

CARINA ERATH

---

Experimentelle Untersuchungen zu den  
kardioprotektiven Eigenschaften von  
Cardioplexol  
während herzchirurgischer Eingriffe  
bei einem akuten Myokardinfarkt



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines  
**Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei der Autorin dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autorin oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2023

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1<sup>st</sup> Edition 2023

© 2023 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, 35396 GIESSEN, GERMANY  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin,  
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Matthias Schneider

**und**

aus der Klinik für Herz-, Gefäß- und Kinderherzchirurgie,  
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Andreas Böning

**Experimentelle Untersuchungen zu den  
kardioprotektiven Eigenschaften von  
Cardioplexol  
während herzchirurgischer Eingriffe  
bei einem akuten Myokardinfarkt**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich der Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Carina Erath**

Tierärztin aus Essen

Gießen 2023

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. Matthias Schneider

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Böning

Tag der Disputation: 04.12.2023

Für meine Familie

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Myokardinfarkt .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2</b>	<b>Pathophysiologie der Ischämie.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3</b>	<b>Reperfusion .....</b>	<b>11</b>
<b>1.4</b>	<b>Biomarker kardialer Schädigung.....</b>	<b>16</b>
<b>1.5</b>	<b>Therapie.....</b>	<b>20</b>
<b>1.6</b>	<b>Kardioplegie .....</b>	<b>22</b>
<b>1.7</b>	<b>Geschichtliche Aspekte .....</b>	<b>23</b>
<b>1.8</b>	<b>Ablauf der Herzkontraktion .....</b>	<b>28</b>
<b>1.9</b>	<b>Kardioplegie Optionen .....</b>	<b>33</b>
<b>1.9.1</b>	<b>Depolarisierter Herzstillstand.....</b>	<b>33</b>
<b>1.9.2</b>	<b>Polarisierter Herzstillstand .....</b>	<b>35</b>
<b>1.9.3</b>	<b>Einflüsse auf den Kalziumstoffwechsel .....</b>	<b>40</b>
<b>1.9.4</b>	<b>Kalziumkanalblocker .....</b>	<b>42</b>
<b>1.9.5</b>	<b>Blockade mehrerer zellulärer Ziele.....</b>	<b>44</b>
<b>1.10</b>	<b>Blutkardioplegie .....</b>	<b>45</b>
<b>1.10.1</b>	<b>Calafiore .....</b>	<b>46</b>
<b>1.11</b>	<b>Kristalloide Kardioplegie .....</b>	<b>48</b>
<b>1.11.1</b>	<b>Cardioplexol .....</b>	<b>48</b>
<b>1.12</b>	<b>Das Langendorff-Modell .....</b>	<b>51</b>
<b>2</b>	<b>Fragestellung .....</b>	<b>58</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>60</b>

## Inhaltsverzeichnis

3.1	Versuchstiere.....	60
3.2	Tötung und Organentnahme .....	61
3.3	Blutperfusat.....	63
3.4	Langendorff-Apparatur .....	65
3.5	Datenerfassung .....	69
3.6	Stabilisierungsphase .....	73
3.7	Versuchsgruppen .....	74
3.8	Versuchsablauf.....	76
3.8.1	Gruppe CP-45' .....	76
3.8.2	Gruppe no-flow-45' .....	78
3.8.3	Gruppe CP-30' .....	79
3.8.4	Gruppe CP-60' .....	81
3.8.5	Gruppe CP-90' .....	81
3.8.6	Gruppe Cala-90'.....	82
3.9	Biochemische Untersuchungen .....	84
3.10	Elektronenmikroskopie.....	87
3.11	Statistik.....	93
4	Ergebnisse.....	95
4.1	Baselineparameter.....	95
4.2	Leistungsparameter .....	96
4.2.1	LVDP.....	96
4.2.2	Koronarfluss .....	100
4.2.3	dLVP/dt <sub>max</sub> .....	104

## Inhaltsverzeichnis

4.2.4	dLVP/dt <sub>min</sub> .....	107
4.2.5	Ischämische Kontrakturen .....	110
4.3	Metabolismus.....	112
4.3.1	Sauerstoffverbrauch .....	112
4.3.2	Laktatproduktion .....	116
4.4	Biomarker .....	121
4.4.1	Troponin .....	121
4.5	Elektronenmikroskopie.....	124
4.5.1	CEI und V/S Ratio .....	125
4.7	Qualitative Auswertung Elektronenmikroskopie .	128
4.7.1	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	130
5	Diskussion.....	132
6	Zusammenfassung .....	174
7	Summary .....	176
9	Literaturverzeichnis .....	178
10	Materialverzeichnis.....	221
11	Kongressbeiträge.....	225
12	Danksagung .....	228
13	Erklärung zur Dissertation .....	229



## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
$\Delta P$	Druckdifferenz inflow-outflow
$^{\circ}C$	Grad Celsius
$\mu g/L$	Microgram pro Liter
$\mu m$	Micrometer
Acetyl-Co-A	Acetyl-Coenzym A
Anova	Analysis of variance
AP	Aortendruck
ATP	Adenosintriphosphat
AV-Knoten	Atrioventrikularknoten
BGA	Blut-Gas-Analyse
BL	Baseline
BNP	B-type natriuretic peptide
BSA	Bovines Serum-Amyloid
CABG	Coronary artery bypass grafting
CaCl	Calciumchlorid
CaO <sub>2</sub>	Arterielle Sauerstoffkonzentration
CEI	Zelluläre Ödemindex
CF	Coronary flow
cHb	Hämoglobinkonzentration
CK-MB	Ceratinkinase muscle brain typ
cLac v	Venöse Laktatproduktion
CLIA	Chemilumineszenz-Assay
cm <sup>2</sup>	Quadratcentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CPB	cardiopulmonary bypass
cTnl	Troponin I
cTnT	Troponin T
CvO <sub>2</sub>	Venöse Sauerstoffkonzentration
CxO <sub>2</sub>	Venöse/ arterielle Sauerstoffkonzentration
dLVP/dtmax	maximale Kontraktionsgeschwindigkeit

## Abkürzungsverzeichnis

dLVP/dtmin	.....	<i>maximale Relaxationsgeschwindigkeit</i>
DSCF	.....	<i>Dwass, Steel, Critchlow-Fliegner</i>
EKG	.....	<i>Elektrokardiogramm</i>
ER	.....	<i>Ende der Reperfusion</i>
EU	.....	<i>Europäische Union</i>
FELASA	.....	<i>Federation of European Laboratory Animal Science Associations</i>
g	.....	<i>Gramm</i>
G	.....	<i>Erdbeschleunigung</i>
h	.....	<i>Stunde</i>
H <sub>2</sub> O	.....	<i>Wasser</i>
H-FABP	.....	<i>Heart-type-fatty-acid-binding protein</i>
KCL	.....	<i>Kaliumchlorid</i>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	.....	<i>Kaliumdihydrogenphosphat</i>
l	.....	<i>Länge eines Gefäßes, Liter</i>
L-Typ Kalziumkanäle	.....	<i>Long lasting Kalziumkanäle</i>
LVDP	.....	<i>Left ventricular developed pressure</i>
LVP	.....	<i>Left ventricular pressure</i>
mg	.....	<i>Milligramm</i>
MgSO <sub>4</sub>	.....	<i>Magnesiumsulfat</i>
min	.....	<i>Minute</i>
mini ECCs	.....	<i>Minimal invasive extracorporeal circulation</i>
ml	.....	<i>Milliliter</i>
ml/g	.....	<i>Milliliter pro Gramm</i>
mm	.....	<i>Millimeter</i>
mM	.....	<i>Millimol</i>
mmHg	.....	<i>Millimeter Quecksilbersäule</i>
mmol/ L	.....	<i>Millimol pro Liter</i>
mosmol/l	.....	<i>Osmolarität pro Liter</i>
mV	.....	<i>Millivolt</i>
MVLac	.....	<i>Laktatproduktion</i>
MVO <sub>2</sub>	.....	<i>Myokardialer Sauerstoffverbrauch</i>
MW	.....	<i>Mittelwert</i>
NaCl	.....	<i>Natriumchlorid</i>
NaEDTA	.....	<i>Natrium Ethylendiamintetraessigsäure</i>
NaHCO <sub>3</sub>	.....	<i>Natriumhydrogencarbonat</i>

