der ED dar, die zentrale pathophysiologische Aspekte widerspiegelt, die Komplexität einer chronischen ED im Menschen jedoch nur eingeschränkt abbildet. Dies kann die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf klinische Kontexte limitieren. Trotz dieser

Einschränkungen liefert das Modell wertvolle Erkenntnisse über endothelabhängige Mechanismen und ermöglicht eine differenzierte Untersuchung kardioprotektiver Strategien unter kontrollierten, pathologisch relevanten Bedingungen.

Die Beobachtung, dass IL auch unter Bedingungen einer ED eine signifikante Infarktgrößenreduktion vermittelt, unterstreicht das Potential für weiterführende klinische Untersuchungen in Patientenkollektiven mit ED. Insgesamt leistet die vorliegende Studie damit einen Beitrag zur präklinischen Validierung von IL als kardioprotektive Substanz unter Berücksichtigung klinisch relevanter Bedingungen und unterstützt die Forderung nach einer stärker patientenzentrierten Entwicklung kardioprotektiver Strategien.

4.4 Limitationen

Wie bei allen experimentellen Studien unterliegen auch die vorliegenden Ergebnisse methodischen Einschränkungen, die bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen. Zunächst bleibt bei tierexperimentellen Studien immer zu hinterfragen, inwieweit sich die Ergebnisse auf den Menschen übertragen lassen. Trotz vieler Parallelen unterscheidet sich die Physiologie des Rattenherzens von der des menschlichen Herzens, was die direkte Übertragung der Ergebnisse auf die klinische Situation begrenzt. Ein wichtiger Aspekt ist zudem die isolierte Betrachtung des Herzens an der Langendorff-Anlage, die eine Untersuchung kardiovaskulärer Prozesse unter kontrollierten Bedingungen unabhängig von systemischen Einflüssen erlaubt. Dadurch bleiben jedoch wichtige physiologische Interaktionen mit anderen Organsystemen unberücksichtigt. [104] Auch mögliche Interaktionen des Organismus mit den konditionierenden Effekten von IL werden nicht beachtet. Die Perfusion mit einem zellfreien, kristalloiden Puffer führt zudem zu unphysiologisch erhöhten koronaren Flussraten, die den Scherstress am Endothel steigern und damit die vaskuläre Reaktivität beeinflussen können. [103] Die geringe kolloidosmotische Kapazität der Pufferlösungen begünstigt außerdem die Entstehung von Myokardödemen, was die funktionelle Beurteilung des Herzens einschränken kann. Eine weitere methodische Limitation betrifft die kurze Dauer der ED-Induktion im verwendeten Modell (s. Abschnitt 4.3).

Trotz dieser Einschränkungen liefert das verwendete Modell relevante Erkenntnisse zur Bedeutung des Endothels für die Kardioprotektion mit IL. Es trägt zur weiteren präklinischen Validierung kardioprotektiver Strategien bei und greift damit die vielfach formulierte Forderung auf, potenziell wirksame Interventionen unter realitätsnäheren Bedingungen zu testen, um ihre Translation in die klinische Praxis erfolgreicher zu gestalten.

4.5 Schlussfolgerung und Ausblick

Abschließend lässt sich festhalten, dass in der vorliegenden Arbeit durch eine IL-Präkonditionierung die Infarktgröße signifikant reduziert und die Herzfunktion nach I/R-Schaden verbessert werden konnte. Interessant ist, dass dieser Effekt auch bei zuvor induzierter ED erhalten blieb. Die Protektion scheint somit unabhängig von einer intakten Endothelfunktion vermittelt zu werden, sodass endothelunabhängige Signalwege eher eine Rolle spielen könnten. [1]

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die zur Induktion der ED eingesetzte flusskonstante Perfusion mit einem KHP mit 60 mM KCl selbst keine Reduktion der Infarktgröße bewirkte. Somit eignet sich das verwendete Modell für Fragestellungen zur Untersuchung endothelabhängiger Kardioprotektion, ohne protektive Effekte systematisch zu verfälschen. [1]

