

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. Norbert Roewer

**Die Rolle des β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweges
in der Anästhetika-induzierten und ischämischen Präkonditionierung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg
vorgelegt von
Christoph-Axel Blomeyer
aus Soest

Würzburg, August 2008

Referent: Prof. Dr. med. Franz Kehl
Koreferent: Prof. Dr. med. Christoph Wanner
Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 27. November 2008

Der Promovend ist Arzt.

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS:

1	Einleitung	1
1.1	Auswirkungen von Ischämie und Reperfusion am Herzen.....	1
1.2	Ischämische Syndrome am Herzen	2
1.3	Der β_1 -adrenerge Signaltransduktionsweg	3
1.4	Kardioprotektion durch Präkonditionierung	4
1.4.1	Ischämische Präkonditionierung	4
1.4.2	Anästhetika-induzierte Präkonditionierung	5
1.4.3	Signaltransduktionsweg der Präkonditionierung	7
1.5	Kardioprotektion durch Betarezeptorantagonisten.....	10
1.6	Vermittlung der Präkonditionierung über den β_1 -Adrenozeptor.....	11
1.7	Fragestellung	12
2	Material und Methoden	14
2.1	Versuchstiere.....	14
2.2	Präparation und Versuchsanordnung	14
2.3	Versuchsprotokoll	16
2.4	Induktion der Myokardischämie	18
2.5	Bestimmung der Infarktgröße	18
2.6	Statistische Auswertung.....	19

3	Ergebnisse	20
	3.1 Hämodynamische Parameter	20
	3.2 Area-at-Risk.....	23
	3.3 Infarktgrößen	23
4	Diskussion	26
5	Zusammenfassung	36
6	Literaturverzeichnis	38

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS:

AAR	Ischämieareal (<i>engl.</i> area at risk)
APC	Anästhetika-induzierte Präkonditionierung (<i>engl.</i> anesthetic-induced preconditioning)
ATP	Adenosintriphosphat
CAO	Koronararterienokklusion (<i>engl.</i> coronary artery occlusion)
CO	Herzzeitvolumen (<i>engl.</i> cardiac output)
DES	Desfluran
ESMO	Esmolol
G-Protein	Guaninnukleotidbindendes Protein
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
IPC	Ischämische Präkonditionierung (<i>engl.</i> ischemic-induced preconditioning)
IS	Herzinfarktgröße (<i>engl.</i> infarct size)
K _{ATP} -Kanäle	ATP-regulierte Kaliumkanäle
LVEDP	Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (<i>engl.</i> left ventricular enddiastolic pressure)
MAC	Minimale alveoläre Konzentration
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck (<i>engl.</i> mean arterial pressure)
NO	Stickstoffmonoxid (<i>engl.</i> nitric oxide)
PKA	Protein Kinase A
PKC	Protein Kinase C
RPP	Produkt aus Herzfrequenz und Blutdruck (<i>engl.</i> rate-pressure-product)
ROS	freie Sauerstoffradikale (<i>engl.</i> reactive oxygen species)
SEVO	Sevofluran
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid

1 EINLEITUNG

Die zunehmende Lebenserwartung und die Veränderungen in der Altersstruktur der Gesellschaft haben im klinischen Alltag dazu geführt, dass vermehrt ältere Patienten mit schweren Begleiterkrankungen behandelt werden müssen. Gerade die operative Behandlung multimorbider Patienten hat in den letzten Jahren stark zugenommen und stellt hohe Ansprüche an die behandelnden Ärzte. Patienten, die an einer koronaren Herzkrankheit (KHK) leiden, stellen diesbezüglich eine besondere Risikogruppe dar. Aufgrund des erhöhten Gefährdungspotentials ist das perioperative anästhesiologische Management hinsichtlich Prävention, Diagnostik und Therapie eventueller Komplikationen anspruchsvoll. Zu den möglichen kardialen Komplikationen gehören ventrikuläre Tachykardien, Myokardinfarkt oder plötzlicher Herztod¹. Um die Inzidenz dieser perioperativen Komplikationen zu senken, werden kardioprotektive Strategien für ein verbessertes Outcome bei kardialen Risikopatienten verfolgt, beispielsweise die perioperative Applikation von kardioselektiven Betarezeptorantagonisten². Eine neue Strategie der perioperativen Kardioprotektion stellt der gezielte Einsatz volatiler Anästhetika dar. Experimentelle Studien an verschiedenen Tierspezies zeigten positive Effekte volatiler Anästhetika im Sinne einer Reduktion der Größe eines Myokardinfarktes nach Ischämie und Reperfusion³⁻⁶. Gegenstand aktueller Forschung ist die Aufklärung der zellulären Mechanismen dieser kardioprotektiven Effekte und ihre klinische Evaluierung.

1.1 Auswirkungen von Ischämie und Reperfusion am Herzen

Der akute Verschluss einer prominenten Koronararterie führt innerhalb kürzester Zeit zu physiologischen und metabolischen Veränderungen. Bereits nach Sekunden erfolgt, aufgrund des lokalen Sauerstoffmangels, die Umstellung von aerober auf anaerobe Glykolyse⁷, um die weitere Versorgung der Zelle mit energiereichen Phosphaten zu gewährleisten. Durch die Anreicherung mit sauren Metaboliten (Laktat, H⁺) sinkt der intrazelluläre pH-Wert innerhalb von 10 Minuten bis auf Werte von 5,8 ab⁸. Infolge der

intrazellulären Akkumulation von osmotisch wirksamen Verbindungen ⁹, zu denen Laktat, Kreatin und nichtorganische Phosphate gehören, strömt extrazelluläres Wasser in die Zelle und erzeugt ein Zellödem. Simultan mit den metabolischen Veränderungen kommt es erst zu einer Abnahme, später zum Sistieren der kardialen Kontraktilität ¹⁰. Die Membranpotentiale der Kardiozyten können nicht mehr aufrechterhalten werden und Veränderungen im Elektrokardiogramm treten auf ¹⁰. Diese initialen Veränderungen während einer Ischämie führen zu reversiblen Zellschädigungen. Hält die Ischämie länger an (Ischämietoleranz ca. 15 Minuten), entstehen irreversible Zellschädigungen ¹⁰. Darüber hinaus kann die Zelle auch nach Beendigung der Ischämie und Wiedereinsetzen der Reperfusion weiter geschädigt werden. Dieser als so genannter Reperfusionsschaden bezeichnete Vorgang kann sich als metabolische und kontraktile Dysfunktion, Arrhythmie, zelluläre Nekrose oder Apoptose manifestieren ¹¹. Als Ursache wird die Bildung großer Mengen freier Sauerstoffradikale (ROS, *engl.* reactive oxygen species) angenommen ¹², die durch Kalziumüberflutung der Mitochondrien und Öffnung der mitochondrialen „permeability-transition“ Poren (MPTP) die Zellapoptose einleiten ¹³. Der verursachte Gewebeschaden resultiert somit aus einem kombinierten Prozess aus Ischämie und Reperfusion. Eine Beeinflussung der Größe des Gewebeschadens ist damit prinzipiell während der Ischämie und während der Reperfusion möglich.

1.2 Ischämische Syndrome am Herzen

Durch die myokardiale Ischämie treten sowohl funktionelle, metabolische als auch strukturelle Veränderungen im Herzen auf, die sich in Abhängigkeit von Dauer und Ausmaß in den vier folgenden Syndromen darstellen:

- Beim Myokardinfarkt handelt es sich um einen irreversiblen Zelluntergang durch eine lang anhaltende Koronarokklusion.
- Stunning („Betäubung“) beschreibt eine vollständig reversible postischämische Dysfunktion.
- Hibernation („Winterschlaf“) ist eine persistierende aber reversible ischämische Kontraktilitätsstörung.

- Präkonditionierung führt zu einer Toleranzerhöhung der Myozyten gegen reversible und irreversible Zellschäden.

Diese vier verschiedenen Syndrome treten nicht nur einzeln auf, sondern können sich auch überlappen ^{14;15}.

1.3 Der β_1 -adrenerge Signaltransduktionsweg

Die sympathoadrenerge Steuerung des Herzens erfolgt vor allem über den am Herzen vorkommenden β_1 -Adrenozeptor. Dieser Rezeptor ist ein aus sieben Transmembrandomänen bestehendes Protein, das an ein heterotrimeres Guanin-Nukleotid-Regulationsprotein, kurz G-Protein, gekoppelt ist (Abbildung 1.1). Dieses aktiviert die membranständige Adenylylzyklase (AC), die die Bildung von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) und Pyrophosphat (PP_i) aus Adenosintriphosphat (ATP) katalysiert. Der „second messenger“ cAMP führt wiederum zur Aktivierung der Proteinkinase A (PKA), einem tetrameren Enzym, das andere Proteine an ihren Serin- und Threoninresten phosphoryliert, beispielsweise L-Typ-Ca²⁺-Kanäle, Phospholamban und Myofilamente ¹⁶. Daraus resultiert eine verstärkte Kalziumaufnahme in die Zelle und in das sarkoplasmatische Retikulum, sowie eine Erhöhung der Kalziumsensitivität der kontraktilen Filamente ¹⁷. Folglich wird vor allem die Kontraktilität gesteigert, ferner auch die Herzfrequenz und die Relaxation der Kardiomyozyten ¹⁸.

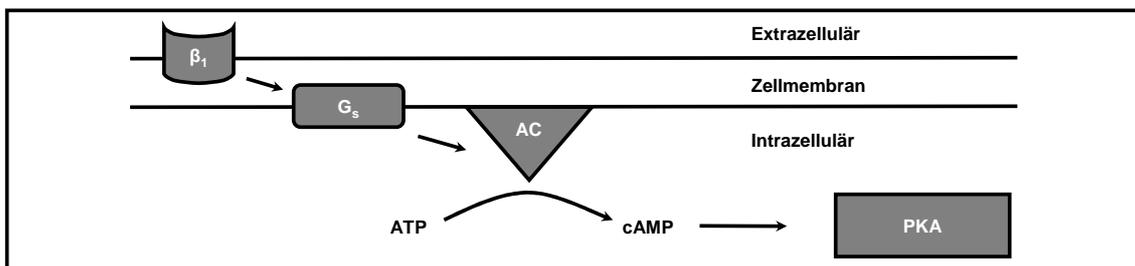


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der Signaltransduktion des β_1 -Adrenozeptors. β_1 = β_1 -Adrenozeptor; G_s =stimulierendes Guanin-Nukleotid-Protein; AC=Adenylylzyklase; ATP=Adenosintriphosphat; cAMP=zyklisches Adenosinmonophosphat; PKA=Proteinkinase A.

1.4 Kardioprotektion durch Präkonditionierung

Vor fast 20 Jahren wurde das Phänomen der ischämischen Präkonditionierung (IPC, *engl.* ischemic preconditioning) am Hundeherzen erstmalig durch eine Arbeit von Murry et al. beschrieben¹⁹. Diese zeigte, dass mehrfache Wechsel zwischen kurzer koronarer Okklusion und Reperfusion vor einer lang anhaltenden Koronarokklusion die Herzinfarktgröße drastisch verringern. Nach heutiger Definition handelt es sich bei der IPC um einen endogenen Schutzmechanismus, der die Ischämietoleranz der Zellen erhöht und somit die Entstehung eines Myokardinfarktes hinauszögern kann²⁰.

1.4.1 Ischämische Präkonditionierung

Die IPC lässt sich in allen bislang untersuchten Spezies und in verschiedenen Organen nachweisen und ist der wirkungsvollste bisher identifizierte Mechanismus zur Kardioprotektion¹⁰.

Experimentelle Studien

Im Originalexperiment (Abbildung 1.2) konnte Murry zeigen, dass vier Episoden bestehend aus jeweils 5 Minuten Ischämie und 5 Minuten Reperfusion vor einer 40-minütigen Ischämie die Herzinfarktgröße um bis zu 75 % verringern können¹⁹. Neben der von Murry beschriebenen frühen Phase der ischämischen Präkonditionierung, die 2 bis 3 Stunden anhält, gibt es auch eine späte Phase, die 24 Stunden später auftritt^{21;22}.

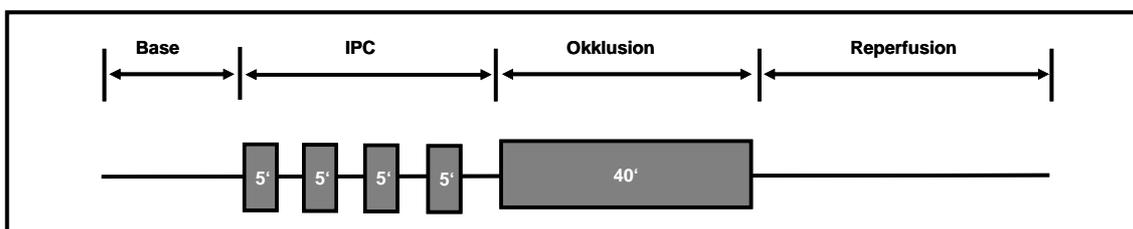


Abbildung 1.2: Ischämische Präkonditionierung. Protokoll des Experiments, das zur erstmaligen Beschreibung des Phänomens der ischämischen Präkonditionierung am Herzen führte. Vier Episoden einer jeweils 5 Minuten langen koronaren Okklusion und Reperfusion vor einer lang anhaltenden Koronarokklusion verringern die Herzinfarktgröße im Tierexperiment um ca. 75 %.

Klinische Studien

Die Ergebnisse klinischer Studien weisen auf einen kardioprotektiven Effekt der ischämischen Präkonditionierung im Menschen hin. Der präkonditionierende Stimulus einer prodromalen Angina pectoris vor einem Vorderwandinfarkt verursacht niedrigere CK-MB-Werte und kleinere Infarktareale ²³. Eine weitere klinische Studie hat gezeigt, dass Patienten mit Präinfarktangina gegenüber symptomlosen Patienten ein geringeres Risiko haben nach einem Infarkt innerhalb von 6 Wochen zu versterben, einen kardiogenen Schock oder eine Herzinsuffizienz zu entwickeln ²⁴. Einen möglichen therapeutischen Einsatz der ischämischen Präkonditionierung stellt die repetitive Balloninsufflation während perkutaner Koronarinterventionen dar, die zu einer verminderten Rate an kardialen Komplikationen während der stationären Behandlung und einer verbesserten 1-Jahres-Überlebensrate führen kann ²⁵. Ein weiteres Einsatzgebiet ist die aortokoronare Bypass-Chirurgie. Präkonditionierende Interventionen verursachten niedrigere postoperative Troponin-T-Werte ²⁶, einen erhöhten myokardialen ATP-Gehalt ²⁷ und eine verminderte Inzidenz ventrikulärer Tachyarrhythmien ²⁸. Insgesamt ist der prophylaktische Einsatz der ischämischen Präkonditionierung am Menschen eingeschränkt, da durch Induktion einer ischämischen Episode bei einem schon minderperfundierten Herzen eine akute Symptom- und Funktionsverschlechterung eintreten kann.

1.4.2 Anästhetika-induzierte Präkonditionierung

Eine der ischämischen Präkonditionierung vergleichbare Kardioprotektion konnte mit verschiedenen Pharmaka erreicht werden, die zum Teil die gleichen zellulären Mechanismen aktivieren. Zu diesen Pharmaka gehören unter anderem Opiode ²⁹, Adenosin-Rezeptor-Agonisten ³⁰, Diazoxid ³¹ und volatile Anästhetika ^{3;32}. Letztere haben ihren festen Stellenwert im anästhesiologischen Alltag und sind chemisch weiterentwickelte ätherartige Substanzen wie zum Beispiel Enfluran, Isofluran, Sevofluran und Desfluran. Es handelt sich hierbei um leicht flüchtige Flüssigkeiten mit Siedepunkt knapp oberhalb der Raumtemperatur. Ihre physikochemischen Eigenschaften unterscheiden sich zum Teil deutlich voneinander. Volatile Anästhetika werden mittels spezieller

Narkosemittelverdampfer (Vaporen) der Atemluft beigemischt und in der Lunge über Diffusion dem Organismus zugeführt.