## Abkürzungsverzeichnis

NaOH	.....	Natriumhydroxid
NO	.....	Stickstoffmonoxid
NT-proBNP	.....	N-Terminal fragment of pro-b-type-natriuretic peptide
O <sub>2</sub>	.....	Sauerstoff
P(mf)	.....	Punkte auf Myofibrillen
P(mito)	.....	Punkte auf Mitochondrien
P(nuc)	.....	Punkte auf Nuclei
P(Sp)	.....	Punkte auf Sarkoplasma
PCI	.....	percutaneous coronary intervention
PO <sub>2</sub>	.....	Sauerstoffpartialdruck
PxO <sub>2</sub>	.....	Venöser/ arterieller Sauerstoffpartialdruck
r	.....	Radius
R	.....	Widerstand
ROS	.....	Sauerstoffradikal
sec	.....	Sekunden
SEM	.....	Standardfehler des Mittelwerts
SERCA	.....	sarcoplasmic endoplasmic reticulum calcium-transporting ATPase
SO <sub>2</sub>	.....	Sauerstoffsättigung
SR	.....	Sarkoplasmatisches Retikulum, Start Reperfusion
STD	.....	Standardabweichung
Sv	.....	Oberflächendichte
SV-Ratio	.....	Volumen-Oberflächen-Verhältnis
SxO <sub>2</sub>	.....	Venöse/ arterielle Sauerstoffsättigung
TN-C	.....	Kalzium-bindendes Troponin
Vv	.....	Volumendichte
Vv(mf)	.....	Volumen Myofibrillen
Vv(mito)	.....	Volumen der Mitochondrien
Vv(Sp)	.....	Volumen Sarkoplasma
Φ	.....	Koronarfluss

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Ablauf des Aktionspotenzials am Herzen (in Anlehnung an Klabunde, Cardiovascular physiology concepts, 2012) .....	32
<b>Abbildung 2:</b> Schematische Darstellung Langendorff-Modell (Veitinger et al. 2021) .....	68
<b>Abbildung 3:</b> Langendorff Apparatur, Labor AG Böning Frontansicht .....	69
<b>Abbildung 4:</b> Zeitpunkte der Entnahme hämatologischer Proben, CF= Koronarfluss .....	73
<b>Abbildung 5:</b> Versuchsablauf Gruppe CP-45' .....	78
<b>Abbildung 6:</b> Versuchsablauf Gruppe no-flow-45' .....	79
<b>Abbildung 7:</b> Versuchsablauf Gruppe CP-30' .....	80
<b>Abbildung 8:</b> Versuchsablauf Gruppe CP-60' .....	81
<b>Abbildung 9:</b> Versuchsablauf Gruppe CP-90' .....	82
<b>Abbildung 10:</b> Versuchsablauf Gruppe Cala-90' .....	84
<b>Abbildung 11:</b> LVDP [%] der isolierten Herzen, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test; * $p \leq 0,05$ ; ** $p \leq 0,001$ ; *** $p \leq 0,0001$ .....	97
<b>Abbildung 12:</b> LVDP [%] der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, SR: Kruskal-Wallis-Test mit post hoc Test nach DSCF; ER: einfaktorielle-Anova-Varianzanalyse mit post hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; * $p \leq 0,05$ ; ** $p \leq 0,001$ ; *** $p \leq 0,0001$ .....	98
<b>Abbildung 13:</b> LVDP [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', MW und SEM, Mann-Whitney-U-Test; * $p \leq 0,05$ ; ** $p \leq 0,001$ ; *** $p \leq 0,0001$ .....	99

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 14:** Koronarfluss [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test ..... 100
- Abbildung 15:** CF [%] der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, einfaktorielle-Anova-Varianzanalyse mit post-hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$  ..... 101
- Abbildung 16:** Koronarfluss [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$  ..... 103
- Abbildung 17:**  $dLVP/dt_{max}$  der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test ..... 104
- Abbildung 18:**  $dLVP/dt_{max}$  der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, SR: Kruskal-Wallis Test mit post-hoc Test nach DSCF; ER: einfaktorielle Anova-Varianzanalyse mit post-hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$  ..... 105
- Abbildung 19:**  $dLVP/dt_{max}$  der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90' 6, MW und SEM, SR: Mann-Whitney-U-Test, ER: Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$  ..... 106
- Abbildung 20:**  $dLVP/dt_{min}$  der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, SR: Mann-Whitney-U-Test; ER: Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$  ..... 107
- Abbildung 21:**  $dLVP/dt_{min}$  der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, SR: Kruskal-Wallis-Test mit post hoc Test nach DSCF; ER: Einfaktorielle Anova-Varianzanalyse mit post-hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$  ..... 108