Im Gegensatz dazu konnte kein protektiver Effekt einer IL-Postkonditionierung nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu früheren Studien, in denen eine signifikante Infarktgrößenreduzierung und Verbesserung der myokardialen Funktion durch eine IL-Postkonditionierung beschrieben wurde. Mögliche Ursachen für die abweichenden Ergebnisse könnten im unterschiedlichen Versuchsaufbau liegen. Zusätzlich wurden makroskopische Ablagerungen von IL im Myokard und den Koronargefäßen beobachtet, die möglicherweise den koronaren Fluss eingeschränkt und so eine protektive Wirkung verhindert haben könnten. [1]

Die vorliegende Arbeit stellt insgesamt eine *Proof-of-Concept* Anwendung des zuvor etablierten ED-Modells im isoliert perfundierten Rattenherz dar. Die innovative Kombination von fluss- und druckkonstanten Kreisläufen ermöglicht eine

standardisierte IL-Konditionierung, eine gezielte Induktion einer ED und eine Reperfusion unter physiologischen Druckverhältnissen. Damit bietet das Modell eine wertvolle Grundlage für die Untersuchung kardioprotektiver Strategien unter pathophysiologisch relevanten Bedingungen und leistet einen Beitrag zur verbesserten Translation präklinischer Erkenntnisse in die klinische Praxis.

Zukünftige Studien sollten untersuchen, ob an der durch IL vermittelten Kardioprotektion, analog zur Konditionierung mit Dex oder Oxytocin, NOS-/NO-abhängige Signalwege beteiligt sind. Darüber hinaus sind weiterführende Untersuchungen erforderlich, um potenzielle endothelunabhängige Aktivierungsmechanismen protektiver Signalwege in Kardiomyozyten zu identifizieren.

5 Literaturverzeichnis

1. Stroethoff, M., et al., *Cardioprotection by Preconditioning with Intralipid Is Sustained in a Model of Endothelial Dysfunction for Isolated-Perfused Hearts.* International Journal of Molecular Sciences, 2024. **25**(20): p. 10975.
2. Roth, G. A., et al., *Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study.* J Am Coll Cardiol, 2020. **76**(25): p. 2982-3021.
3. World Health Organization, *The top 10 causes of death*. 7. August 2024. Verfügbar unter: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death (Abgerufen am: 02.07.2026).
4. Statistisches Bundesamt, *Die 10 häufigsten Todesfälle durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen*. 19. August 2024. Verfügbar unter: https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/sterbefaelle-herz-kreislauf-erkrankungen-insgesamt.html (Abgerufen am: 02.07.2026).
5. Libby, P., *Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy.* N Engl J Med, 2013. **368**(21): p. 2004-13.
6. Ensminger, S., et al., *Der Deutsche Herzbericht – Update 2024 – Eine Zusammenfassung der wichtigsten Erkenntnisse.* Die Kardiologie, 2024. **18**(6): p. 476-484.
7. Timmis, A., et al., *European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2021.* Eur Heart J, 2022. **43**(8): p. 716-799.
8. Weiser, T. G., et al., *Estimate of the global volume of surgery in 2012: an assessment supporting improved health outcomes.* Lancet, 2015. **385 Suppl 2**: p. S11.
9. Puelacher, C., et al., *Perioperative Myocardial Injury After Noncardiac Surgery: Incidence, Mortality, and Characterization.* Circulation, 2018. **137**(12): p. 1221-1232.
10. Statistisches Bundesamt, *Pressemitteilung Nr. 316 vom 27. Juli 2022: Krankheitskosten pro Kopf gleichen sich zwischen Männern und Frauen weiter an*. Verfügbar unter: https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2022/07/PD22_316_236.html (Abgerufen am: 02.07.2026).
11. Libby, P., *The changing landscape of atherosclerosis.* Nature, 2021. **592**(7855): p. 524-533.
12. Heusch, G., *Myocardial Ischemia: Lack of Coronary Blood Flow or Myocardial Oxygen Supply/Demand Imbalance?* Circ Res, 2016. **119**(2): p. 194-6.
13. Davies, M. J., *The pathophysiology of acute coronary syndromes.* Heart, 2000. **83**(3): p. 361-6.