Experimentelle Studien

Die volatilen Anästhetika Desfluran^{3;33}, Enfluran³⁴, Halothan^{3;34}, Isofluran^{3;4;35-37}, Sevofluran^{38;39} und das Edelgas Xenon⁴⁰ konnten im Tierversuch kardioprotektive Effekte zeigen. Die Anästhetika-induzierte Präkonditionierung (APC) wird hervorgerufen durch die kurzzeitige Applikation eines volatilen Anästhetikums vor einer längeren Ischämie. Als Ursache für die kardioprotektive Wirkung volatiler Anästhetika wurde lange die verbesserte kardiale Sauerstoffbilanz angesehen, die aus einer Reduktion der Nachlast und der Kontraktilität resultiert. Zudem bewirken Inhalationsanästhetika wie Desfluran, Sevofluran, Isofluran und Enfluran eine dosisabhängige koronare Vasodilatation^{41;42}. Da diese Effekte aber nur während der Applikation auftreten, spielen sie für die Anästhetika-induzierte Präkonditionierung vermutlich eine eher untergeordnete Rolle. Genau wie bei der ischämischen Präkonditionierung existiert eine frühe und späte Phase^{43;44}. In-vitro-Versuche an humanem Vorhofmyokard zeigen, dass die Anästhetika-induzierte Präkonditionierung nicht nur beim Menschen nachweisbar ist, sondern auch über ähnliche intrazelluläre Mechanismen wie im Tierexperiment vermittelt wird^{45;46}. In neueren Studien konnte gezeigt werden, dass volatile Anästhetika, die in der frühen Phase der Reperfusion verabreicht werden, ebenfalls die Herzinfarktgröße reduzieren können⁴⁷⁻⁴⁹. Dieses Phänomen wird als Postkonditionierung bezeichnet.

Klinische Studien

Zur Untersuchung der APC in klinischen Studien bieten sich, aufgrund des hohen Standardisierungsgrades, vor allem herzchirurgische Eingriffe an. Folglich beziehen sich die meisten klinischen Studien auf Patienten, die sich einer aortokoronaren Bypassoperation unterzogen haben. Eine In-vivo-Studie in der aortokoronaren Bypass-Chirurgie, bei der während der extrakorporalen Zirkulation 5 Minuten Isofluran appliziert wurde, führte im postoperativen Verlauf

zu einem signifikant niedrigeren Anstieg von Troponin I und CK-MB als Marker für myokardialen Zellschaden ⁵⁰. Eine weitere Studie zeigte für Desfluran- und Sevofluran-anästhesierte Patienten bessere hämodynamische Parameter nach Beendigung der extrakorporalen Zirkulation als für Patienten, die mit Propofol narkotisiert wurden ⁵¹. Eine klinische Studie aus der Arbeitsgruppe um De Hert untersuchte den postoperativen Bedarf kreislaufunterstützender Inotropika sowie die Intensiv- und Krankenhausliegezeiten herzchirurgischer Patienten mit unterschiedlichen Anästhesieverfahren. Demnach haben präkonditionierte Patienten zum einen ein geringeres Risiko für eine längere postoperative kreislaufunterstützende Therapie mit inotropen Substanzen und zum anderen kürzere Liegezeiten verglichen mit nichtpräkonditionierten Kontrollpatienten ⁵². In einer Untersuchung zur Langzeitmortalität nach herzchirurgischen Operationen wurden über einen Zeitraum von 12 Monaten kardiale Komplikationen beobachtet. Die Ergebnisse weisen daraufhin, dass Patienten, die mit Sevofluran präkonditioniert wurden, bis zu einem Jahr postoperativ signifikant weniger kardiale Ereignisse (Myokardinfarkt, instabile Angina pectoris, Arrhythmien) entwickelten als Patienten, die eine rein intravenöse Narkose erhalten hatten ⁵³.

1.4.3 Signaltransduktionsweg der Präkonditionierung

Die Signaltransduktion der IPC und APC erfolgt über mehrere zelluläre Signalkaskaden, die vermutlich auf die gleichen Endeffektoren konvergieren (Abbildung 1.3). Die frühe Phase der Präkonditionierung wird über Adenosin- (A-1, A-3) ^{45;54}, Acetylcholin- (M2), Opioid- ⁵⁵, Bradykinin- ⁵⁶ und α_1 -Rezeptoren ⁵⁷ vermittelt. Diese sarkolemmalen Rezeptoren sind zum Teil an inhibitorische Guanin-Nukleotid-Regulationsproteine (G-Proteine) gekoppelt ⁵⁸, die Phospholipase C und D aktivieren. Diese Enzyme führen zur Bildung von Inositoltriphosphat (IP₃) und Diacylglycerol (DAG) ⁵⁹. Während IP₃ Kalzium aus dem endoplasmatischen Retikulum freisetzt, aktiviert DAG verschiedene Isoformen der Proteinkinase C (PKC) ⁵⁹. Auch Stickstoffmonoxid (NO) ⁶⁰ und freie Sauerstoffradikale (ROS) ⁶¹ sind in der Lage die PKC zu aktivieren. Vermutlich wird die aktivierte PKC ins Sarkolemm und in die

Mitochondrienmembran transloziert ^{61;62}. Die Translokation der PKC ist wahrscheinlich eine wichtige Voraussetzung für die Präkonditionierung, da eine Inhibition der PKC-Translokation mit Colchicin zu einer Blockierung der APC führt ⁶³. Eine weitere wichtige Voraussetzung für die Präkonditionierung ist die Bildung einer geringen Menge ROS, da ein Abfangen der ROS mittels Radikalfänger die APC ebenfalls blockiert ⁶⁴⁻⁶⁶. Vermutlich werden die ROS durch Beeinflussung der Elektronentransportkette am Komplex III gebildet ⁶⁷. Einen wichtigen Schritt im Signaltransduktionsweg der Präkonditionierung stellt auch die Aktivierung mitochondrialer und sarkolemmaler ATP-regulierter Kaliumkanäle dar ⁶⁸. Vor allem die mitochondrialen ATP-regulierten Kaliumkanäle scheinen eine wichtige Rolle in der Vermittlung der IPC und APC zu spielen ⁶⁹. In geöffnetem Zustand wirken sie der während eines Ischämie-Reperfusion-Ereignisses auftretenden zytosolischen und mitochondrialen Kalziumerhöhung entgegen und verbessern die myokardiale Sauerstoffeffizienz ⁷⁰⁻⁷². Ferner kommt es zu einer Aktivitätsabnahme der Atmungskette mit NADH-Zunahme ^{73;74}, einer Optimierung der mitochondrialen Energieproduktion ⁵⁹, sowie einer Modulation der mitochondrialen Energie- und Kalziumhomöostase und einer Einsparung an ATP ⁷⁵. Die Öffnung der mitochondrialen Kaliumkanäle kann zum einen durch ROS getriggert werden, zum anderen führt auch die Aktivierung der mitochondrialen Kaliumkanäle zur Bildung von ROS. Die Beziehung zwischen ROS-Bildung und Aktivierung der mitochondrialen Kaliumkanäle ist jedoch noch nicht abschließend geklärt. Sowohl die ROS-Bildung als auch die Öffnung der K_{ATP} -Kanäle sind zwei essentielle Voraussetzungen für das Zustandekommen der APC ^{32;65;68}. Neben der bereits erwähnten Beteiligung der PKC konnten neuere Untersuchungen zum Signaltransduktionsweg der APC und IPC die Mitwirkung weiterer Kinasen wie der Protein-Tyrosin-Kinase (PTK), der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) oder der mitogen-aktivierten Protein-Kinase (MAPK) zeigen ^{61;76-78}. Für die Vermittlung der Präkonditionierung hat auch die verzögerte Öffnung der mitochondrialen „permeability-transition“ Poren (MPTP) eine besondere Relevanz ⁷⁹. Der während und nach einer längeren Ischämie auftretende intrazelluläre Kalziumanstieg führt zur Öffnung der MPTP und möglicherweise

zum Zelltod⁸⁰. Die verzögerte Öffnung der MPTP infolge APC oder IPC wird vermutlich teilweise über die mitochondrialen Kaliumkanäle vermittelt, da eine selektive Blockade der mitochondrialen Kaliumkanäle mit 5-Hydroxydecanoat (5-HD) dieses Phänomen unterdrückt⁷⁹.

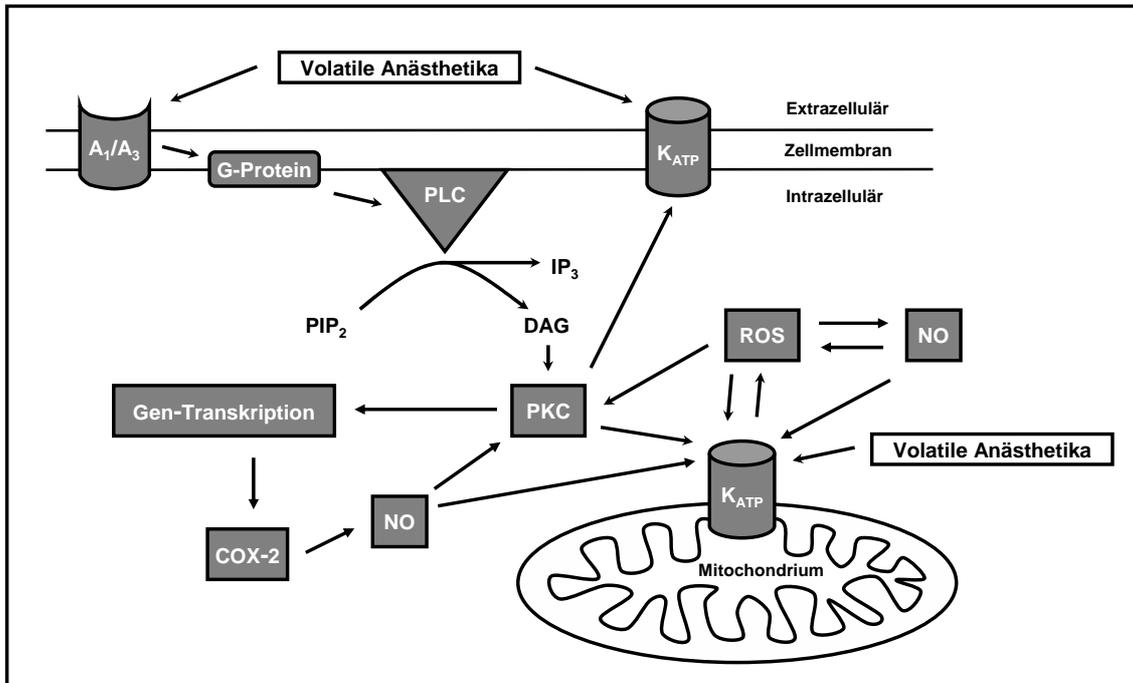


Abbildung 1.3: Schematische Darstellung der Signaltransduktion durch volatile Anästhetika. Volatile Anästhetika aktivieren endogene Schutzmechanismen über die Aktivierung von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und von ATP-regulierten Kaliumkanälen. A₁/A₃=Adenosinrezeptor; G-Protein=Guaninnukleotidbindendes Protein; K_{ATP}=ATP-regulierte Kaliumkanäle; PLC=Phospholipase C; PIP₂=Phosphoinositoldiphosphat; IP₃=Inositoltriphosphat; DAG=Diacylglycerol; PKC=Protein-Kinase C; ROS=freie Sauerstoffradikale, NO=Stickstoffmonoxid, COX-2= Cyclooxygenase 2.

Auch die Signaltransduktion der späten Phase der Präkonditionierung bedient sich der Aktivierung verschiedener Signalkaskaden, einerseits durch Kinasen (PKC, Protein-Tyrosin-Kinase, mitogen-aktivierte Proteinkinase, extrazellulär-regulierte Proteinkinase), andererseits durch Transkriptionsfaktoren (NFκB, AP-1)⁸¹. Die Aktivierung dieser Kaskaden mündet vermutlich in der Neusynthese von Proteinen wie beispielsweise der induzierbaren NO-Synthase (iNOS), der Cyclooxygenase-2 (COX-2) sowie diverser Hitzeschock- und Antiapoptoseproteine⁸¹.

1.5 Kardioprotektion durch Betarezeptorantagonisten

Betablocker werden im klinischen Alltag als Antihypertensiva, Antianginosa und Antiarrhythmika eingesetzt. In der klinischen Therapie des Myokardinfarktes haben Betablocker ihre Wirksamkeit durch Senkung von Morbidität und Mortalität bewiesen und sind fester Bestandteil des Behandlungsregimes^{82;83}. In verschiedenen Studien konnte durch eine prophylaktische perioperative Betablockertherapie die Häufigkeit kardialer Ischämien reduziert und die Überlebensrate koronarer Risikopatienten verbessert werden^{84;85}. 200 Patienten mit Risikofaktoren für eine koronare Herzkrankheit (KHK), die sich einem elektiven nichtherzchirurgischen Eingriff unterzogen, erhielten in einer randomisierten kontrollierten Studie den Betablocker Atenolol vor und nach dem Eingriff sowie während ihres Krankenhausaufenthaltes. Während sich die Krankenhaus-Mortalität nicht unterschied, betrug die 2-Jahres-Mortalität in der Kontrollgruppe 21%, in der Verumgruppe 9%². Sogar die einmalige perioperative Applikation eines Betablockers kann die Inzidenz perioperativer Myokardischämien reduzieren⁸⁶. Für gefäßchirurgische Hochrisikopatienten mit präoperativem kardialen Ischämienachweis zählt die perioperative Betablockergabe zu den Klasse-I-Empfehlungen der American Heart Association (AHA) und des American College of Cardiologists (ACC)⁸⁷. Allerdings zeigen neuere Untersuchungen, dass Patienten mit einem niedrigen kardialen Risiko möglicherweise von einer perioperativen Betablockade nicht profitieren^{88;89}. Eine große Multi-Center-Studie (POISE-trial) liefert erste Hinweise, dass der temporäre perioperative Einsatz eines kardi selektiven Betablockers bei kardialen Risikopatienten (KHK, Herzinsuffizienz) vermehrt zu nichtkardialen Komplikationen führen kann⁹⁰. In dieser Studie erhielten die Patienten der Verumgruppe vor und nach einer nichtherzchirurgischen Operation den kardi selektiven Betablocker Metoprolol, während in der Kontrollgruppe ein Placebo verabreicht wurde. Der Einsatz des Betablockers in der Verumgruppe reduzierte zwar die Inzidenz für postoperative myokardiale Ereignisse, verursachte jedoch einen Anstieg der Inzidenz für postoperative Schlaganfälle und eine Zunahme der Mortalität. Diese auffälligen Beobachtungen könnten in Zukunft zu einem restriktiveren Einsatz

kardioselektiver Betablocker im perioperativen Management kardialer Risikopatienten führen und müssen durch weitere Studien evaluiert werden.

In einer tierexperimentellen Studie am Kaninchen konnte gezeigt werden, dass Metoprolol, welches erst während der Reperfusionphase verabreicht wurde, die Herzinfarktgröße signifikant reduzierte⁹¹. Betablocker zeigen hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften und ihrer Rezeptorspezifität große Unterschiede, beispielsweise wirken die kardioselektiven Betablocker vor allem über die Bindung am β_1 -Rezeptor. Die kardioprotektive Wirkung der Betablocker wird auf die positive Beeinflussung der kardialen Sauerstoffbilanz zurückgeführt. Diese hängt einerseits vom Sauerstoffverbrauch ab, bestimmt durch Herzfrequenz, Wandspannung und Kontraktionskraft, andererseits vom Sauerstoffangebot, bestimmt durch die Koronardurchblutung. Betablocker verursachen durch ihre antagonistische Aktivität am β_1 -Rezeptor des Herzens eine Reduktion des Sauerstoffverbrauchs infolge einer Abnahme von Herzfrequenz und Kontraktionskraft sowie durch eine verlängerte Diastole eine Zunahme des Sauerstoffangebots.