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 22:</b> dLVP/dt <sub>min</sub> der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', MW und SEM, zwei-Stichproben-T-Test; *p≤ 0,05; **p≤ 0,001; ***p≤ 0,0001 .....	109
<b>Abbildung 23:</b> Druckveränderungen während der Ischämie innerhalb aller Gruppen .....	110
<b>Abbildung 24:</b> Sauerstoffverbrauch MVO2 [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45'; MW und SEM, Zweistichproben-T-Test.....	113
<b>Abbildung 25:</b> Abbildung 25: Sauerstoffverbrauch MVO2 [%] der isolierten Herzen, Gruppe CP-30', CP-60' und CP-90'; MW und SEM, einfaktorische Anova-Varianz-Analyse mit post-hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; *p≤ 0,05; **p≤ 0,001; ***p≤ 0,0001 .....	114
<b>Abbildung 26:</b> Sauerstoffverbrauch MVO2 [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90'; MW und SEM, Zweistichproben-T-Test; *p≤ 0,05; **p≤ 0,001; ***p≤ 0,0001 .....	115
<b>Abbildung 27:</b> Laktatproduktion [µmol/ml] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, Mann-Whitney-U-Test; *p≤ 0,05; **p≤ 0,001; ***p≤ 0,0001 .....	116
<b>Abbildung 28:</b> Laktatproduktion [µmol/ml] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, Kruskal-Wallis-Test mit post-hoc Test nach DCSEF; *p≤ 0,05; **p≤ 0,001; ***p≤ 0,0001.....	118
<b>Abbildung 29:</b> Laktatproduktion [µmol/ml] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test .....	119
<b>Abbildung 30:</b> Troponin I [ng/ml] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', Mann-Whitney-U-Test.....	121

<b>Abbildung 31:</b> Troponin I [ng/ml] der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', Kruskal-Wallis Test mit post hoc Test nach DCSF; *p≤ 0,05; **p≤ 0,001; ***p≤ 0,0001	122
<b>Abbildung 32:</b> Troponin I [ng/ml] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', Mann-Whitney-U-Test.....	124
<b>Abbildung 33:</b> Zellulärer Ödemindex CEI und V/S Ratio der isolierten Herzen nach erfolgtem Langendorff-Versuch, Gruppen CP-45' und no-flow-45', Mann-Whitney-U-Test.....	125
<b>Abbildung 34:</b> Zellulärer Ödemindex CEI und V/S Ratio der isolierten Herzen nach erfolgtem Langendorff-Versuch, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem post-hoc Test nach DCSF.....	126
<b>Abbildung 35:</b> Zellulärer Ödemindex CEI und der V/S Ratio der isolierten Herzen nach erfolgtem Langendorff-Versuch, Gruppen CP-90' und Cala-90', Mann-Whitney-U-Test.....	127
<b>Abbildung 36:</b> Übersicht repräsentativer Aufnahmen a) CP-45' b) no-flow-45' c) CP-30' d) CP-60' e) CP-90' f) Cala-90' Mf= Myofibrille Mi= Mitochondrium Sp= Sarkoplasma .....	129

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Darstellung der absoluten Baselinewerte (MW $\pm$ STD).....	96
---	----



# 1 Einleitung

Herz-Kreislauf-Erkrankungen und deren Folgeerscheinungen stellen die häufigste Todesursache in den westlichen Industrienationen dar (1). Als Therapie für derartige Erkrankungen stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung. Laut den Deutsch-Österreichischen S3-Leitlinien zum Vorgehen bei einem Myokardinfarkt-bedingten kardiogenen Schock sollte zunächst eine Stabilisierung des Patienten erfolgen, um anschließend mit Hilfe einer Herzkatheteruntersuchung das Ausmaß der Gefäßschädigung beurteilen zu können. Je nach Grad der Erkrankung kann eine Therapie medikamentös, interventionell oder chirurgisch durchgeführt werden (2).

Akute myokardiale Infarkte können auf zwei unterschiedliche Arten behandelt werden. Zum einen besteht die Möglichkeit einer perkutanen koronaren Intervention, zum anderen die einer Implantation eines arteriellen Bypasses (3). Die Methode der Implantation eines arteriellen Bypasses wird zumeist unter der Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine durchgeführt (4). Für eine bessere intraoperative Übersicht, präzise und erfolgreiche

## Einleitung

Operationen, ein blutleeres Herz und zum Schutz vor destruktiven Einflüssen wird Kardioplegie eingesetzt (5). Als Kardioplegie bezeichnet man einen „künstlich induzierten reversiblen Herzstillstand bei Operationen am offenen Herzen“ (6). Sie kann ischämisch, hypotherm oder mithilfe von Kardioplegielösungen herbeigeführt werden (7).

Es sind verschiedene Kardioplegielösungen verfügbar, um einen Herzstillstand zu induzieren. Diese enthalten beispielsweise hohe Konzentrationen an Kalium, Magnesium und Puffersubstanzen (8). Eine Erhöhung des extrazellulären Kaliumgehaltes hat eine Depolarisation der Kardiomyozyten mit gleichzeitiger Inaktivierung der schnellen Natriumkanäle zur Folge. Somit können am Herzen keine Aktionspotenziale mehr ausgebildet werden und es kommt schnell zu einem diastolischen Herzstillstand (9).