14. Thygesen, K., et al., *Fourth universal definition of myocardial infarction (2018).* Eur Heart J, 2019. **40**(3): p. 237-269.

15. White, H. D. and Chew, D. P., *Acute myocardial infarction.* Lancet, 2008. **372**(9638): p. 570-84.

16. Braunwald, E. and Kloner, R. A., *Myocardial reperfusion: a double-edged sword?* J Clin Invest, 1985. **76**(5): p. 1713-9.

17. Piper, H. M., García-Dorado, D. and Ovize, M., *A fresh look at reperfusion injury.* Cardiovasc Res, 1998. **38**(2): p. 291-300.

18. Yellon, D. M. and Hausenloy, D. J., *Myocardial reperfusion injury.* N Engl J Med, 2007. **357**(11): p. 1121-35.

19. Heusch, G., *Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective.* Nat Rev Cardiol, 2020. **17**(12): p. 773-789.

20. Piper, H. M., Meuter, K. and Schäfer, C., *Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury.* Ann Thorac Surg, 2003. **75**(2): p. S644-8.

21. Jennings, R. B. and Reimer, K. A., *The cell biology of acute myocardial ischemia.* Annu Rev Med, 1991. **42**: p. 225-46.

22. Tani, M. and Neely, J. R., *Role of intracellular Na+ in Ca2+ overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts. Possible involvement of H+-Na+ and Na+-Ca2+ exchange.* Circ Res, 1989. **65**(4): p. 1045-56.

23. Wang, Q., et al., *Pharmacological Cardioprotection against Ischemia Reperfusion Injury-The Search for a Clinical Effective Therapy.* Cells, 2023. **12**(10).

24. Hofmann, J., et al., *Novel, Innovative Models to Study Ischemia/Reperfusion-Related Redox Damage in Organ Transplantation.* Antioxidants (Basel), 2022. **12**(1).

25. Zhou, T., Chuang, C.-C. and Zuo, L., *Molecular characterization of reactive oxygen species in myocardial ischemia-reperfusion injury.* BioMed research international, 2015. **2015**(1): p. 864946.

26. Haworth, R. A. and Hunter, D. R., *The Ca2+-induced membrane transition in mitochondria. II. Nature of the Ca2+ trigger site.* Arch Biochem Biophys, 1979. **195**(2): p. 460-7.

27. Hunter, D. R. and Haworth, R. A., *The Ca2+-induced membrane transition in mitochondria. I. The protective mechanisms.* Arch Biochem Biophys, 1979. **195**(2): p. 453-9.

28. Hunter, D. R. and Haworth, R. A., *The Ca2+-induced membrane transition in mitochondria. III. Transitional Ca2+ release.* Arch Biochem Biophys, 1979. **195**(2): p. 468-77.

29. Xiang, Q., et al., *Regulated cell death in myocardial ischemia–reperfusion injury.* Trends in Endocrinology & Metabolism, 2024. **35**(3): p. 219-234.

30. Steppuhn, H., et al., *Zeitliche Entwicklung der Mortalität der koronaren Herzkrankheit in Deutschland von 1998 bis 2023.* J Health Monit, 2025. **10**(2): p. e13127.

31. Sabe, S. A., et al., *Cardioprotection in cardiovascular surgery.* Basic Research in Cardiology, 2024. **119**(4): p. 545-568.

32. Heusch, G., et al., *Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure.* Lancet, 2014. **383**(9932): p. 1933-43.

33. Burns, R. J., et al., *The relationships of left ventricular ejection fraction, end-systolic volume index and infarct size to six-month mortality after hospital discharge following myocardial infarction treated by thrombolysis.* J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(1): p. 30-6.

34. Murry, C. E., Jennings, R. B. and Reimer, K. A., *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium.* Circulation, 1986. **74**(5): p. 1124-36.

35. Schott, R. J., et al., *Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium.* Circ Res, 1990. **66**(4): p. 1133-42.