1.6 Vermittlung der Präkonditionierung über den β_1 -Adrenozeptor

Eine Beteiligung des β_1 -Adrenozeptors am kardioprotektiven Phänomen der Präkonditionierung ist bisher nur unvollständig untersucht. Die kurzzeitige Applikation von Isoproterenol, einem reinen Betarezeptoragonisten, im isolierten perfundierten Rattenherzen vor einer 40-minütigen Ischämie bewirkt eine im Vergleich mit der Kontrollgruppe deutlich verbesserte Erholung der linksventrikulären Funktion und eine erheblich reduzierte Freisetzung der Kreatinkinase während der 30-minütigen Reperfusionphase⁹². Durch die Applikation von Rezeptorantagonisten, die die verschiedenen Subtypen der Betarezeptoren selektiv blockieren, lässt sich eine Vermittlung des kardioprotektiven Effektes über β_1 -Adrenozeptoren zeigen⁹². Werden β -Adrenozeptoren während der ischämischen Präkonditionierung blockiert, ist die postischämische Erholung der linksventrikulären Funktion gegenüber der Kontrollgruppe, die nur eine ischämische Präkonditionierung erhielt, reduziert⁹³. Hinsichtlich der Beteiligung von β -Adrenozeptoren an der Anästhetika-

induzierten Präkonditionierung existieren nur wenige und zum Teil widersprüchliche Resultate. Menschliches Vorhofmyokard, das mit Desfluran präkonditioniert wurde, zeigt postischämisch eine bessere isometrische Kontraktion als nicht-präkonditioniertes Myokard. Dieser Effekt lässt sich durch die Applikation von Propranolol, einem unselektiven Betarezeptorantagonisten, vor der Desflurangabe blockieren ⁴⁶. In einer weiteren Untersuchung wurde gezeigt, dass sich die Überlebensrate isolierter, ventrikulärer Myozyten von Ratten nach einer Ischämie durch Vorbehandlung mit Sevofluran verbessert. Durch die Applikation von Propranolol vor der Sevoflurangabe wird dieser protektive Effekt nicht aufgehoben ⁹⁴.

1.7 Fragestellung

In den vergangenen Jahren wurden viele In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen zum Signaltransduktionsweg der APC und IPC durchgeführt, die eine Vermittlung der Präkonditionierung über verschiedene, intrazelluläre Signalsysteme (PKC, NO, ROS, Kaliumkanäle) zeigen konnten ^{62;66;68;95}. Ähnlich der APC und IPC scheint auch eine Präkonditionierung durch Stimulation von β -adrenergen Rezeptoren möglich, die in ihrer Wirksamkeit der IPC und APC vergleichbar ist und vermutlich über β_1 -Rezeptoren vermittelt wird ⁹². Beobachtungen aus bisherigen In-vitro-Untersuchungen weisen sogar auf eine wahrscheinliche Beteiligung der β -adrenergen Signalkaskade am Phänomen der IPC und APC hin ^{46;93}. Die Beteiligung der jeweiligen Betarezeptorsubtypen und ihrer nachgeschalteten Signalkaskaden ist dabei noch weitgehend ungeklärt.

Deshalb wurde der vorliegenden Arbeit die Hypothese zugrunde gelegt, dass die selektive Blockade des β_1 -Adrenozeptors und der nachgeschalteten Proteinkinase A zum einen die APC, hervorgerufen durch die volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran, und zum anderen die IPC im In-vivo-Herzinfarktmodell des Kaninchens inhibiert.

Zur Prüfung der Hypothese wurde das etablierte In-vivo-Modell am Kaninchenherzen verwendet, mit dem die hämodynamischen Parameter und die Herzinfarktgröße bestimmt werden können. Zur Induktion der ischämischen Präkonditionierung wurde das Herz mit einer einmaligen 5-minütigen Koronararterienokklusion stimuliert. Dieser einmalige ischämische Stimulus ist ausreichend, um die kardioprotektiven Effekte der IPC zu entfalten⁹⁶. Die Anästhetika-induzierte Präkonditionierung wurde mit den beiden volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran herbeigeführt, die ihre Wirksamkeit hinsichtlich der Reduktion der Herzinfarktgröße in verschiedenen Tierspezies bereits gezeigt haben^{3;6;39}. Sevofluran und Desfluran besitzen einen besonders niedrigen Blut-Gas-Verteilungskoeffizienten und können rasch an- und abfluten, was die Ein- und Ausleitungszeit der Narkose stark verkürzt⁹⁷.

Zur selektiven Blockierung des β_1 -Adrenozeptors wurde der kardioselektive und ultrakurzwirksame Betablocker Esmolol appliziert, dessen Halbwertszeit 9 Minuten beträgt⁹⁸. Klinisch wird Esmolol vor allem zur Behandlung der intraoperativen Tachykardie und Hypertension eingesetzt, wobei als wichtige Nebenwirkungen Bradykardien und Hypotensionen auftreten können. Dass die Affinität von Esmolol für β_1 -Adrenozeptoren um ein vielfaches höher ist als für β_2 -Adrenozeptoren, konnte bereits in mehreren Studien gezeigt werden⁹⁹.

Zur selektiven Blockierung der Proteinkinase A wurde der PKA-Inhibitor H-89 verwendet, um die nachgeschaltete Signalkaskade des β_1 -Adrenozeptors auf intrazellulärer Ebene zu blockieren¹⁰⁰. H-89 ist ein Isoquinolinsulfonamid-Derivat, das seit Anfang der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts in vielen experimentellen Studien zur Inhibition der PKA eingesetzt wird¹⁰¹.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Die Tierversuchsgenehmigung wurde zuvor von der zuständigen Behörde der Regierung Unterfrankens erteilt. Die experimentellen Untersuchungen wurden an 15 bis 20 Wochen alten, 2 bis 4 kg schweren, männlichen, weißen Neuseeland-Kaninchen (Charles River[®], Sulzfeld, BRD) durchgeführt. Zur Akklimatisation blieben die Versuchstiere nach dem Transport für mindestens eine Woche bei normalem Tag-Nacht-Rhythmus im Tierstall des Universitätsklinikums. Jeweils zwei Tiere teilten sich eine Doppelbox und hatten vor Versuchsbeginn Zugang zu Wasser und Trockenfutter ad libitum.

2.2 Präparation und Versuchsanordnung

Im Rahmen der Narkosevorbereitung erhielten die Versuchstiere nach örtlicher Betäubung mit einem Oberflächenanästhetikum (EMLA[®]-Creme, AstraZeneca, Wedel, BRD), einer Mischung aus 2,5%igem Lidocain und 2,5%igem Prilocain, eine intravenöse 24G-Verweilkanüle (Optiva[®], Medex Medical Ltd. Haslingden, Rossendale, GB) in eine marginale Ohrvene. Nach Prüfung des intravenösen Zugangs wurde die Narkose mit einer Bolusapplikation von 40 mg Pentobarbital (Narcoren[®], Rhone Merieux GmbH, Laupheim, BRD) eingeleitet. Anschließend wurden die Tiere auf den vorgewärmten Kleintier-Operationstisch (FMI Föhr Medical Instruments GmbH, Seeheim, BRD) gelegt und eine kontinuierliche intravenöse Narkose mit Pentobarbital (30 mg/kg KG/h) gestartet. Die Anästhesietiefe wurde in regelmäßigen Abständen durch Überprüfung des Palpebral- und des Fusswegzieh-Reflexes der Hinterpfote auf Druckreiz der Zehe überprüft. Die Kaninchen wurden tracheotomiert und mit einem Gemisch aus Luft und Sauerstoff ($FiO_2 = 0,33$) volumenkontrolliert beatmet (Cicero EM[®], Firma Dräger, Lübeck, BRD). Initial wurde eine Atemfrequenz von 20 bis 30/min und ein Tidalvolumen von etwa 20 bis 30 ml vorgegeben. Die Beatmungsparameter wurden anhand von arteriellen Blutgasanalysen (Blutgasanalysator ABL 505, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) individuell eingestellt, um physiologische Werte für pH, Sauerstoff und Kohlendioxid

einzuhalten. Die Überwachung der inspiratorischen und expiratorischen Partialdrücke für Kohlendioxid, Sauerstoff und der applizierten volatilen Anästhetika erfolgte kontinuierlich. Nach Präparation der Arteria carotis communis dextra wurde ein mit 0,9%iger Kochsalzlösung gefüllter Polyethylenkatheter (PE 50, Fine Bore Polyethylene Tubing, Sims, Portex, UK) in den linken Ventrikel eingebracht. Anhand der ventikeltypischen Druckkurve ließ sich die korrekte Lage verifizieren. Anschließend erfolgte die Präparation der Arteria femoralis dextra, über die ein Druckmesskatheter (Micro-Tip Catheter, Millar Instruments Inc., Houston, Texas, USA) in die Aorta abdominalis eingeführt wurde. Nach Thorakotomie im 4. Interkostalraum und Perikardiotomie wurde zunächst eine Ultraschallmesssonde (Transonic® Flowprobe, Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) zur kontinuierlichen Bestimmung des Herzzeitvolumens (HZV) um die Arteria pulmonalis platziert. Anschließend erfolgte die Darstellung eines prominenten Astes der linken Koronararterie. Dieser wurde mit chirurgischem Nahtmaterial (2-0 Seide) in Höhe der Hälfte des Abstandes zwischen Herzbasis und Herzspitze umschlungen. Über die Fadenenden wurde ein kurzes Kunststoffröhrchen gezogen und mit einer Klemme an den Enden gesichert. Die Tiere erhielten eine rektale Temperaturmesssonde, die die Körperkerntemperatur ermittelte. Über einen Regelkreis, der mit dem beheizten Operationstisch verbunden war, wurde die Körperkerntemperatur auf physiologischem Niveau ($38,5^\circ \pm 0,5^\circ \text{C}$) gehalten¹⁰². Die Aufrechterhaltung der intraoperativen Flüssigkeitshomöostase erfolgte durch die kontinuierliche Infusion 0,9%iger Kochsalzlösung (15 ml/kg/h). Die Herzströme wurden mit Hilfe eines 3-poligen Oberflächen-Elektrokardiogramms aufgezeichnet. Die Hämodynamikparameter Herzzeitvolumen, Herzfrequenz, aortaler und linksventrikulärer Blutdruck wurden kontinuierlich mittels des Computerprogramms NOTOCORD-hem-3.5 (NOTOCORD SYSTEMS S.A., Croissy sur Seine, Frankreich) aufgezeichnet. Die Auswertung der erstellten Hämodynamikdateien erfolgte mit Microsoft® Office Excel 2002 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA), und beinhaltete die Berechnung der Kontraktionskraft ($+dP/dt_{\text{max}}$) und des Produktes

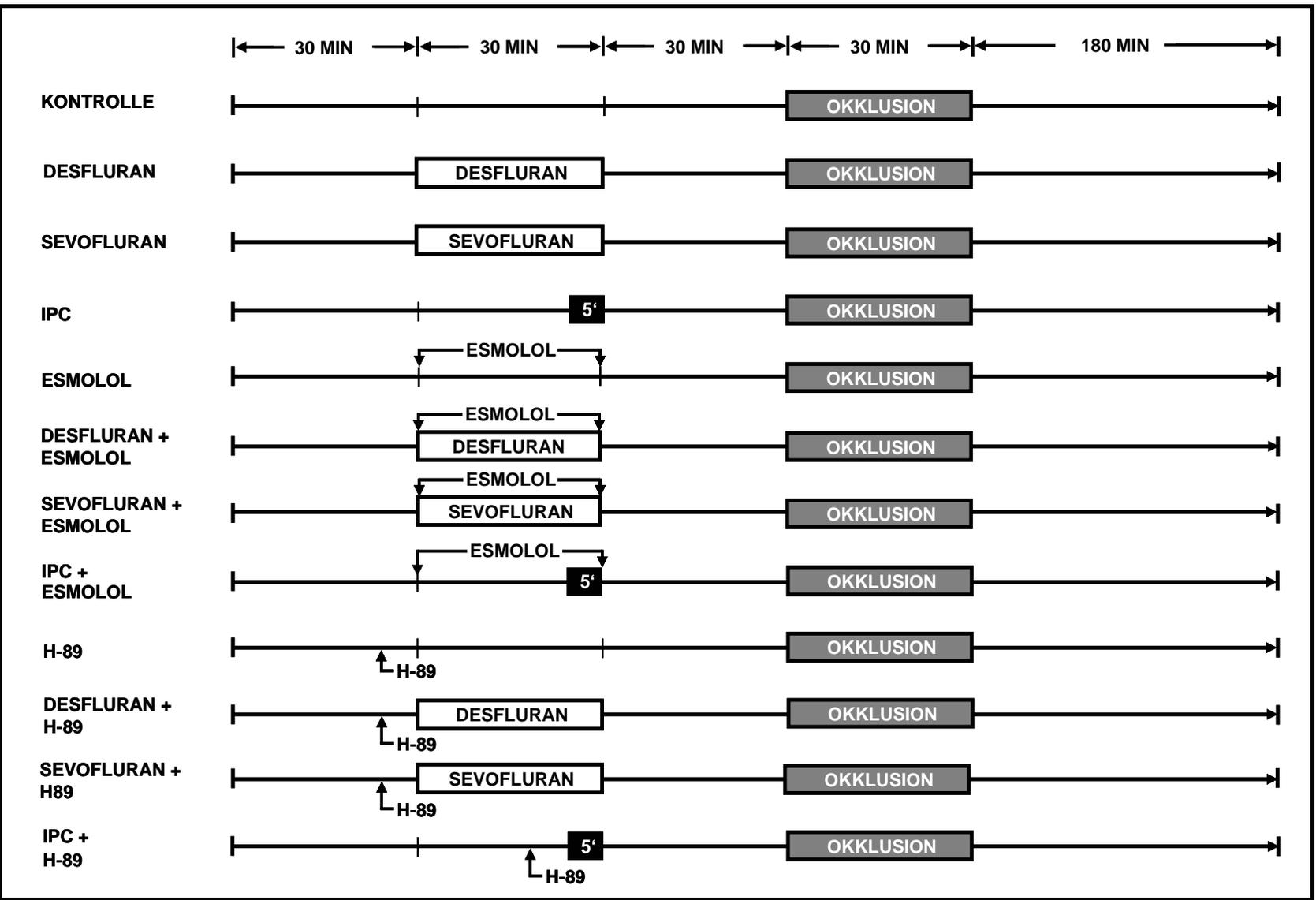
aus Herzfrequenz und Blutdruck (RPP). Das RPP gilt als ein indirekter Parameter für den myokardialen Sauerstoffverbrauch.

Um die Einflüsse auf die Herzinfarktgröße zu minimieren, erhielten die Versuchstiere nur die im Versuchsprotokoll vorgesehenen Substanzen. Auf die Gabe von Medikamenten zur Prämedikation wurde verzichtet.

2.3 Versuchsprotokoll

Die Versuchstiere wurden randomisiert 12 Versuchsgruppen zugeteilt. Vor Beginn des Versuchsprotokolls wurde eine 30-minütige Äquilibrations-Phase eingehalten (Abbildung 2.1). Danach erhielten sechs Gruppen in einer weiteren 30-minütigen Phase entweder 0,9%-NaCl-Lösung (CON), die volatilen Anästhetika Desfluran (DES) oder Sevofluran (SEV), eine 5-minütige Koronararterienokklusion (IPC) zum Ende der 30-minütigen Interventionsphase, den ultrakurzwirksamen und selektiven β_1 -adrenergen Blocker Esmolol (ESMO) oder den selektiven Proteinkinase-A-Inhibitor H-89 (H-89). In sechs weiteren Gruppen wurden jeweils Desfluran, Sevofluran oder IPC mit Esmolol (DES/ESMO, SEVO/ESMO, IPC/ESMO) oder H-89 (DES/H-89, SEVO/H-89, IPC/H-89) kombiniert verabreicht. Die volatilen Anästhetika Desfluran (Suprane[®], Baxter Deutschland GmbH, München, BRD) und Sevofluran (Sevorane[®], Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, BRD) wurden mit einer minimalen alveolären Konzentration (MAC) von 1 (entsprechend 8,9 Vol.%¹⁰³ bzw. 3,7 Vol.%¹⁰⁴) eingesetzt. Der selektive Proteinkinase-A-Inhibitor H-89 (Axxora Deutschland GmbH, Grünberg, BRD) wurde 35 Minuten vor der Koronararterienokklusion (CAO) in einer Dosierung von 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ über den Ventrikelkatheter direkt in den linken Ventrikel injiziert. Esmolol (Brevibloc[®], Baxter Deutschland GmbH, München, BRD) wurde über 30 Minuten intravenös (30 mg/kg/h) appliziert. Im Anschluss an die Intervention folgte eine 30-minütige Memory-Phase (Auswaschphase) in der das volatile Anästhetikum abflutete. Anschließend erfolgte eine 30-minütige Koronararterienokklusion (CAO) mit nachfolgender 180-minütiger Reperfusion.

Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des Versuchsprotokolls. Desfluran und Sevofluran wurden mit 1 MAC, Esmolol mit 30 mg/kg/h und H-89 mit 250 µg/kg appliziert.



2.4 Induktion der Myokardischämie

Vor Beginn der Okklusionsphase wurden die Kaninchen zur Prophylaxe eines No-Reflow-Phänomens durch einen Heparinbolus (1000 I.E.) antikoaguliert. Die CAO erfolgte durch Zuziehen der Ligatur, dabei wurde das Kunststoffröhrchen langsam in Richtung Herz vorgeschoben und mit der Klemme fixiert. Durch ST-Streckenveränderungen im EKG und regionales Abblassen des Myokards wurde die CAO verifiziert. Durch Lösen der fixierenden Klemme und Zurückziehen des Kunststoffröhrchens wurde die CAO wieder beendet. Eine Überprüfung der einsetzenden Reperfusion erfolgte anhand rückläufiger ST-Strecken-Veränderungen, ferner war eine epikardiale Hyperämie zu beobachten. Bestanden hämodynamisch wirksame Herzrhythmusstörungen länger als 45 Sekunden, wurde eine Herz-Druck-Massage durchgeführt. Anhaltende Herzrhythmusstörungen oder linksventrikuläres Pumpversagen führten zum Studienauschluss.

2.5 Bestimmung der Infarktgröße

Nach Ablauf der 3-stündigen Reperusionsphase wurde erneut die Ligatur um die Koronararterie zugezogen und mit einer Klemme fixiert. Anschließend erfolgte die intravenöse Injektion von 2 ml Patent Blau (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, BRD) mit einer Konzentration von 0,1 g/ml. Somit wurden die nicht-ischämischen Myokardareale eingefärbt, während die ischämischen Areale („Area-at-risk“) ausgespart blieben. Vor Entnahme des Herzens erhielt das Kaninchen eine letale Dosis Pentobarbital. Nach Eintritt des Todes erfolgte die Entnahme des Herzens und die Separation des linken Ventrikels vom restlichen Herzmuskel. Anschließend wurde der linke Ventrikel (LV) von der Herzbasis zur Herzspitze in fünf runde Scheiben geschnitten und die nicht-ischämischen (blau) von den ischämischen Arealen (rot) separiert. Die beiden Fraktionen wurden nach der TTC-Färbemethode mit 1%iger 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung (TTC, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, BRD) für 20 Minuten bei 37° C gefärbt ¹⁰⁵, hierdurch erfolgte die Unterteilung des ischämischen Areals in infarziertes und nicht-infarziertes Myokard. Die 1%ige TTC-Lösung wurde mittels 100 mg 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid, 4ml

Kaliumdihydrogenphosphatpuffer (pH 7,4) und 36 ml Aqua destillata hergestellt. Nach Ablauf von 20 Minuten wurde das Herzmuskelgewebe für 24 Stunden in 3,5%ige Formaldehydlösung (Otto Fischar GmbH & Co. KG, Saarbrücken, BRD) gegeben. Danach erfolgte die gravimetrische Auswertung. Dazu wurde mithilfe eines Stereomikroskops (Leica MS5, Leica Mikroskopie Systeme AG, Heerbrugg, CH) das Ischämieareal (AAR) in nicht-infarziertes und infarziertes Myokard aufgetrennt und zusammen mit dem nicht-ischämischen Myokard gewogen (Sartorius R 180 D, Sartorius GmbH, Göttingen, Deutschland). Die Herzinfarktgröße wurde als Prozentwert der ischämischen Zone ermittelt.

2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse der Daten innerhalb und zwischen den Versuchsgruppen erfolgte durch Varianzanalyse mittels ANOVA für wiederholte Messungen und post-hoc Duncan's Test (StatMost 3.6 für Windows, Dataxiom Software Inc., Los Angeles, USA). Unterschiede der Daten im Vergleich mit Kontrollwerten oder im Vergleich mit Werten experimenteller Gruppen wurden als signifikant angesehen, wenn $p < 0,05$ war. Alle Werte wurden als arithmetischer Mittelwert mit Standardfehler angegeben (Mittelwert \pm SEM).

3 ERGEBNISSE

Für die Untersuchungen zur Beteiligung des β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweges in der Anästhetika-induzierten und ischämischen Präkonditionierung wurden insgesamt 96 Versuchstiere präpariert, von denen 82 vollständig ausgewertet wurden. Sechs Tiere mussten wegen rezidivierendem Kammerflimmern (2x CON, 1x DES, 1x SEVO/ESMO, 2x DES/H-89) weitere sechs wegen linksventrikulärem Pumpversagen (1x DES, 1x DES/ESMO, 1x SEVO/ESMO, 1x H-89, 2x DES/H-89) und weitere zwei wegen einer linksventrikulären AAR $< 10\%$ des linksventrikulären Myokards (1x DES/ESMO, 1x DES/H-89) aus der Wertung genommen werden. Die gewerteten 82 Versuchstiere verteilten sich wie folgt: Die Versuchsgruppen Kontrolle (CON), Desfluran (DES), IPC (IPC), Esmolol (ESMO) und Esmolol kombiniert mit Desfluran (DES/ESMO), Sevofluran (SEVO/ESMO) oder IPC (IPC/ESMO) hatten jeweils eine Gruppengröße von 8 Versuchstieren. Die Gruppe Sevofluran (SEVO) beinhaltete nur 7 Versuchstiere. Die zusätzliche Versuchsreihe mit dem Proteinkinase-A-Inhibitor H-89 umfasste die Gruppe H-89 (H-89) mit 4 Versuchstieren, sowie die Kombinationsgruppen Desfluran und H-89 (DES/H-89), Sevofluran und H-89 (SEVO/H-89), IPC und H-89 (IPC/H-89) mit jeweils 5 Versuchstieren.

3.1 Hämodynamische Parameter

Während der Äquilibrierungs-Phasen bestanden keine Unterschiede in der Hämodynamik zwischen den Versuchsgruppen (Tabelle 3.1). Während die ischämische Präkonditionierung (IPC) keinen Effekt auf die Hämodynamikparameter hatte, reduzierten Desfluran und Sevofluran signifikant den mittleren arteriellen Druck (MAP) und das Produkt aus Herzfrequenz und Blutdruck (RPP) sowie die Kontraktionskraft ($+dP/dt_{max}$). Esmolol verringerte signifikant die Herzfrequenz (HF) und das RPP. Sowohl MAP als auch $+dP/dt_{max}$ wurden durch kombinierte Verabreichung von Esmolol und Desfluran oder Sevofluran signifikant verringert. Herzzeitvolumen (CO) und linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP) blieben in allen Gruppen im zeitlichen Verlauf des Versuchprotokolls konstant. Während der 30-minütigen

Memory-Phase erreichten die hämodynamischen Parameter aller Gruppen wieder die Ausgangswerte der Äquilibrationsphase. Die hämodynamischen Parameter der Gruppen, die den Proteinkinase-A-Inhibitor H-89 erhielten, unterschieden sich nicht signifikant von den Gruppen ohne H-89.

Tabelle 3.1: Hämodynamische Parameter

HF	Base	Intervention	Memory	CAO	Rep 1h	Rep 2h	Rep 3h
(1/min)							
CON	251 ± 9	252 ± 9	254 ± 9	248 ± 10	237 ± 11	231 ± 8	224 ± 7
DES	268 ± 9	246 ± 9	262 ± 9	249 ± 13	240 ± 12	223 ± 8*	212 ± 8*
SEVO	261 ± 9	242 ± 13	259 ± 7	264 ± 6	247 ± 3	231 ± 5	223 ± 5*
IPC	262 ± 8	270 ± 8	267 ± 8	263 ± 7	252 ± 6	247 ± 7	246 ± 8
ESMO	260 ± 13	210 ± 8*†	266 ± 8	276 ± 7	267 ± 8	260 ± 9	250 ± 8
DES/ESMO	264 ± 10	202 ± 6*†	260 ± 10	259 ± 10	247 ± 10	235 ± 10	230 ± 8*
SEVO/ESMO	251 ± 6	194 ± 6*†	243 ± 7	249 ± 8	240 ± 7	236 ± 7	228 ± 7
IPC/ESMO	265 ± 9	221 ± 6*†	260 ± 8	260 ± 9	251 ± 14	244 ± 12	239 ± 9
MAP							
(mmHg)							
CON	72 ± 5	70 ± 5	71 ± 5	65 ± 5	61 ± 5	57 ± 6	55 ± 5*
DES	88 ± 6	48 ± 5*†	75 ± 9	68 ± 9*	72 ± 7†	67 ± 6*	66 ± 9*†
SEVO	76 ± 3	46 ± 5*†	69 ± 2	67 ± 4	67 ± 4	66 ± 3	62 ± 3
IPC	74 ± 3	73 ± 4	72 ± 2	69 ± 2	67 ± 4	65 ± 3	62 ± 3
ESMO	78 ± 5	65 ± 4	68 ± 6	71 ± 4	69 ± 5	66 ± 4	62 ± 3
DES/ESMO	78 ± 7	38 ± 5*†	65 ± 5	66 ± 5	70 ± 5	70 ± 4	62 ± 7
SEVO/ESMO	85 ± 4	37 ± 3*†	69 ± 4	66 ± 4*	68 ± 4*	66 ± 4*	64 ± 4*
IPC/ESMO	77 ± 5	53 ± 5*†	62 ± 5	62 ± 4	57 ± 5*	56 ± 5*	53 ± 4*
RPP							
(HF•MAP•0,001)							
CON	17,2 ± 2,0	17,8 ± 2,0	17,5 ± 2,0	14,9 ± 1,8	13,1 ± 1,6	12,2 ± 1,6	11,1 ± 1,5*
DES	22,9 ± 2,0	12,0 ± 1,7*†	19,6 ± 2,6	16,9 ± 2,6*	17,4 ± 2,3*	15,0 ± 1,3*	13,8 ± 1,6*
SEVO	19,9 ± 0,9	11,4 ± 1,6*†	17,9 ± 0,7	17,6 ± 1,0	16,6 ± 0,9	15,2 ± 0,8	13,8 ± 0,6*
IPC	19,5 ± 1,2	19,8 ± 1,4	19,2 ± 1,1	18,3 ± 0,8	17,0 ± 1,2	16,1 ± 1,2	15,5 ± 1,3
ESMO	20,2 ± 2,3	13,7 ± 1,3*	18,3 ± 2,0	19,7 ± 1,6	18,6 ± 1,9	17,1 ± 1,6	15,4 ± 0,9
DES/ESMO	20,8 ± 2,1	7,8 ± 1,0*†	17,1 ± 1,7	17,3 ± 1,6	17,1 ± 0,7	16,3 ± 0,9	14,3 ± 1,8*
SEVO/ESMO	21,3 ± 1,2	7,2 ± 0,7*†	16,7 ± 1,3	16,3 ± 1,3*	16,2 ± 1,3*	15,6 ± 1,2*	14,7 ± 1,4*
IPC/ESMO	20,5 ± 1,9	11,8 ± 1,3*†	16,2 ± 1,7	16,3 ± 1,4	14,6 ± 1,8*	13,7 ± 1,6*	12,6 ± 1,2*

HZV	Base	Intervention	Memory	CAO	Rep 1h	Rep 2h	Rep 3h
(ml/min)							
CON	232 ± 19	230 ± 19	233 ± 19	189 ± 18	186 ± 18	181 ± 17	188 ± 11
DES	226 ± 16	200 ± 9	231 ± 9	186 ± 18	171 ± 11	165 ± 4	155 ± 4
SEVO	212 ± 15	176 ± 20	214 ± 18	206 ± 17	204 ± 12	201 ± 13	184 ± 14
IPC	268 ± 43	230 ± 42	243 ± 37	227 ± 44	234 ± 46	219 ± 34	225 ± 47
ESMO	263 ± 27	226 ± 23	257 ± 23	210 ± 22	210 ± 29	197 ± 16	183 ± 14
DES/ESMO	216 ± 40	183 ± 33	238 ± 25	202 ± 18	189 ± 21	175 ± 29	168 ± 26
SEVO/ESMO	260 ± 16	188 ± 17	258 ± 23	221 ± 19	225 ± 13	211 ± 12	197 ± 12
IPC/ESMO	210 ± 17	148 ± 23	184 ± 23	161 ± 23	147 ± 20	149 ± 20	145 ± 19
LVEDP	Base	Intervention	Memory	CAO	Rep 1h	Rep 2h	Rep 3h
(mmHg)							
CON	4 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	7 ± 1	6 ± 2	6 ± 1	7 ± 1
DES	4 ± 2	3 ± 2	3 ± 1	5 ± 2	4 ± 2	3 ± 1	2 ± 1
SEV	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	5 ± 1	4 ± 1	5 ± 1	6 ± 1
IPC	1 ± 1	4 ± 1	3 ± 3	4 ± 2	1 ± 1	4 ± 1	4 ± 2
ESMO	2 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	5 ± 1	5 ± 1
DES/ESMO	1 ± 2	3 ± 2	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	5 ± 1	7 ± 2
SEVO/ESMO	2 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	5 ± 1	4 ± 1	5 ± 1	5 ± 1
IPC/ESMO	0 ± 1	5 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	4 ± 1
+dP/dt _{max}	Base	Intervention	Memory	CAO	Rep 1h	Rep 2h	Rep 3h
(mmHg • 1/s)							
CON	4560 ± 940	4490 ± 930	4510 ± 910	3770 ± 790	3380 ± 730	3040 ± 650	2720 ± 550
DES	5352 ± 920	2158 ± 240 ^{*†}	4690 ± 580	4490 ± 580	4009 ± 500 [*]	4570 ± 1650	3479 ± 320
SEVO	5240 ± 650	2770 ± 380 [*]	4870 ± 330	4860 ± 210	4250 ± 280	3590 ± 230	3200 ± 270 [*]
IPC	4780 ± 670	4170 ± 690	4310 ± 540	4400 ± 660	4080 ± 440	3600 ± 390	3160 ± 290
ESMO	5300 ± 1000	3410 ± 610	4940 ± 730	5150 ± 440	4480 ± 430	4110 ± 440	3600 ± 280
DES/ESMO	5110 ± 750	2080 ± 270 ^{*†}	4540 ± 490	4400 ± 590	4250 ± 430	4230 ± 490	3250 ± 570
SEVO/ESMO	4840 ± 680	1610 ± 212 ^{*†}	4380 ± 410	4000 ± 320	3530 ± 300	3230 ± 280	3040 ± 360
IPC/ESMO	4840 ± 740	2560 ± 470 ^{*†}	3750 ± 450	3370 ± 270	3210 ± 340	2870 ± 360 [*]	2670 ± 320 [*]

Base=Äquibrierungs-Phase; Intervention=Interventions-Phase; Memory=Auswasch-Phase; CAO=Koronararterienokklusion; Rep=Reperfusion-Phase; HF=Herzfrequenz; MAP=Mittlerer Arterieller Druck; RPP=Produkt von HF und MAP; HZV=Herzeitvolumen, LVEDP=Linksventrikulärer enddiastolischer Druck; +dP/dt_{max}=Kontraktionskraft; CON=Kontrollgruppe; DES=Desfluran; SEVO=Sevofluran; ESMO=Esmolol; IPC=ischämische Präkonditionierung;

Daten als Mittelwert ± SEM;

* Signifikant (p<0,05) verschieden von Base;

† Signifikant (p<0,05) verschieden vom jeweiligen Wert der Kontrollgruppe.

3.2 Area-at-Risk

Die prozentualen Anteile des myokardialen Ischämieareals (AAR, *engl.* area-at-risk) am linken Ventrikel (AAR/LV in %) waren in allen untersuchten Gruppen gleich groß. Signifikante Unterschiede bezüglich des Körpergewichts, des linksventrikulären Gewichts und der Größe der AAR bestanden nicht (Tabelle 3.2).