36. Moolman, J. A., et al., *Preconditioning with a single short episode of global ischemia in the isolated working rat heart: effect on structure, mechanical function, and energy metabolism for various durations of sustained global ischemia.* Cardiovasc Drugs Ther, 1995. **9**(1): p. 103-15.

37. Cason, B. A., et al., *Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits.* Anesthesiology, 1997. **87**(5): p. 1182-90.

38. Yellon, D. M., Alkhulaifi, A. M. and Pugsley, W. B., *Preconditioning the human myocardium.* Lancet, 1993. **342**(8866): p. 276-7.

39. Lloris-Carsí, J. M., et al., *Preconditioning: effect upon lesion modulation in warm liver ischemia.* Transplant Proc, 1993. **25**(6): p. 3303-4.

40. Turman, M. A. and Bates, C. M., *Susceptibility of human proximal tubular cells to hypoxia: effect of hypoxic preconditioning and comparison to glomerular cells.* Ren Fail, 1997. **19**(1): p. 47-60.

41. Heurteaux, C., et al., *Essential role of adenosine, adenosine A1 receptors, and ATP-sensitive K+ channels in cerebral ischemic preconditioning.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(10): p. 4666-70.

42. Zhao, Z. Q., et al., *Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **285**(2): p. H579-88.

43. Przyklenk, K., et al., *Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion.* Circulation, 1993. **87**(3): p. 893-9.

44. Hausenloy, D. J., et al., *Novel targets and future strategies for acute cardioprotection: Position Paper of the European Society of Cardiology Working Group on Cellular Biology of the Heart.* Cardiovasc Res, 2017. **113**(6): p. 564-585.

45. Caricati-Neto, A., Errante, P. R. and Menezes-Rodrigues, F. S., *Recent Advances in Pharmacological and Non-Pharmacological Strategies of Cardioprotection.* Int J Mol Sci, 2019. **20**(16).

46. Zhang, H., et al., *Cardioprotective Strategies After Ischemia-Reperfusion Injury.* Am J Cardiovasc Drugs, 2024. **24**(1): p. 5-18.

47. Kleinbongard, P. and Heusch, G., *Extracellular signalling molecules in the ischaemic/reperfused heart - druggable and translatable for cardioprotection?* Br J Pharmacol, 2015. **172**(8): p. 2010-25.

48. Torregroza, C., et al., *[Perioperative cardioprotection - From bench to bedside : Current experimental evidence and possible reasons for the limited translation into the clinical setting].* Anaesthesist, 2021. **70**(5): p. 401-412.

49. Heusch, G., *Cardioprotection and its Translation: A Need for New Paradigms? Or for New Pragmatism? An Opinionated Retro- and Perspective.* J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2023. **28**: p. 10742484231179613.

50. Ferdinandy, P., et al., *Interaction of Cardiovascular Nonmodifiable Risk Factors, Comorbidities and Comedications With Ischemia/Reperfusion Injury and Cardioprotection by Pharmacological Treatments and Ischemic Conditioning.* Pharmacol Rev, 2023. **75**(1): p. 159-216.

51. Ruiz-Meana, M., et al., *Ageing, sex, and cardioprotection.* Br J Pharmacol, 2020. **177**(23): p. 5270-5286.

52. Penna, C., et al., *Challenges facing the clinical translation of cardioprotection: 35 years after the discovery of ischemic preconditioning.* Vascular Pharmacology, 2022. **144**: p. 106995.

53. Schulz, R., et al., *Risk factors, co-morbidities, and co-medications in cardioprotection: Importance for translation.* Br J Pharmacol, 2020. **177**(23): p. 5249-5251.

54. Smith, O., *Nobel Prize for NO research.* Nat Med, 1998. **4**(11): p. 1215.

55. Xu, S., et al., *Endothelial Dysfunction in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases and Beyond: From Mechanism to Pharmacotherapies.* Pharmacol Rev, 2021. **73**(3): p. 924-967.

56. Roy, R., et al., *Dysfunctional and Dysregulated Nitric Oxide Synthases in Cardiovascular Disease: Mechanisms and Therapeutic Potential.* Int J Mol Sci, 2023. **24**(20).

57. Krüger-Genge, A., et al., *Vascular Endothelial Cell Biology: An Update.* Int J Mol Sci, 2019. **20**(18).

58. Totzeck, M., Hendgen-Cotta, U. B. and Rassaf, T., *Nitrite-Nitric Oxide Signaling and Cardioprotection.* Adv Exp Med Biol, 2017. **982**: p. 335-346.

59. Jones, S. P., et al., *Myocardial ischemia-reperfusion injury is exacerbated in absence of endothelial cell nitric oxide synthase.* Am J Physiol, 1999. **276**(5): p. H1567-73.

60. Heusch, G., Boengler, K. and Schulz, R., *Cardioprotection: nitric oxide, protein kinases, and mitochondria.* Circulation, 2008. **118**(19): p. 1915-1919.

61. Alexander, Y., et al., *Endothelial function in cardiovascular medicine: a consensus paper of the European Society of Cardiology Working Groups on Atherosclerosis and Vascular Biology, Aorta and Peripheral Vascular Diseases, Coronary Pathophysiology and Microcirculation, and Thrombosis.* Cardiovasc Res, 2021. **117**(1): p. 29-42.

62. Hunt, B. J. and Jurd, K. M., *Endothelial cell activation. A central pathophysiological process.* Bmj, 1998. **316**(7141): p. 1328-9.

63. Libby, P., Ridker, P. M. and Maseri, A., *Inflammation and atherosclerosis.* Circulation, 2002. **105**(9): p. 1135-43.

64. Virmani, R., et al., *Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000. **20**(5): p. 1262-75.

65. Poredos, P., Poredos, A. V. and Gregoric, I., *Endothelial Dysfunction and Its Clinical Implications.* Angiology, 2021. **72**(7): p. 604-615.

66. Janaszak-Jasiecka, A., et al., *Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: molecular mechanisms as potential therapeutic targets.* Cell Mol Biol Lett, 2023. **28**(1): p. 21.

67. Cheng, H., et al., *Effects of shear stress on vascular endothelial functions in atherosclerosis and potential therapeutic approaches.* Biomed Pharmacother, 2023. **158**: p. 114198.

68. Leucker, T. M., et al., *Endothelial-cardiomyocyte crosstalk enhances pharmacological cardioprotection.* J Mol Cell Cardiol, 2011. **51**(5): p. 803-11.

69. Aggarwal, S., et al., *Preconditioning at a distance: Involvement of endothelial vasoactive substances in cardioprotection against ischemia-reperfusion injury.* Life Sci, 2016. **151**: p. 250-258.

70. Edgren, B. and Wretlind, A., *The theoretical background of the intravenous nutrition with fat emulsions.* Nutr Dieta Eur Rev Nutr Diet, 1963. **5**: p. 364-86.

71. Bittner, B. and Mountfield, R. J., *Intravenous administration of poorly soluble new drug entities in early drug discovery: the potential impact of formulation on pharmacokinetic parameters.* Curr Opin Drug Discov Devel, 2002. **5**(1): p. 59-71.

72. Rosenblatt, M. A., et al., *Successful use of a 20% lipid emulsion to resuscitate a patient after a presumed bupivacaine-related cardiac arrest.* Anesthesiology, 2006. **105**(1): p. 217-8.

73. Weinberg, G. L., et al., *Pretreatment or resuscitation with a lipid infusion shifts the dose-response to bupivacaine-induced asystole in rats.* Anesthesiology, 1998. **88**(4): p. 1071-5.

74. Levine, M., et al., *Systematic review of the effect of intravenous lipid emulsion therapy for non-local anesthetics toxicity.* Clin Toxicol (Phila), 2016. **54**(3): p. 194-221.

75. Rahman, S., et al., *Phosphorylation of GSK-3β mediates intralipid-induced cardioprotection against ischemia/reperfusion injury.* Anesthesiology, 2011. **115**(2): p. 242-53.

76. Li, J., et al., *Intralipid, a clinically safe compound, protects the heart against ischemia-reperfusion injury more efficiently than cyclosporine-A.* Anesthesiology, 2012. **117**(4): p. 836-46.