Tabelle 3.2: Area-at-Risk

	Körpergewicht (kg)	LV (g)	AAR (g)	AAR/LV (%)
CON	2,35 ± 0,1	3,06 ± 0,15	1,02 ± 0,16	36 ± 4
DES	2,20 ± 0,1	2,98 ± 0,20	0,86 ± 0,13	29 ± 4
SEVO	2,40 ± 0,1	3,25 ± 0,17	0,88 ± 0,12	27 ± 3
IPC	2,32 ± 0,1	2,97 ± 0,16	0,90 ± 0,28	29 ± 5
ESMO	2,69 ± 0,1	3,41 ± 0,14	1,21 ± 0,11	36 ± 3
DES/ESMO	2,55 ± 0,1	3,00 ± 0,16	0,99 ± 0,16	33 ± 5
SEVO/ESMO	2,48 ± 0,1	3,54 ± 0,16	1,22 ± 0,17	33 ± 4
IPC /ESMO	2,38 ± 0,2	3,24 ± 0,18	1,11 ± 0,21	34 ± 6

LV=Linker Ventrikel; AAR=Area-at-Risk; IPC=ischämische Präkonditionierung; CON=Kontrollgruppe; DES=Desfluran; SEVO=Sevofluran; ESMO=Esmolol; IPC=ischämische Präkonditionierung;

Daten als Mittelwert ± SEM;

* Signifikant ($p < 0,05$) verschieden vom jeweiligen Wert der Kontrollgruppe.

3.3 Infarktgrößen

Die Infarktgrößen wurden prozentual als Anteil der AAR ermittelt und als Mittelwerte mit den jeweiligen Standardfehlern dargestellt (Abbildungen 3.1 und 3.2). In der Kontrollgruppe betrug die Infarktgröße $61 \pm 4 \%$, in den Gruppen DES $34 \pm 2 \%$, SEVO $36 \pm 5 \%$ und IPC $23 \pm 3 \%$. Esmolol alleine verabreicht, reduzierte die Infarktgröße nicht ($65 \pm 5 \%$), hob jedoch in Kombination mit Desfluran und Sevofluran den kardioprotektiven Effekt der volatilen Anästhetika auf ($57 \pm 4 \%$ bzw. $52 \pm 4 \%$). Die Kombination von Esmolol und IPC führte zu einer Infarktgröße von $40 \pm 4 \%$, die somit signifikant kleiner als die der Kontrollgruppe, aber signifikant größer als die der IPC-Gruppe war. Der selektive PKA-Inhibitor H-89 hatte keinen Einfluss auf die Infarktgröße ($60 \pm 4 \%$), hob aber in Kombination mit Desfluran und Sevofluran den kardioprotektiven Effekt der volatilen Anästhetika auf ($57 \pm 5 \%$ bzw. $61 \pm 1 \%$).

Die Gabe von H-89 in Kombination mit der ischämischen Präkonditionierung ($24 \pm 7\%$) zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Infarktgröße der IPC-Gruppe.

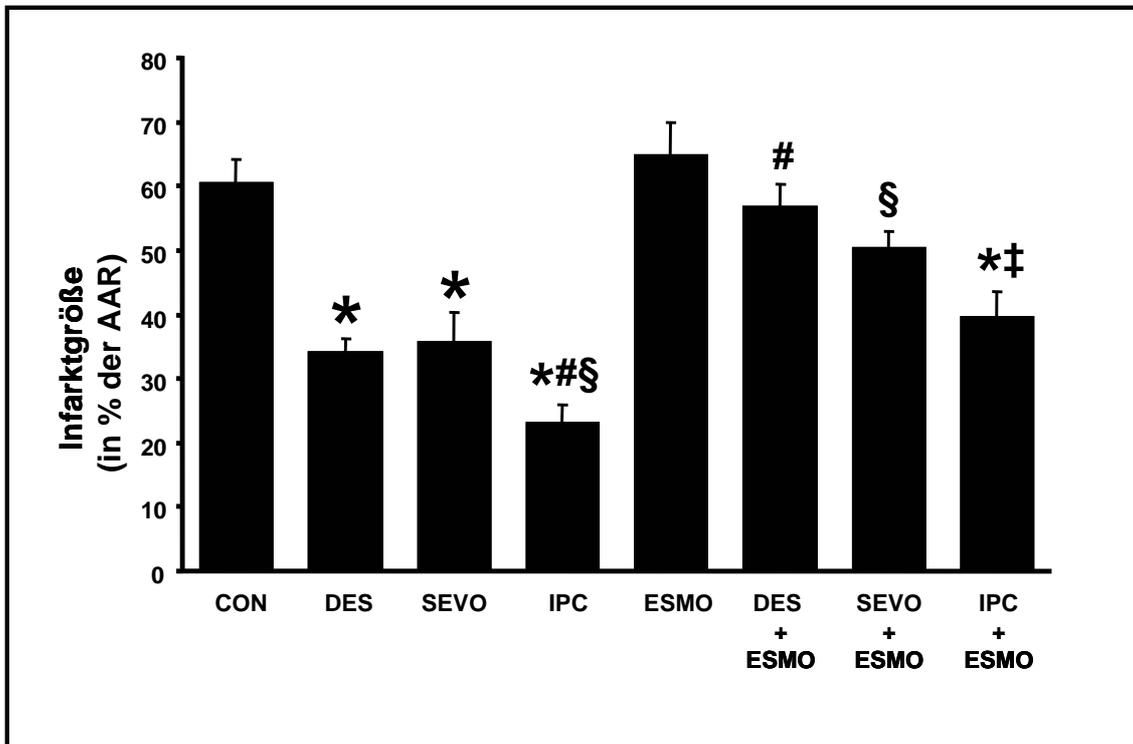


Abbildung 3.1: Herzinfarktgröße und β_1 -Blockade. CON=Kontrollgruppe; DES=Desfluran; SEVO=Sevofluran; IPC=ischämische Präkonditionierung; ESMO=Esmolol; Daten als Mittelwert \pm SEM;

- * Signifikant ($p < 0,05$) verschieden von CON;
- # Signifikant ($p < 0,05$) verschieden von DES;
- § Signifikant ($p < 0,05$) verschieden von SEVO;
- ‡ Signifikant ($p < 0,05$) verschieden von IPC.

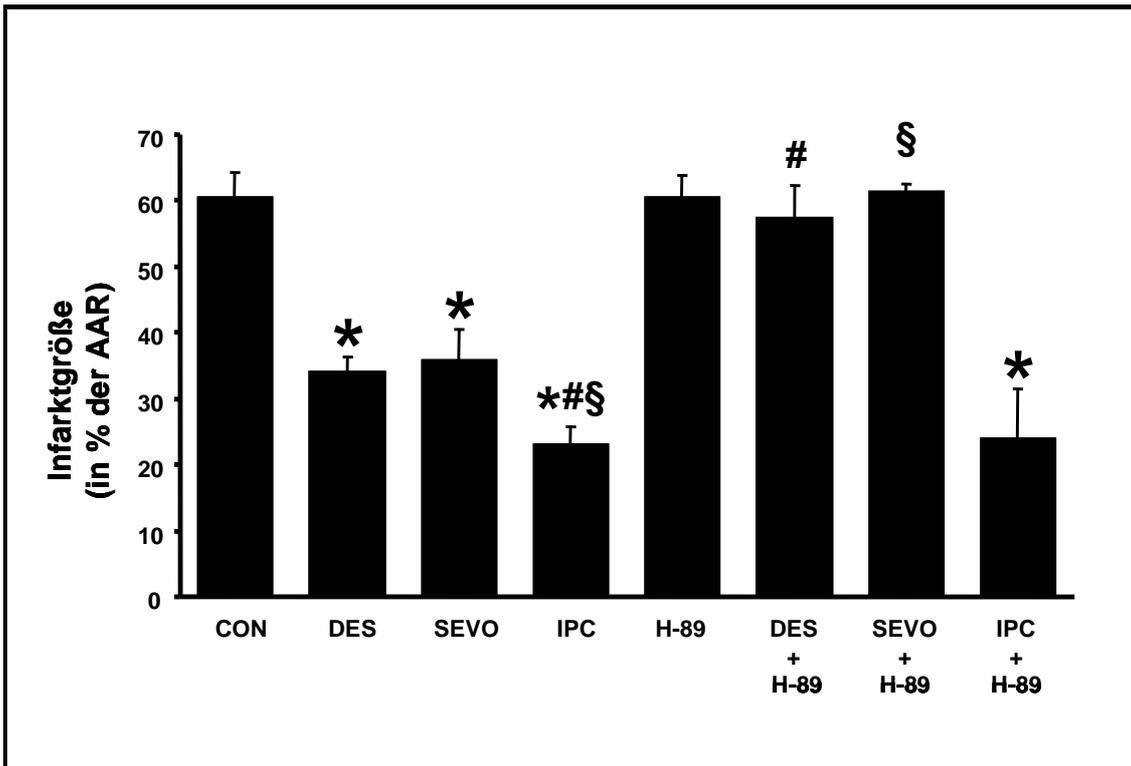


Abbildung 3.2: Herzinfarktgröße und Inhibition der Proteinkinase A. CON=Kontrollgruppe; DES=Desfluran; SEVO=Sevofluran; IPC=ischämische Präkonditionierung; H-89=PKA-Inhibitor H-89;

Daten als Mittelwert \pm SEM;

* Signifikant ($p < 0,05$) verschieden von CON;

Signifikant ($p < 0,05$) verschieden von DES;

§ Signifikant ($p < 0,05$) verschieden von SEVO.

4 DISKUSSION

Im Rahmen der vorliegenden In-vivo-Studie am Kaninchenherzen wurde gezeigt, dass eine einmalige 5-minütige Koronararterienokklusion oder die Applikation der volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran vor einer längeren Ischämie die Herzinfarktgröße reduziert. Diese Resultate stimmen mit bisherigen Ergebnissen überein, wonach neben den älteren Inhalationsanästhetika Enfluran³⁴, Halothan³ und Isofluran^{4;106}, auch die neueren Desfluran^{3;95} und Sevofluran^{39;107} in der Lage sind das Myokard zu präkonditionieren. Das Ausmaß der Infarktgrößenreduktion durch die in der vorliegenden Studie verwendeten volatilen Anästhetika ist etwa gleich und unterscheidet sich somit teilweise von den Studienergebnissen aus der Arbeitsgruppe um Piriou³, die das gleiche Modell verwendete. Sie zeigte eine Infarktgrößenreduktion für Desfluran, nicht jedoch für Sevofluran. Diese Diskrepanz innerhalb der Gruppe der volatilen Anästhetika kann möglicherweise auf ein anderes Studienprotokoll zurückgeführt werden. Piriou verwendete für die Hintergrundnarkose seiner Versuchstiere Ketamin, während in der vorliegenden Studie das Barbiturat Pentobarbital zum Einsatz kam. In der Literatur jedoch finden sich Hinweise, dass Ketamin sarkolemmale und mitochondriale ATP-regulierte Kaliumkanäle inhibiert und somit die IPC und APC möglicherweise abschwächt¹⁰⁸⁻¹¹⁰. Dagegen wird Pentobarbital nur ein geringfügiger Einfluss auf die Präkonditionierung zugeschrieben¹¹¹. Ferner betrug die Memory-Periode in Piriou's Studie 15 Minuten, während sie in der vorliegenden Arbeit 30 Minuten andauerte. Diese längere Zeitspanne wurde auch von anderen Arbeitsgruppen bevorzugt^{4;39;95;112}.

Die Reduktion der Herzinfarktgrößen, die in der vorliegenden Studie mittels APC und IPC erzielt wurden, stimmen mit Ergebnissen aus einer Arbeit von Cason et al. überein³⁵. Somit ist festzuhalten, dass sich das in der vorliegenden Studie verwendete In-vivo-Modell am Kaninchenherzen für die Untersuchung der Signaltransduktionsmechanismen der APC und IPC eignet und mit den Ergebnissen anderer Studien am gleichen In-vivo-Modell vergleichbar ist.

Die Inhibition des β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweges erfolgte auf unterschiedlichen Ebenen. Während ein kardioselektiver Betablocker den membranständigen β_1 -Adrenozeptor inhibierte, wurde die nachgeschaltete und intrazellulär lokalisierte Proteinkinase A (PKA) durch einen selektiven Proteinkinase-A-Inhibitor blockiert. Die Blockade des β_1 -Adrenozeptors durfte nur während der Präkonditionierungsphase erfolgen, da eine anhaltende Betarezeptorblockade direkt das Ausmaß des Ischämie-Reperfusionsschadens beeinflusst. Infolgedessen wurde Esmolol als β_1 -adrenerger Rezeptorblocker eingesetzt, da die Halbwertszeit der Substanz mit 9 Minuten ausgesprochen kurz ist⁹⁹. Hierdurch konnte vermieden werden, dass der Betablocker zum Zeitpunkt der Ischämie und Reperfusion noch hämodynamisch wirksame Effekte ausübte.

Die selektive β_1 -adrenerge Rezeptorblockade mit Esmolol hob in der vorliegenden Studie die Desfluran- und Sevofluran-induzierte Präkonditionierung vollständig auf. Die ischämische Präkonditionierung wurde durch Esmolol signifikant abgeschwächt, aber nicht komplett unterdrückt. Der Proteinkinase-A-Inhibitor H-89 führte zu einer kompletten Aufhebung der Desfluran- und Sevofluran-induzierten Präkonditionierung, beeinflusste aber die ischämische Präkonditionierung nicht.

Die alleinige Gabe von Esmolol oder H-89 führte zu keiner Beeinflussung der Herzinfarktgröße. Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass die Mechanismen, die der ischämischen und Anästhetika-induzierten Präkonditionierung zugrunde liegen, partiell voneinander abweichen. Eine Beteiligung des β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweges in der APC und IPC scheint somit in unterschiedlichem Maße zu existieren.

Die β -adrenerge Präkonditionierung

In der wissenschaftlichen Literatur finden sich Hinweise, dass durch Stimulation des β -adrenergen Signaltransduktionsweges eine pharmakologische Präkonditionierung hervorgerufen werden kann, die in ihrer Wirksamkeit der APC und IPC vergleichbar ist.

Eine In-vitro-Studie von Nasa und Mitarbeitern konnte zeigen ¹¹³, dass die nicht-selektive Stimulation von β -Adrenozeptoren eine pharmakologische Präkonditionierung hervorruft. Isolierte Rattenherzen wurden für zwei Minuten mit Noradrenalin, Phenylephrin, Isoprenalin oder Vehikellösung perfundiert, worauf eine 10-minütige Auswaschphase folgte. Die Gruppen, die Noradrenalin und Isoprenalin erhielten, zeigten nach einer 40-minütigen Ischämie mit 30-minütiger Reperfusion sowohl eine verbesserte Erholung der Herzfunktion als auch einen geringeren Anstieg der Kreatinkinase verglichen mit der Kontrollgruppe. Die Kombination des nichtselektiven Betablockers Timolol mit Noradrenalin führte zur Aufhebung dieses kardioprotektiven Effekts.

Eine Beteiligung von β -Adrenozeptoren an der Präkonditionierung wurde auch von der Arbeitsgruppe um Frances untersucht ⁹². Diese hat in einer In-vitro-Studie am isolierten Rattenherzen vor allem eine Beteiligung des β_1 -Adrenozeptors an der β -adrenergen Präkonditionierung gezeigt. Endpunkte der Studie waren die postischämische Erholung der linksventrikulären Funktion sowie die postischämische Freisetzung von Kreatinkinase. Durch unselektive Stimulierung des β -Adrenozeptors mit Isoprenalin ließen sich kardioprotektive Effekte erzielen. Nach selektiver Blockierung der jeweiligen Subtypen des β -Adrenozeptors mit Atenolol und ICI 118,551 zeigte sich eine Vermittlung der Präkonditionierung über den β_1 -Adrenozeptor.

Robinet und Mitarbeiter beobachteten in einer In-vitro-Studie am katecholamindepletierten Rattenherzen, dass die β -adrenerge Präkonditionierung zum einen über den β_1 -adrenergen Rezeptor und zum anderen über die Proteinkinase A vermittelt wird ¹¹⁴.

Diese bisherigen Ergebnisse zur β -adrenergen Präkonditionierung zeigen, dass durch Stimulation des β -adrenergen Signaltransduktionsweges eine pharmakologische Präkonditionierung hervorgerufen werden kann, die in ihrer Wirksamkeit der ischämischen und Anästhetika-induzierten Präkonditionierung vergleichbar ist. Ob möglicherweise eine Beteiligung des β -adrenergen Signaltransduktionsweges an der ischämischen bzw. der Anästhetika-induzierten Präkonditionierung existiert, war Gegenstand der vorliegenden In-vivo-Studie am Kaninchenherzen.

Die ischämische Präkonditionierung

Der Signaltransduktionsweg der ischämischen Präkonditionierung ist gut untersucht. Bisherige Studien zur möglichen Beteiligung des β -adrenergen Signaltransduktionsweges an der IPC liefern Ergebnisse, die zum Teil denen der vorliegenden Arbeit widersprechen.

Aus der Arbeitsgruppe um Lochner stammt eine In-vitro-Studie zur Beteiligung des β -adrenergen Signaltransduktionsweges in der IPC ⁹³. Durch drei 5-minütige Globalischämien wurden isolierte Rattenherzen präkonditioniert. Während die Applikation von Isoprenalin kardioprotektive Effekte entfaltete, die der IPC vergleichbar waren, führte die Kombination von Alprenolol, einem unselektiven Betablocker, mit der IPC zu einer Abschwächung des kardioprotektiven Effekts. Diese Ergebnisse deuten auf eine wesentliche Beteiligung der β -adrenergen Signaltransduktionsweges an der IPC hin und bestätigen die Beobachtungen der vorliegenden Arbeit.

Auch eine In-vitro-Studie von Suematsu und Mitarbeitern konnte am isolierten Rattenherzen eine grundlegende Beteiligung des β -adrenergen Signaltransduktionsweges an der IPC nachweisen ¹¹⁵. Durch Applikation der unselektiven Betablocker Propranolol und Nipradiol ließ sich jeweils die durch eine 3-minütige Globalischämie-induzierte IPC komplett blockieren. In der vorliegenden Arbeit blockierte der verwendete Betablocker Esmolol allerdings die IPC nur zum Teil.

Eine In-vivo-Arbeit von Iliodromitis et al. zur ischämischen Präkonditionierung am Kaninchenherzen konnte keine Beteiligung des β -adrenergen Signaltransduktionsweges nachweisen und steht somit in Widerspruch zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ¹¹⁶. Iliodromitis und seine Arbeitsgruppe zeigten in einem In-vivo-Modell, dass die IPC weder mit Atenolol noch mit Esmolol blockierbar ist. Die Zielgröße der Studie von Iliodromitis et al. war die Bestimmung der Infarktgröße, die ebenfalls mit der TTC-Methode erfolgte. Hinsichtlich des Studienprotokolls bestehen allerdings wesentliche Unterschiede zu der vorliegenden Studie wie zum Beispiel die Anzahl der präkonditionierenden Ischämiezyklen oder die verwendete Esmololdosierung.

Eine Beteiligung von β_1 -adrenergen Rezeptoren an der IPC konnte von Horimoto und seiner Arbeitsgruppe am isolierten Kaninchenherzen gezeigt werden ¹¹⁷. Die Zielgrößen dieser Studie waren die Bestimmung der Aktionspotentialdauer, des linksventrikulären Drucks und der Infarktgröße nach der TTC-Methode. Die Applikation des β_1 -selektiven Rezeptorblockers Esmolol schwächte die Infarktgrößenreduktion der IPC ab, die in dieser Studie durch zwei 5-minütige Koronarischämien herbeigeführt wurde. Diese Beobachtung deutet auf eine Beteiligung des β -adrenergen Signaltransduktionsweges in der IPC hin. In der vorliegenden In-vivo-Studie am Kaninchenherzen führte die Applikation des β_1 -selektiven Rezeptorblockers Esmolol zu einer Abschwächung der durch eine 5-minütige Koronarischämie hervorgerufenen IPC. Die oben genannten Ergebnisse aus vielen bisherigen In-vitro-Versuchen zur Beteiligung des β_1 -Adrenozeptors an der IPC konnten somit in einem In-vivo-Modell bestätigt werden. Die vollständige Blockierung der IPC durch die selektive Inhibition der im β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweg nachgeschalteten PKA mittels H-89 konnte allerdings nicht gezeigt werden. Die vorliegenden Ergebnisse deuten daraufhin, dass der β_1 -adrenerge Rezeptor am Signaltransduktionsweg der IPC wesentlich beteiligt ist, hingegen die nachgeschaltete PKA eine untergeordnete Rolle spielt.

Die Anästhetika-induzierte Präkonditionierung

Eine In-vitro-Studie zur ischämischen und Anästhetika-induzierten Präkonditionierung stammt aus der Arbeitsgruppe um Hanouz ⁴⁶. Zielgröße dieser Studie an humanem Vorhofmyokard war die 10-minütige Messung isometrischer Kontraktionen. Alle Gruppen erhielten eine 30-minütige Globalischämie sowie eine 60-minütige Reperfusion. Sowohl die ischämische Präkonditionierung mittels einer 4-minütigen Ischämie als auch die Applikation des volatilen Anästhetikums Desfluran führten zu einer verbesserten postischämischen Erholung der Herzfunktion verglichen mit der nicht präkonditionierten Kontrollgruppe. Die Kombination von Desfluran und Propranolol, einem unselektiven Betablocker, hob die APC auf, was auf eine wesentliche Beteiligung der β -Adrenozeptoren in der APC hindeutet und sich

mit den Beobachtungen der vorliegenden Studie deckt. Hingegen führte die Kombination der 4-minütigen Präkonditionierungsischämie und Propranolol zu keiner Blockierung der IPC, was gegen eine Beteiligung der β -Adrenozeptoren an der IPC spricht und somit im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit steht. Diese Unstimmigkeiten zur IPC könnten zum einen durch Speziesunterschiede erklärt werden, zum anderen durch Unterschiede im Studienprotokoll bedingt sein.

Die Beteiligung von β -Adrenozeptoren an der APC wurde auch von der Arbeitsgruppe um Zaugg untersucht⁹⁴. Sie konnten in einem Ischämiemodell an isolierten Myokardzellen der Ratte zeigen, dass die Kombination von Propranolol in verschiedenen Dosierungen mit Sevofluran keinen Einfluss auf die APC hat. Diese Beobachtungen stimmen mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zur Beteiligung der β -Adrenozeptoren an der APC nicht überein, können aber durch Unterschiede im Studienprotokoll möglicherweise erklärt werden. Zaugg et al. verwendeten in ihrer Studie ein In-vitro-Modell an isolierten Ventrikelmyokardzellen der Ratte, die für 15 Minuten mit Sevofluran (2,0 MAC) präkonditioniert wurden und anschließend eine 2-stündige Ischämie erhielten⁹⁴.

Im Gegensatz zu vielen bisherigen Untersuchungen wurde in der vorliegenden Studie mit einem In-vivo-Modell gearbeitet. Die Kombinationen von Esmolol oder H-89 mit den volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran führten in der vorliegenden Studie zu einer kompletten Aufhebung der APC, was darauf hindeutet, dass der β_1 -adrenerge Signaltransduktionsweg in der APC eine wesentliche Rolle spielt.

Der β -adrenerge Signaltransduktionsweg

In der vorliegenden Studie wurde der β_1 -adrenerge Signaltransduktionsweg zum einen auf Rezeptorebene zum anderen auf intrazellulärer Enzymebene blockiert. Bekanntlich wird der β_1 -Adrenozeptor zu den membranständigen Rezeptoren mit stimulierendem G-Protein gezählt¹¹⁸. Neuere Untersuchungen deuten jedoch darauf hin, dass eine Aktivierung der PKC zu einer simultanen Kopplung des β_1 -Adrenozeptors an inhibitorische G-Proteine führen kann¹¹⁹.

Wesentlich früher konnten Daaka et al. zeigen ¹²⁰, dass die zusätzliche Kopplung des β_2 -Adrenozeptors an inhibitorische G-Proteine über die Aktivierung der PKA verläuft. In einer Studie am isolierten Mäuseherzen von Tong et al. konnte gezeigt werden, dass die Stimulation von β -Adrenozeptoren mit Isoproterenol, einem unselektiven β -Rezeptoragonisten, vor einer 20-minütigen Ischämie eine pharmakologische Präkonditionierung hervorruft, die nach simultaner Applikation von Pertussistoxin, einem G_i -Proteininhibitor, nicht auftritt ¹²¹. Dieses deutet daraufhin, dass am β -Adrenozeptor ein „Switch“ des G-Proteins stattgefunden hat und die β -adrenerge Signaltransduktion nicht mehr über ein stimulierendes sondern ein inhibitorisches G-Protein vermittelt wird. Die Aktivierung inhibitorischer G-Proteine führt zu einer Aktivierung der PKC, die für die Öffnung mitochondrialer ATP-regulierter Kaliumkanäle verantwortlich ist ¹²², welche eine zentrale Rolle in der APC und IPC spielen ^{68;123}. Darüber hinaus führte der Einsatz der PKA-Inhibitoren PKI und H-89 in der Arbeit von Tong et al. zu einer Unterdrückung der pharmakologischen und ischämischen Präkonditionierung ¹²¹. Diese Ergebnisse konnten in der vorliegenden Untersuchung zum Teil nicht bestätigt werden, da in der gegenwärtigen Studie H-89 die IPC in ihrer Wirksamkeit nicht beeinflusste.

Unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse wäre vorstellbar, dass die Präkonditionierung mit volatilen Anästhetika eine Kopplung von β_1 -Adrenozeptoren an inhibitorische G-Proteine veranlasst und zu einer Aktivierung der PKC führt. Ferner zeigt die vorliegende Studie, dass neben dem β_1 -Adrenozeptor auch die nachgeschaltete PKA für den Signaltransduktionsweg der APC eine wichtige Rolle spielt. Obwohl APC und IPC über viele gemeinsame Mediatoren vermittelt werden wie zum Beispiel ROS, PKC und mitochondriale ATP-regulierte Kaliumkanäle, konnte in der vorliegenden Studie keine entscheidende Beteiligung der PKA am Signaltransduktionsweg der IPC gezeigt werden.

Limitationen der vorliegenden Studie

Bezüglich der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse müssen bestimmte Einschränkungen berücksichtigt werden. Wichtige Determinanten für die

Herzinfarktgröße sind das Ausmaß der AAR und die kollaterale Blutversorgung. Die AAR, anteilig berechnet am gesamten linken Ventrikel, war in allen Gruppen gleich groß. Die kollaterale Blutversorgung wurde in der vorliegenden Arbeit nicht gemessen. Mögliche Abweichungen innerhalb der verschiedenen Gruppen sind jedoch unwahrscheinlich, da die kollaterale Blutversorgung am Kaninchenherzen nur sehr gering ausgeprägt ist ¹²⁴.

Sowohl die volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran als auch Esmolol führten während der Zeitdauer ihrer Applikation zu systemischen, hämodynamischen Veränderungen, die wiederum die myokardiale Sauerstoffbilanz beeinflussten. Dennoch haben diese temporären Veränderungen für die Herzinfarktgröße keine Bedeutung, da alle Gruppen vor Beginn der 30-minütigen Koronarischämie ihr hämodynamisches Ausgangsniveau wieder erreichten. Eine anhaltende Veränderung der myokardialen Sauerstoffbilanz durch Desfluran, Sevofluran und Esmolol mit der damit verbundenen Beeinflussung der Herzinfarktgröße kann allerdings nicht komplett ausgeschlossen werden, da weder der myokardiale Sauerstoffverbrauch noch der koronarvenöse Sauerstoffgehalt gemessen wurden. Jedoch waren die Hauptdeterminanten des Sauerstoffverbrauchs ab dem Zeitpunkt der Ischämie in allen untersuchten Gruppen gleich groß.

Bei der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse sind auch noch Nebeneffekte der verwendeten Inhibitoren zu berücksichtigen. Esmolol oder H-89 führten bei alleiniger Applikation zu keiner Reduktion der Herzinfarktgröße verglichen mit der unbehandelten Kontrollgruppe. Diese Beobachtungen stimmen teilweise mit Ergebnissen aus der Arbeit von Iliodromitis et al. überein ¹¹⁶, die keine Kardioprotektion für Esmolol nachweisen konnte. Vermutlich entwickelt Esmolol seine kardioprotektiven Effekte vor allem über eine Herzfrequenzerniedrigung, welche die kardiale Sauerstoffbilanz verbessert. In der vorliegenden Studie war die Herzfrequenz, als ein Parameter der aktiven Betarezeptorblockade, zum Zeitpunkt der Ischämie und Reperfusion nicht mehr erniedrigt, was folglich zu keiner Optimierung der Sauerstoffbilanz führte und keine Herzinfarktgrößenreduktion bewirken konnte. Obwohl Esmolol eine hohe Affinität zu β_1 -Adrenozeptoren besitzt, werden auch andere Subtypen des

adrenergen Betarezeptors, wie zum Beispiel β_2 -Adrenozeptoren, blockiert⁹⁹. Eine Beteiligung von β_2 -Adrenozeptoren an der IPC konnte bereits in einer In-vitro-Arbeit am isolierten Mäuseherz durch Tong et al. gezeigt werden¹²¹. Er wies nach, dass die IPC bei β_2 -Adrenozeptor-defizienten Mäusen nicht induzierbar war, was auf eine wesentliche Beteiligung der adrenergen β_2 -Rezeptoren im Signaltransduktionsweg der IPC hindeutet¹²¹. Die in der vorliegenden Studie gezeigte partielle Aufhebung der IPC durch Esmolol kann somit möglicherweise durch die in geringem Maße stattfindende Blockade von β_2 -Adrenozeptoren während der 5-minütigen Koronararterienokklusion verursacht sein. Ferner hat Esmolol weitere Effekte, die nicht rezeptorvermittelt sind. Hierzu gehören die Reduktion der Aktionspotentialdauer und des Aktionspotentialplateaus der Kardiomyozyten, sowie die direkt negative Beeinflussung der Inotropie⁹⁸. Ein möglicher Einfluss dieser genannten Effekte auf die Herzinfarktgrößen der vorliegenden Studie kann somit nicht ausgeschlossen werden.

Der PKA-Inhibitor H-89 ist für seine hochselektive Blockierung der Proteinkinase-A bekannt. Es werden jedoch auch inhibitorische Effekte auf andere Proteinkinasen beschrieben^{100;101;125}. Gerade durch die Verwendung höherer Dosierungen von H-89, wie es in In-vivo-Studien üblich ist, kommt es zu einem Verlust der PKA-Selektivität mit der Folge einer Inhibition anderer Kinasen wie beispielsweise S6K1, MSK1 oder ROCK-II¹⁰¹. H-89 blockierte an Kaninchenkoronararterien ATP-regulierte Kaliumkanäle glatter Muskelzellen¹²⁶. Bekanntlich spielen ATP-regulierte Kaliumkanäle in der Vermittlung der APC und IPC eine zentrale Rolle. In der vorliegenden Studie hatte die Applikation von H-89 keinen Einfluss auf die IPC, was eine H-89-induzierte Blockierung ATP-regulierter Kaliumkanäle unwahrscheinlich macht. Folglich beruht die beobachtete Aufhebung der APC durch die Kombination mit H-89 nicht auf einer durch H-89 verursachten Inhibition ATP-regulierter Kaliumkanäle.