77. Li, J., et al., *Intralipid protects the heart in late pregnancy against ischemia/reperfusion injury via Caveolin2/STAT3/GSK-3β pathway.* J Mol Cell Cardiol, 2017. **102**: p. 108-116.

78. Zaugg, M., et al., *Postconditioning with Intralipid emulsion protects against reperfusion injury in post-infarct remodeled rat hearts by activation of ROS-Akt/Erk signaling.* Translational Research, 2017. **186**: p. 36-51.e2.

79. El Derh, M. S., Twab, S. M. A. and Elgouhary, M., *The cardioprotective effect of intralipid in decreasing the ischemic insults during off-pump coronary artery revascularization.* Ain-Shams Journal of Anesthesiology, 2021. **13**(1): p. 61.

80. Pruthi, G., et al., *Effect of Postconditioning With Intralipid in Patients Undergoing Off-Pump Coronary Artery Bypass Surgery: A Randomized Controlled Trial.* Cureus, 2025. **17**(3): p. e80593.

81. Lou, P. H., et al., *The mechanism of Intralipid®-mediated cardioprotection complex IV inhibition by the active metabolite, palmitoylcarnitine, generates reactive oxygen species and activates reperfusion injury salvage kinases.* PLoS One, 2014. **9**(1): p. e87205.

82. Ma, L. L., et al., *Ventricular hypertrophy abrogates intralipid-induced cardioprotection by alteration of reperfusion injury salvage kinase/glycogen synthase kinase 3β signal.* Shock, 2014. **41**(5): p. 435-42.

83. Weihrauch, D., et al., *Intralipid Increases Nitric Oxide Release from Human Endothelial Cells During Oxidative Stress.* JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2021. **45**(2): p. 295-302.

84. Langendorff, O., *Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen.* Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, 1895. **61**(6): p. 291-332.

85. Bell, R. M., Mocanu, M. M. and Yellon, D. M., *Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion.* J Mol Cell Cardiol, 2011. **50**(6): p. 940-50.

86. Yang, T., et al., *Isolated Perfused Hearts for Cardiovascular Research: An Old Dog with New Tricks.* J Cardiovasc Transl Res, 2024. **17**(5): p. 1207-1217.

87. Hassanabad, Z. F., et al., *Coronary endothelial dysfunction increases the severity of ischaemia-induced ventricular arrhythmias in rat isolated perfused hearts.* Basic Res Cardiol, 1998. **93**(4): p. 241-9.

88. Mankad, P. S., Chester, A. H. and Yacoub, M. H., *Role of potassium concentration in cardioplegic solutions in mediating endothelial damage.* Ann Thorac Surg, 1991. **51**(1): p. 89-93.

89. Cartier, R., et al., *Effects of pressure and duration of hyperkalemic infusions on endothelial function.* The Annals of thoracic surgery, 1993. **55**(3): p. 700-705.

90. He, L., et al., *Dexmedetomidine preconditioning attenuates ischemia/reperfusion injury in isolated rat hearts with endothelial dysfunction.* Biomed Pharmacother, 2019. **114**: p. 108837.

91. Csonka, C., et al., *Measurement of myocardial infarct size in preclinical studies.* J Pharmacol Toxicol Methods, 2010. **61**(2): p. 163-70.

92. Wang, M., et al., *Oxytocin mediated cardioprotection is independent of coronary endothelial function in rats.* Peptides, 2020. **130**: p. 170333.

93. Riquelme, J. A., et al., *Dexmedetomidine protects the heart against ischemia-reperfusion injury by an endothelial eNOS/NO dependent mechanism.* Pharmacol Res, 2016. **103**: p. 318-27.

94. Imani, A., et al., *Stimulation of Oxytocin Receptor during Early Reperfusion Period Protects the Heart against Ischemia/Reperfusion Injury: the Role of Mitochondrial ATPSensitive Potassium Channel, Nitric Oxide, and Prostaglandins.* Acta Medica Iranica, 2015: p. 491-500.

95. Das, B. and Sarkar, C., *Is preconditioning by oxytocin administration mediated by iNOS and/or mitochondrial K(ATP) channel activation in the in vivo anesthetized rabbit heart?* Life Sci, 2012. **90**(19-20): p. 763-9.