Übertragung der vorliegenden Ergebnisse in den klinischen Alltag

In der vorliegenden Arbeit führten die Applikation volatiler Anästhetika und die simultane Blockade des β -adrenergen Signaltransduktionsweges zu einem

Verlust der Kardioprotektion im In-vivo-Herzinfarktmodell des Kaninchens. Im peri- und intraoperativen Management kardialer Risikopatienten werden verschiedene kardioprotektive Strategien verfolgt, wobei der simultane Einsatz von volatilen Anästhetika und Betablockern eine häufig vorgefundene Konstellation ist. Während Betablocker vermutlich über die Beeinflussung der kardialen Sauerstoffbilanz kardioprotektive Effekte ausüben, haben volatile Anästhetika kardioprotektive Eigenschaften, die sich nicht nur durch Veränderungen hämodynamischer Parameter erklären lassen. Durch Übertragung der vorliegenden tierexperimentellen Ergebnisse in den klinischen Alltag wäre denkbar, dass durch die Kombination von Betablockern und volatilen Anästhetika sich die erwünschten kardioprotektiven Effekte der APC aufheben. Ein möglicher Lösungsansatz dieses Dilemmas könnte den Verzicht auf den perioperativen Einsatz des Betablockers oder die Auswahl eines anderen Narkoseverfahrens bedeuten. Durch weitere Untersuchungen muss geklärt werden, inwieweit die beobachteten tierexperimentellen Ergebnisse wirklich in den klinischen Alltag übertragbar sind.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die myokardiale Präkonditionierung ist ein endogener Schutzmechanismus, der die Ischämietoleranz der Myokardzellen erhöht und die Entstehung eines Myokardinfarktes hinauszögert. Eine Aktivierung dieses „Schutzprogramms“ kann durch verschiedene Stimuli induziert werden, beispielsweise sind sowohl eine kurze Koronararterienischämie als auch die Applikation volatiler Anästhetika potente Aktivatoren. Gegenstand aktueller Forschung ist die Aufklärung der Signaltransduktionskette der Anästhetika-induzierten (APC) und ischämischen Präkonditionierung (IPC). Bisherige Studien konnten die Beteiligung verschiedenster Mediatoren und Effektoren wie Proteinkinase C (PKC), Adenosintriphosphat-regulierte Kaliumkanäle, freie Sauerstoffradikale (ROS) und Stickstoffmonoxid (NO) am Signaltransduktionsweg der APC und IPC nachweisen. Eine Beteiligung des β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweges ist noch weitgehend ungeklärt und wird in der Literatur widersprüchlich diskutiert. Die vorliegende Arbeit untersuchte im In-vivo-Herzinfarktmodell des Kaninchens die Beteiligung des β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweges an der APC und IPC. Durch die 30-minütige Gabe der volatilen Anästhetika Sevofluran und Desfluran wurde die APC hervorgerufen, durch eine einmalige 5-minütige Koronararterienokklusion die IPC. Um eine Beteiligung des β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweges in der APC und IPC zu prüfen, wurde zum einen auf Rezeptorebene mit Esmolol, einem ultrakurzwirksamen β_1 -selektiven Betablocker, zum anderen intrazellulär mit H-89, einem selektiven PKA-Inhibitor, gearbeitet. APC und IPC wurden jeweils mit Esmolol oder H-89 kombiniert. Die Zielgröße der vorliegenden Arbeit war die prozentuale Berechnung des infarzierten Myokards am ischämischen Areal (IS/AAR in %). In Übereinstimmung mit vielen bisherigen Studien konnte eine myokardiale Präkonditionierung sowohl mit Desfluran und Sevofluran als auch durch eine kurze Koronararterienischämie hervorgerufen werden. Insgesamt war die IPC hinsichtlich der Infarktgrößenreduktion effektiver als die APC. Die APC wurde sowohl durch die β_1 -Adrenozeptor-Blockade als auch durch die PKA-Inhibition vollständig unterdrückt. Die IPC hingegen wurde zwar

durch die β_1 -Adrenozeptor-Blockade komplett, durch die PKA-Inhibition jedoch nur teilweise aufgehoben.

Unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse kann somit festgehalten werden, dass der β_1 -adrenerge Signaltransduktionsweg eine wesentliche Rolle in der Vermittlung der APC und IPC spielt. Darüber hinaus weisen diese Ergebnisse darauf hin, dass die Beteiligung des β_1 -adrenergen Signaltransduktionsweges in der APC und IPC in unterschiedlichem Maße vorliegt.

6 LITERATURVERZEICHNIS

1. Mangano DT, Browner WS, Hollenberg M, London MJ, Tubau JF, Tateo IM: Association of perioperative myocardial ischemia with cardiac morbidity and mortality in men undergoing noncardiac surgery. The Study of Perioperative Ischemia Research Group. *N.Engl.J Med* 1990; 323: 1781-8
2. Mangano DT, Layug EL, Wallace A, Tateo I: Effect of atenolol on mortality and cardiovascular morbidity after noncardiac surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. *N.Engl.J Med* 1996; 335: 1713-20
3. Piriou V, Chiari P, Lhuillier F, Bastien O, Loufoua J, Raisky O, David JS, Ovize M, Lehot JJ: Pharmacological preconditioning: comparison of desflurane, sevoflurane, isoflurane and halothane in rabbit myocardium. *Br.J.Anaesth.* 2002; 89: 486-91
4. Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR: Is isoflurane-induced preconditioning dose related? *Anesthesiology* 2002; 96: 675-80
5. Toma O, Weber NC, Wolter JI, Obal D, Preckel B, Schlack W: Desflurane preconditioning induces time-dependent activation of protein kinase C epsilon and extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 in the rat heart in vivo. *Anesthesiology* 2004; 101: 1372-80
6. Redel A, Lange M, Jazbutyte V, Lotz C, Smul TM, Roewer N, Kehl F: Activation of mitochondrial large-conductance calcium-activated K⁺ channels via protein kinase A mediates desflurane-induced preconditioning. *Anesth.Analg.* 2008; 106: 384-91, table
7. Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C, Jr., Reimer KA: Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation* 1990; 82: II2-12
8. Fleet WF, Johnson TA, Graebner CA, Gettes LS: Effect of serial brief ischemic episodes on extracellular K⁺, pH, and activation in the pig. *Circulation* 1985; 72: 922-32
9. Jennings RB, Reimer KA, Steenbergen C: Myocardial ischemia revisited. The osmolar load, membrane damage, and reperfusion. *J Mol.Cell Cardiol.* 1986; 18: 769-80

10. Kloner RA, Jennings RB: Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. *Circulation* 2001; 104: 2981-9
11. Zhao ZQ, Vinten-Johansen J: Postconditioning: reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovasc.Res.* 2006; 70: 200-11
12. Collard CD, Gelman S: Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001; 94: 1133-8
13. Bienengraeber MW, Weihrauch D, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC: Cardioprotection by volatile anesthetics. *Vascul.Pharmacol.* 2005; 42: 243-52
14. Opie LH: The multifarious spectrum of ischemic left ventricular dysfunction: relevance of new ischemic syndromes. *J.Mol.Cell Cardiol.* 1996; 28: 2403-14
15. Kehl F, Smul TM, Lange M, Redel A, Roewer N: Organprotektion durch volatile Anästhetika. *Anästhesie & Intensivmedizin* 2005; 11: 491-507
16. Xiao RP, Zhu W, Zheng M, Chakir K, Bond R, Lakatta EG, Cheng H: Subtype-specific beta-adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends Pharmacol.Sci.* 2004; 25: 358-65
17. Lohse MJ, Engelhardt S, Eschenhagen T: What is the role of beta-adrenergic signaling in heart failure? *Circ.Res.* 2003; 93: 896-906
18. Zheng M, Zhu W, Han Q, Xiao RP: Emerging concepts and therapeutic implications of beta-adrenergic receptor subtype signaling. *Pharmacol.Ther.* 2005; 108: 257-68
19. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36
20. Grund F, Sommerschild HT, Kirkeboen KA, Ilebekk A: Preconditioning with ischaemia reduces both myocardial oxygen consumption and infarct size in a graded pattern. *J Mol.Cell Cardiol.* 1997; 29: 3067-79
21. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM: Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993; 88: 1264-72

22. Baxter GF, Goma FM, Yellon DM: Characterisation of the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: timecourse and dose-dependency studies in rabbit myocardium. *Basic Res.Cardiol.* 1997; 92: 159-67
23. Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Sorbello F, Limonetti P, Pantoli D, Rusticali F: Prodromal angina limits infarct size. A role for ischemic preconditioning. *Circulation* 1995; 91: 291-7
24. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, Burstein S, Gibson M, Poole WK, Cannon CP, .: Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. A clinical correlate to preconditioning? *Circulation* 1995; 91: 37-45
25. Laskey WK, Beach D: Frequency and clinical significance of ischemic preconditioning during percutaneous coronary intervention. *J Am.Coll.Cardiol.* 2003; 42: 998-1003
26. Jenkins DP, Pugsley WB, Alkhulaifi AM, Kemp M, Hooper J, Yellon DM: Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart* 1997; 77: 314-8
27. Yellon DM, Alkhulaifi AM, Pugsley WB: Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 1993; 342: 276-7
28. Wu ZK, Iivainen T, Pehkonen E, Laurikka J, Tarkka MR: Ischemic preconditioning suppresses ventricular tachyarrhythmias after myocardial revascularization. *Circulation* 2002; 106: 3091-6
29. Patel HH, Ludwig LM, Fryer RM, Hsu AK, Warltier DC, Gross GJ: Delta opioid agonists and volatile anesthetics facilitate cardioprotection via potentiation of K(ATP) channel opening. *FASEB J.* 2002; 16: 1468-70
30. Leesar MA, Stoddard M, Ahmed M, Broadbent J, Bolli R: Preconditioning of human myocardium with adenosine during coronary angioplasty. *Circulation* 1997; 95: 2500-7
31. Alcindor D, Krolikowski JG, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR: Cyclooxygenase-2 mediates ischemic, anesthetic, and pharmacologic preconditioning in vivo. *Anesthesiology* 2004; 100: 547-54
32. Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology* 1997; 87: 361-70

33. Meissner A, Weber TP, Van Aken H, Zbieranek K, Rolf N: Recovery from myocardial stunning is faster with desflurane compared with propofol in chronically instrumented dogs. *Anesth.Analg.* 2000; 91: 1333-8
34. Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, Downey JM: Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 1997; 86: 699-709
35. Cason BA, Gamperl AK, Slocum RE, Hickey RF: Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology* 1997; 87: 1182-90
36. Ismaeil MS, Tkachenko I, Gamperl AK, Hickey RF, Cason BA: Mechanisms of isoflurane-induced myocardial preconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 1999; 90: 812-21
37. Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR: Hyperglycemia prevents isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction. *Anesthesiology* 2002; 96: 183-8
38. Novalija E, Fujita S, Kampine JP, Stowe DF: Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology* 1999; 91: 701-12
39. Toller WG, Kersten JR, Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC: Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases the time threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Anesthesiology* 1999; 91: 1437-46
40. Weber NC, Toma O, Wolter JI, Obal D, Mullenheim J, Preckel B, Schlack W: The noble gas xenon induces pharmacological preconditioning in the rat heart in vivo via induction of PKC-epsilon and p38 MAPK. *Br.J.Pharmacol.* 2005; 144: 123-32
41. Crystal GJ, Zhou X, Gurevicius J, Czinn EA, Salem MR, Alam S, Piotrowski A, Hu G: Direct coronary vasomotor effects of sevoflurane and desflurane in in situ canine hearts. *Anesthesiology* 2000; 92: 1103-13
42. Crystal GJ, Gurevicius J, Salem MR, Zhou X: Role of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in coronary vasodilation by halothane, isoflurane, and enflurane. *Anesthesiology* 1997; 86: 448-58
43. Tanaka K, Ludwig LM, Krolikowski JG, Alcindor D, Pratt PF, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC: Isoflurane produces delayed preconditioning against myocardial ischemia and reperfusion injury: role of cyclooxygenase-2. *Anesthesiology* 2004; 100: 525-31

44. Smul T, Stumpner J, Lange M, Roewer N, Kehl F: Desflurane induces a 1st and 2nd window of preconditioning against myocardial infarction. *FASEB J* 2005; 19: A691
45. Roscoe AK, Christensen JD, Lynch C, III: Isoflurane, but not halothane, induces protection of human myocardium via adenosine A1 receptors and adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology* 2000; 92: 1692-701
46. Hanouz JL, Yvon A, Massetti M, Lepage O, Babatasi G, Khayat A, Bricard H, Gerard JL: Mechanisms of desflurane-induced preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesthesiology* 2002; 97: 33-41
47. Chiari PC, Bienengraeber MW, Pagel PS, Krolikowski JG, Kersten JR, Wartier DC: Isoflurane protects against myocardial infarction during early reperfusion by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction: evidence for anesthetic-induced postconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 2005; 102: 102-9
48. Schlack W, Preckel B, Barthel H, Obal D, Thamer V: Halothane reduces reperfusion injury after regional ischaemia in the rabbit heart in vivo. *Br.J.Anaesth.* 1997; 79: 88-96
49. Smul T, Stumpner J, Lange M, Roewer N, Kehl F: Desflurane-induced postconditioning is as effective as desflurane-induced preconditioning to reduce infarct size in rabbits in vivo and mediated by nitric oxide. *FASEB J* 2005; 19: A690
50. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasche P: Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999; 100: II340-II344
51. De Hert SG, Cromheecke S, ten Broecke PW, Mertens E, De Blier IG, Stockman BA, Rodrigus IE, Van der Linden PJ: Effects of propofol, desflurane, and sevoflurane on recovery of myocardial function after coronary surgery in elderly high-risk patients. *Anesthesiology* 2003; 99: 314-23
52. De Hert SG, Van der Linden PJ, Cromheecke S, Meeus R, ten Broecke PW, De Blier IG, Stockman BA, Rodrigus IE: Choice of primary anesthetic regimen can influence intensive care unit length of stay after coronary surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2004; 101: 9-20

53. Garcia C, Julier K, Bestmann L, Zollinger A, von Segesser LK, Pasch T, Spahn DR, Zaugg M: Preconditioning with sevoflurane decreases PECAM-1 expression and improves one-year cardiovascular outcome in coronary artery bypass graft surgery. *Br.J.Anaesth.* 2005; 94: 159-65
54. Kersten JR, Orth KG, Pagel PS, Mei DA, Gross GJ, Warltier DC: Role of adenosine in isoflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 1997; 86: 1128-39
55. Ludwig LM, Patel HH, Gross GJ, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC: Morphine enhances pharmacological preconditioning by isoflurane: role of mitochondrial K(ATP) channels and opioid receptors. *Anesthesiology* 2003; 98: 705-11
56. Goto M, Liu Y, Yang XM, Ardell JL, Cohen MV, Downey JM: Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ.Res.* 1995; 77: 611-21
57. Rorabaugh BR, Ross SA, Gaivin RJ, Papay RS, McCune DF, Simpson PC, Perez DM: alpha1A- but not alpha1B-adrenergic receptors precondition the ischemic heart by a staurosporine-sensitive, chelerythrine-insensitive mechanism. *Cardiovasc.Res.* 2005; 65: 436-45
58. Toller WG, Kersten JR, Gross ER, Pagel PS, Warltier DC: Isoflurane preconditions myocardium against infarction via activation of inhibitory guanine nucleotide binding proteins. *Anesthesiology* 2000; 92: 1400-7
59. Zaugg M, Schaub MC, Foex P: Myocardial injury and its prevention in the perioperative setting. *Br.J.Anaesth.* 2004; 93: 21-33
60. Ping P, Takano H, Zhang J, Tang XL, Qiu Y, Li RC, Banerjee S, Dawn B, Balafonova Z, Bolli R: Isoform-selective activation of protein kinase C by nitric oxide in the heart of conscious rabbits: a signaling mechanism for both nitric oxide-induced and ischemia-induced preconditioning. *Circ.Res.* 1999; 84: 587-604
61. Ludwig LM, Weihrauch D, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC: Protein kinase C translocation and Src protein tyrosine kinase activation mediate isoflurane-induced preconditioning in vivo: potential downstream targets of mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and reactive oxygen species. *Anesthesiology* 2004; 100: 532-9
62. Uecker M, da Silva R, Grampp T, Pasch T, Schaub MC, Zaugg M: Translocation of protein kinase C isoforms to subcellular targets in

- ischemic and anesthetic preconditioning. *Anesthesiology* 2003; 99: 138-47
63. Ismaeil MS, Tkachenko I, Hickey RF, Cason BA: Colchicine inhibits isoflurane-induced preconditioning. *Anesthesiology* 1999; 91: 1816-22
 64. Mullenheim J, Ebel D, Frassdorf J, Preckel B, Thamer V, Schlack W: Isoflurane preconditions myocardium against infarction via release of free radicals. *Anesthesiology* 2002; 96: 934-40
 65. Tanaka K, Weihrauch D, Kehl F, Ludwig LM, Ladisa JF, Jr., Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC: Mechanism of preconditioning by isoflurane in rabbits: a direct role for reactive oxygen species. *Anesthesiology* 2002; 97: 1485-90
 66. Kehl F, Krolkowski JG, Weihrauch D, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR: N-acetylcysteine restores isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction during hyperglycemia. *Anesthesiology* 2003; 98: 1384-90
 67. Ludwig LM, Tanaka K, Eells JT, Weihrauch D, Pagel PS, Kersten JR, Warltier DC: Preconditioning by isoflurane is mediated by reactive oxygen species generated from mitochondrial electron transport chain complex III. *Anesth.Analg.* 2004; 99: 1308-15
 68. Toller WG, Gross ER, Kersten JR, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate- dependent potassium channels: mechanism of desflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 2000; 92: 1731-9
 69. Zaugg M, Lucchinetti E, Uecker M, Pasch T, Schaub MC: Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms. *Br.J.Anaesth.* 2003; 91: 551-65
 70. An J, Varadarajan SG, Novalija E, Stowe DF: Ischemic and anesthetic preconditioning reduces cytosolic $[Ca^{2+}]$ and improves Ca^{2+} responses in intact hearts. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2001; 281: H1508-H1523
 71. Riess ML, Camara AK, Novalija E, Chen Q, Rhodes SS, Stowe DF: Anesthetic preconditioning attenuates mitochondrial Ca^{2+} overload during ischemia in Guinea pig intact hearts: reversal by 5-hydroxydecanoic acid. *Anesth.Analg.* 2002; 95: 1540-6, table

72. Varadarajan SG, An J, Novalija E, Stowe DF: Sevoflurane before or after ischemia improves contractile and metabolic function while reducing myoplasmic Ca(2+) loading in intact hearts. *Anesthesiology* 2002; 96: 125-33
73. Riess ML, Camara AK, Chen Q, Novalija E, Rhodes SS, Stowe DF: Altered NADH and improved function by anesthetic and ischemic preconditioning in guinea pig intact hearts. *Am.J Physiol Heart Circ.Physiol* 2002; 283: H53-H60
74. Riess ML, Novalija E, Camara AK, Eells JT, Chen Q, Stowe DF: Preconditioning with sevoflurane reduces changes in nicotinamide adenine dinucleotide during ischemia-reperfusion in isolated hearts: reversal by 5-hydroxydecanoic acid. *Anesthesiology* 2003; 98: 387-95
75. Kanaya N, Kobayashi I, Nakayama M, Fujita S, Namiki A: ATP sparing effect of isoflurane during ischaemia and reperfusion of the canine heart. *Br.J Anaesth.* 1995; 74: 563-8
76. da Silva R, Grampp T, Pasch T, Schaub MC, Zaugg M: Differential activation of mitogen-activated protein kinases in ischemic and anesthetic preconditioning. *Anesthesiology* 2004; 100: 59-69
77. Fryer RM, Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ: Importance of PKC and tyrosine kinase in single or multiple cycles of preconditioning in rat hearts. *Am.J Physiol* 1999; 276: H1229-H1235
78. Raphael J, Rivo J, Gozal Y: Isoflurane-induced myocardial preconditioning is dependent on phosphatidylinositol-3-kinase/Akt signalling. *Br.J Anaesth.* 2005; 95: 756-63
79. Piriou V, Chiari P, Gateau-Roesch O, Argaud L, Muntean D, Salles D, Loufouat J, Gueugniaud PY, Lehot JJ, Ovize M: Desflurane-induced preconditioning alters calcium-induced mitochondrial permeability transition. *Anesthesiology* 2004; 100: 581-8
80. Krolkowski JG, Bienengraeber M, Weihrauch D, Warltier DC, Kersten JR, Pagel PS: Inhibition of mitochondrial permeability transition enhances isoflurane-induced cardioprotection during early reperfusion: the role of mitochondrial KATP channels. *Anesth.Analg.* 2005; 101: 1590-6
81. Bolli R: The late phase of preconditioning. *Circ.Res.* 2000; 87: 972-83

82. Gottlieb SS, McCarter RJ, Vogel RA: Effect of beta-blockade on mortality among high-risk and low-risk patients after myocardial infarction. *N.Engl.J Med* 1998; 339: 489-97
83. Antman EM, Hand M, Armstrong PW, Bates ER, Green LA, Halasyamani LK, Hochman JS, Krumholz HM, Lamas GA, Mullany CJ, Pearle DL, Sloan MA, Smith SC, Jr., Anbe DT, Kushner FG, Ornato JP, Pearle DL, Sloan MA, Jacobs AK, Adams CD, Anderson JL, Buller CE, Creager MA, Ettinger SM, Halperin JL, Hunt SA, Lytle BW, Nishimura R, Page RL, Riegel B, Tarkington LG, Yancy CW: 2007 focused update of the ACC/AHA 2004 guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am.Coll.Cardiol.* 2008; 51: 210-47
84. Wallace A, Layug B, Tateo I, Li J, Hollenberg M, Browner W, Miller D, Mangano DT: Prophylactic atenolol reduces postoperative myocardial ischemia. McSPI Research Group. *Anesthesiology* 1998; 88: 7-17
85. Poldermans D, Boersma E, Bax JJ, Thomson IR, van De Ven LL, Blankensteijn JD, Baars HF, Yo TI, Trocino G, Vigna C, Roelandt JR, van Urk H: The effect of bisoprolol on perioperative mortality and myocardial infarction in high-risk patients undergoing vascular surgery. Dutch Echocardiographic Cardiac Risk Evaluation Applying Stress Echocardiography Study Group. *N.Engl.J Med* 1999; 341: 1789-94
86. Stone JG, Foex P, Sear JW, Johnson LL, Khambatta HJ, Triner L: Myocardial ischemia in untreated hypertensive patients: effect of a single small oral dose of a beta-adrenergic blocking agent. *Anesthesiology* 1988; 68: 495-500
87. Fleisher LA, Beckman JA, Brown KA, Calkins H, Chaikof EL, Fleischmann KE, Freeman WK, Froehlich JB, Kasper EK, Kersten JR, Riegel B, Robb JF: ACC/AHA 2006 guideline update on perioperative cardiovascular evaluation for noncardiac surgery: focused update on perioperative beta-blocker therapy--a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2002 Guidelines on Perioperative Cardiovascular Evaluation for Noncardiac Surgery). *Anesth.Analg.* 2007; 104: 15-26
88. Lindenauer PK, Pekow P, Wang K, Mamidi DK, Gutierrez B, Benjamin EM: Perioperative beta-blocker therapy and mortality after major noncardiac surgery. *N.Engl.J Med* 2005; 353: 349-61

89. Biccard BM, Sear JW, Foex P: Acute peri-operative beta blockade in intermediate-risk patients. *Anaesthesia* 2006; 61: 924-31
90. POISE Study Group: Effects of extended-release metoprolol succinate in patients undergoing non-cardiac surgery (POISE trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 1839-47
91. Feuerstein G, Liu GL, Yue TL, Cheng HY, Hieble JP, Arch JR, Ruffolo RR, Jr., Ma XL: Comparison of metoprolol and carvedilol pharmacology and cardioprotection in rabbit ischemia and reperfusion model. *Eur.J.Pharmacol.* 1998; 351: 341-50
92. Frances C, Nazeyrollas P, Prevost A, Moreau F, Pisani J, Davani S, Kantelip JP, Millart H: Role of beta 1- and beta 2-adrenoceptor subtypes in preconditioning against myocardial dysfunction after ischemia and reperfusion. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 2003; 41: 396-405
93. Lochner A, Genade S, Tromp E, Podzuweit T, Moolman JA: Ischemic preconditioning and the beta-adrenergic signal transduction pathway. *Circulation* 1999; 100: 958-66
94. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Schaub MC: Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K(ATP) channels via multiple signaling pathways. *Anesthesiology* 2002; 97: 4-14
95. Smul TM, Lange M, Redel A, Burkhard N, Roewer N, Kehl F: Desflurane-induced preconditioning against myocardial infarction is mediated by nitric oxide. *Anesthesiology* 2006; 105: 719-25
96. Sandhu R, Diaz RJ, Mao GD, Wilson GJ: Ischemic preconditioning: differences in protection and susceptibility to blockade with single-cycle versus multicycle transient ischemia. *Circulation* 1997; 96: 984-95
97. Preckel B, Bolten J: Pharmacology of modern volatile anaesthetics. *Best.Pract.Res.Clin.Anaesthesiol.* 2005; 19: 331-48
98. Arlock P, Wohlfart B, Sjoberg T, Steen S: The negative inotropic effect of esmolol on isolated cardiac muscle. *Scand.Cardiovasc.J.* 2005; 39: 250-4
99. Volz-Zang C, Eckrich B, Jahn P, Schneidrowski B, Schulte B, Palm D: Esmolol, an ultrashort-acting, selective beta 1-adrenoceptor antagonist: pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. *Eur.J.Clin.Pharmacol.* 1994; 46: 399-404

100. Chijiwa T, Mishima A, Hagiwara M, Sano M, Hayashi K, Inoue T, Naito K, Toshioka T, Hidaka H: Inhibition of forskolin-induced neurite outgrowth and protein phosphorylation by a newly synthesized selective inhibitor of cyclic AMP-dependent protein kinase, N-[2-(p-bromocinnamylamino)ethyl]-5-isoquinolinesulfonamide (H-89), of PC12D pheochromocytoma cells. *J.Biol.Chem.* 1990; 265: 5267-72
101. Lochner A, Moolman JA: The many faces of H89: a review. *Cardiovasc.Drug Rev.* 2006; 24: 261-74
102. Iriki M, Riedel W, Simon E: Regional differentiation of sympathetic activity during hypothalamic heating and cooling in anesthetized rabbits. *Pflugers Arch.* 1971; 328: 320-31
103. Doorley BM, Waters SJ, Terrell RC, Robinson JL: MAC of I-653 in beagle dogs and New Zealand white rabbits. *Anesthesiology* 1988; 69: 89-91
104. Scheller MS, Saidman LJ, Partridge BL: MAC of sevoflurane in humans and the New Zealand white rabbit. *Can.J Anaesth.* 1988; 35: 153-6
105. Warltier DC, Zyvoloski MG, Gross GJ, Hardman HF, Brooks HL: Determination of experimental myocardial infarct size. *J Pharmacol.Methods* 1981; 6: 199-210
106. Obal D, Weber NC, Zacharowski K, Toma O, Dettwiler S, Wolter JI, Kratz M, Mullenheim J, Preckel B, Schlack W: Role of protein kinase C-epsilon (PKCepsilon) in isoflurane-induced cardioprotection. *Br.J.Anaesth.* 2005; 94: 166-73
107. Riess ML, Kevin LG, Camara AK, Heisner JS, Stowe DF: Dual exposure to sevoflurane improves anesthetic preconditioning in intact hearts. *Anesthesiology* 2004; 100: 569-74
108. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC: Differential effects of anesthetics on mitochondrial K(ATP) channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002; 97: 15-23
109. Kawano T, Oshita S, Takahashi A, Tsutsumi Y, Tanaka K, Tomiyama Y, Kitahata H, Nakaya Y: Molecular mechanisms underlying ketamine-mediated inhibition of sarcolemmal adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology* 2005; 102: 93-101
110. Han J, Kim N, Joo H, Kim E: Ketamine abolishes ischemic preconditioning through inhibition of K(ATP) channels in rabbit hearts. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2002; 283: H13-H21

111. Haessler R, Kuzume K, Chien GL, Wolff RA, Davis RF, Van Winkle DM: Anaesthetics alter the magnitude of infarct limitation by ischaemic preconditioning. *Cardiovasc.Res.* 1994; 28: 1574-80
112. Chiari PC, Pagel PS, Tanaka K, Krolikowski JG, Ludwig LM, Trillo RA, Jr., Puri N, Kersten JR, Warltier DC: Intravenous emulsified halogenated anesthetics produce acute and delayed preconditioning against myocardial infarction in rabbits. *Anesthesiology* 2004; 101: 1160-6
113. Nasa Y, Yabe K, Takeo S: Beta-adrenoceptor stimulation-mediated preconditioning-like cardioprotection in perfused rat hearts. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 1997; 29: 436-43
114. Robinet A, Hoizey G, Millart H: PI 3-kinase, protein kinase C, and protein kinase A are involved in the trigger phase of beta1-adrenergic preconditioning. *Cardiovasc.Res.* 2005; 66: 530-42
115. Suematsu Y, Anttila V, Takamoto S, del Nido P: Cardioprotection afforded by ischemic preconditioning interferes with chronic beta-blocker treatment. *Scand.Cardiovasc.J.* 2004; 38: 293-9
116. Iliodromitis EK, Tasouli A, Andreadou I, Bofilis E, Zoga A, Cokkinos P, Kremastinos DT: Intravenous atenolol and esmolol maintain the protective effect of ischemic preconditioning in vivo. *Eur.J.Pharmacol.* 2004; 499: 163-9
117. Horimoto H, Saltman AE, Gaudette GR, Krukenkamp IB: Nitric oxide-generating beta-adrenergic blocker nipradilol preserves postischemic cardiac function. *Ann.Thorac.Surg.* 1999; 68: 844-9
118. Kuschel M, Zhou YY, Cheng H, Zhang SJ, Chen Y, Lakatta EG, Xiao RP: G(i) protein-mediated functional compartmentalization of cardiac beta(2)-adrenergic signaling. *J.Biol.Chem.* 1999; 274: 22048-52
119. Belevych AE, Juranek I, Harvey RD: Protein kinase C regulates functional coupling of beta1-adrenergic receptors to Gi/o-mediated responses in cardiac myocytes. *FASEB J.* 2004; 18: 367-9
120. Daaka Y, Luttrell LM, Lefkowitz RJ: Switching of the coupling of the beta2-adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A. *Nature* 1997; 390: 88-91
121. Tong H, Bernstein D, Murphy E, Steenbergen C: The role of beta-adrenergic receptor signaling in cardioprotection. *FASEB J* 2005; 19: 983-5

122. Sato T, O'Rourke B, Marban E: Modulation of mitochondrial ATP-dependent K⁺ channels by protein kinase C. *Circ.Res.* 1998; 83: 110-4
123. Kohro S, Hogan QH, Nakae Y, Yamakage M, Bosnjak ZJ: Anesthetic effects on mitochondrial ATP-sensitive K channel. *Anesthesiology* 2001; 95: 1435-340
124. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM: Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc.Res.* 1987; 21: 737-46
125. Davies SP, Reddy H, Caivano M, Cohen P: Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. *Biochem.J.* 2000; 351: 95-105
126. Sun PW, Kyoung SY, Kim N, Boum YJ, Joo H, Warda M, Ko JH, Earm YE, Han J: The protein kinase A inhibitor, H-89, directly inhibits KATP and Kir channels in rabbit coronary arterial smooth muscle cells. *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 2006; 340: 1104-10

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Franz Kehl möchte ich für die Überlassung des Themas, sein stetes Engagement und die intensive Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Doktorarbeit sehr herzlich danken.

Ein ganz besonderer Dank gebührt meinem Betreuer Herrn Dr. Markus Lange für die sehr gute Zusammenarbeit, seine Unterstützung und Hilfsbereitschaft im Laboralltag.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Franz Kehl für die freundliche Arbeitsatmosphäre.

Der herzlichste Dank gilt meinen Eltern Emmy und Dr. Arwed Blomeyer, die mir das Studium ermöglicht und mich während meiner Studienzeit unermüdlich unterstützt haben.

Ich bestätige, dass ich die vorliegende Doktorarbeit alleine und ohne fremde Hilfe angefertigt habe.

Würzburg, den 1. August 2008

CURRICULUM VITAE

Persönliche Daten

Christoph-Axel Blomeyer
geboren 13. Februar 1980 in Soest

Schulbildung

1990-1999 Petrus-Legge-Gymnasium Brakel, Erwerb des Abiturs

Zivildienst

1999-2000 Evangelischer Kirchenkreis Paderborn

Studium

2001-2003 Studium der Humanmedizin an der Charité/
Humboldt Universität zu Berlin, Erwerb der
Ärztlichen Vorprüfung (Note 1,0)

2003-2007 Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilians-
Universität zu Würzburg, Erwerb des Zweiten
Abschnitts der Ärztlichen Prüfung (Note 1,5)

11/2007 Approbation als Arzt

Beruflicher Werdegang

seit 01/ 2008 Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik und
Poliklinik für Anästhesiologie der Julius-Maximilians-
Universität Würzburg, Direktor Prof. Dr. N. Roewer

Würzburg, den 1. August 2008