96. Zhang, Y., et al., *Free fatty acids induce coronary microvascular dysfunction via inhibition of the AMPK/KLF2/eNOS signaling pathway.* Int J Mol Med, 2023. **51**(4).

97. Umpierrez, G. E., et al., *Intravenous Intralipid-Induced Blood Pressure Elevation and Endothelial Dysfunction in Obese African-Americans with Type 2 Diabetes.* The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2009. **94**(2): p. 609-614.

98. Steinberg, H. O., et al., *Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation.* J Clin Invest, 1997. **100**(5): p. 1230-9.

99. Ghasemi, A. and Jeddi, S., *Quantitative aspects of nitric oxide production in the heart.* Molecular Biology Reports, 2022. **49**(11): p. 11113-11122.

100. Ok, S. H., et al., *Lipid Emulsion for Treating Local Anesthetic Systemic Toxicity.* Int J Med Sci, 2018. **15**(7): p. 713-722.

101. Zhou, R. H., et al., *Effect of intralipid postconditioning on myocardial injury in patients undergoing valve replacement surgery: a randomised controlled trial.* Heart, 2017. **103**(14): p. 1122-1127.

102. Hadebe, N., et al., *Cardioprotection with Intralipid During Coronary Artery Bypass Grafting Surgery on Cardiopulmonary Bypass: A Randomized Clinical Trial.* Cardiovascular Drugs and Therapy, 2024.

103. Walters, H. L., 3rd, et al., *The response to ischemia in blood perfused vs. crystalloid perfused isolated rat heart preparations.* J Mol Cell Cardiol, 1992. **24**(10): p. 1063-77.

104. Skrzypiec-Spring, M., et al., *Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium.* J Pharmacol Toxicol Methods, 2007. **55**(2): p. 113-26.

105. Vogel, W. M., Cerel, A. W. and Apstein, C. S., *Post-ischemic cardiac chamber stiffness and coronary vasomotion: the role of edema and effects of dextran.* J Mol Cell Cardiol, 1986. **18**(12): p. 1207-18.

106. 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.

107. Yellon, D. M., et al., *The protective role of heat stress in the ischaemic and reperfused rabbit myocardium.* J Mol Cell Cardiol, 1992. **24**(8): p. 895-907.

108. Milani-Nejad, N. and Janssen, P. M., *Small and large animal models in cardiac contraction research: advantages and disadvantages.* Pharmacol Ther, 2014. **141**(3): p. 235-49.

109. Lindsey, M. L., et al., *Guidelines for experimental models of myocardial ischemia and infarction.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2018. **314**(4): p. H812-h838.

110. Torregroza, C., et al., *Influence of Hyperglycemia on Dexmedetomidine-Induced Cardioprotection in the Isolated Perfused Rat Heart.* J Clin Med, 2020. **9**(5).

111. Raupach, A., et al., *Dexmedetomidine Provides Cardioprotection During Early or Late Reperfusion Mediated by Different Mitochondrial K+-Channels.* Anesthesia & Analgesia, 2021. **132**(1): p. 253-260.

112. Poole-Wilson, P. A., *Potassium and the heart.* Clinics in Endocrinology and Metabolism, 1984. **13**(2): p. 249-268.

113. Torregroza, C., et al., *Perioperative Cardioprotection: General Mechanisms and Pharmacological Approaches.* Anesthesia & Analgesia, 2020. **131**(6).

114. Pruthi, G., et al., *Pharmacological preconditioning with intralipid in patients undergoing off-pump coronary artery bypass surgery.* Ann Card Anaesth, 2020. **23**(3): p. 327-331.

115. Abdelhamid, H. M., et al., *The effect of intralipid infusion as postconditioning agent to reduce the myocardial reperfusion injury in coronary surgery patients.* Research and Opinion in Anesthesia & Intensive Care, 2018. **5**(4): p. 323-328.

116. Yu, H., et al., *Effect of intralipid on myocardial injury during valve replacement surgery with concomitant radiofrequency ablation: A randomized controlled trial.* Medicine (Baltimore), 2018. **97**(1): p. e9603.

117. Landoni, G., et al., *Volatile Anesthetics versus Total Intravenous Anesthesia for Cardiac Surgery.* N Engl J Med, 2019. **380**(13): p. 1214-1225.

118. Roolvink, V., et al., *Early Intravenous Beta-Blockers in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Before Primary Percutaneous Coronary Intervention.* J Am Coll Cardiol, 2016. **67**(23): p. 2705-2715.

119. Cung, T. T., et al., *Cyclosporine before PCI in Patients with Acute Myocardial Infarction.* N Engl J Med, 2015. **373**(11): p. 1021-31.

120. 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.

121. Babbar, L., Mahadevan, N. and Balakumar, P., *Fenofibrate attenuates impaired ischemic preconditioning-mediated cardioprotection in the fructose-fed hypertriglyceridemic rat heart.* Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2013. **386**(4): p. 319-29.

122. Jones, S. P. and Bolli, R., *The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection.* J Mol Cell Cardiol, 2006. **40**(1): p. 16-23.

123. Segers, V. F. M., Bringmans, T. and De Keulenaer, G. W., *Endothelial dysfunction at the cellular level in three dimensions: severity, acuteness, and distribution.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2023. **325**(2): p. H398-h413.

124. Higashi, Y., Kihara, Y. and Noma, K., *Endothelial dysfunction and hypertension in aging.* Hypertens Res, 2012. **35**(11): p. 1039-47.

6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung der zentralen Mechanismen des Ischämie- und Reperfusionsschadens 5
Abb. 2: Schematische Darstellung der Langendorff-Anlage 28
Abb. 3: Versuchsprotokoll zur Präkonditionierung mit Intralipid 33
Abb. 4: Versuchsprotokoll zur Postkonditionierung mit Intralipid 34
Abb. 5: Infarktgrößen der Versuchsreihe zur Präkonditionierung 37
Abb. 6: Hämodynamik der Versuchsreihe zur Präkonditionierung mit Intralipid 39
Abb. 7: Infarktgrößen der Versuchsreihe zur Postkonditionierung mit Intralipid 41
Abb. 8: Hämodynamik der Versuchsreihe zur Postkonditionierung mit Intralipid 43

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Laborgeräte 19
Tabelle 2: Instrumente 20
Tabelle 3: Bestandteile der Langendorff-Anlage 21
Tabelle 4: Software 23
Tabelle 5: Chemikalien 23
Tabelle 6: Gase 24
Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien 25
Tabelle 8: Krebs-Henseleit-Puffer 29
Tabelle 9: K60-Puffer 29
Tabelle 10: Tierdaten der Versuchsreihe zur Präkonditionierung mit Intralipid 40
Tabelle 11: Tierdaten der Versuchsreihe zur Postkonditionierung mit Intralipid 44

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen danken, die zum Gelingen meiner Dissertation beigetragen und mich während der Promotionszeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt PD Dr. Annika Raupach für die ausgezeichnete Betreuung, die kontinuierliche Unterstützung sowie die stets konstruktiven Anregungen und Diskussionen, die wesentlich zum Fortschritt dieser Arbeit beigetragen haben.

Darüber hinaus danke ich Prof. Dr. Dr. André Heinen für die Übernahme der Ko-Betreuung.

Ein weiterer Dank gilt PD Dr. Martin Ströthoff für die verblindete Messung der Infarktgrößen.

Ich danke allen Mitgliedern der experimentellen Anästhesiologie für die hilfsbereite und angenehme Arbeitsatmosphäre. Insbesondere bedanken möchte ich mich bei Lea Sung für die hervorragende Einarbeitung in die Langendorff-Anlage sowie bei Birgitt Berke und Claudia Dohle für die Unterstützung im Laboralltag.

Zuletzt danke ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre stetige Unterstützung und Ermutigung während der Anfertigung dieser Arbeit. Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meiner Schwester, die mich auf meinem Lebensweg stets liebevoll begleiten und mir jederzeit Rückhalt geben.