Am häufigsten kommen hierbei die Kardioplegielösungen nach Calafiore oder Buckberg-Lösungen zum Einsatz (10-12).

Bereits seit einigen Jahren wird in der Schweiz Cardioplexol eingesetzt. Bei Cardioplexol handelt es sich um eine neue Kardioplegielösung, welche als Basis eine kristalloide Lösung verwendet (13). Cardioplexol wurde ursprünglich entwickelt, um eine Al-

## Einleitung

ternative zur Blutkardioplegie zu schaffen. Diese soll den Standardprinzipien einer Kardioplegielösung entsprechen, eine Reduktion des benötigten Lösungsvolumens bewirken, eine längere Wirkungsdauer vorweisen, schnell verabreichbar sein und einen sofortigen Herzstillstand induzieren (14). Ein weiterer vielversprechender Vorteil von Cardioplexol soll seine „single-shot“-Wirksamkeit für kürzere Eingriffe sein (15). Bezüglich der zuverlässigen Wirkungsdauer von Cardioplexol herrscht bislang keine Einigkeit in aktuellen klinischen Studien. Es wird von sicheren Wirkungsauern von 38 min (16), 45-60 min (14) und 90 min (17) berichtet. Während sich Cardioplexol in einigen EU-Ländern derzeit im Zulassungsprozess befindet, hat es in der Schweiz schon eine Zulassung erhalten. Einige wenige klinische Studien haben sich bereits mit dem Einsatz von Cardioplexol beschäftigt und liefern vielversprechende Ergebnisse (14, 15, 17). Zum jetzigen Kenntnisstand der Autorin existieren jedoch keine experimentellen Studien, die die kardioprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol genauer untersuchen.

### 1.1 Myokardinfarkt

Pathophysiologisch wird ein akuter Myokardinfarkt als Tod von Kardiomyozyten aufgrund von anhaltender Ischämie, welche durch eine Imbalance zwischen Sauerstoffverbrauch und Sauerstoffangebot ausgelöst wird, definiert (18). Ein akuter transmuskardialer Myokardinfarkt wird durch eine plötzliche Okklusion der Koronararterien ausgelöst und zeigt sich meist durch eine Hebung des ST-Segmentes im EKG. Im Zuge der Ischämie kommt es zum Zelltod der Kardiomyozyten und das Gewebe wird narbig verändert, also fibrotisch und steif. Je nach Ausmaß der Ischämie resultiert der fibrotische Gewebersatz in progressivem Herzversagen, da das Narbengewebe nicht im gleichen Maße wie gesundes Gewebe kontraktionsfähig ist (19). Typische, mikroskopisch sichtbare Folgen eines reperfundierten Myokardinfarkts sind Kontraktionsbanden, Karyolyse, mitochondriale Schwellung und Zerreißen. Ferner ereignen sich Zerstörungen der Zellmembranen der Kardiomyozyten, der Gefäßstrukturen sowie interstitielle Blutungen und Entzündungen (20, 21). Bereits in den ersten 10 bis 15 Minuten post Ischämie sind ultrastrukturelle Veränderungen wie Verminderung des zellulären Glykogens, relaxierte Myofibrillen und Zusammenbruch des Sarkolemms erkennbar (22). Mitochondriale Abnormalitäten treten

ebenfalls innerhalb der ersten 10 Minuten nach der Gefäßokklusion auf und nehmen einen progressiven Verlauf, welcher im Elektronenmikroskop nachvollzogen werden kann (23). Der pathologische Nachweis von Nekrosen kann im Gegensatz zu Tiermodellen beim Menschen erst Stunden nach der Ischämie erfolgen (24).

### 1.2 Pathophysiologie der Ischämie

Das Herz benötigt für seine Pumpleistung eine große Menge an Energie. Diese Energie kann aus Glukose, freien Fettsäuren, Aminosäuren, Ketonkörpern und Laktat metabolisiert werden (25). Unter physiologischen Bedingungen und in Ruhe verwendet das Herz 15-20 % seiner maximalen oxidativen Kapazitäten (26). Das Herz besitzt sehr gute Adaptionfähigkeiten und ist in der Lage sich im gewissen Maße an wechselnde Energiebedingungen anzupassen. In Ruhe und bei moderater Belastung werden etwa 60 – 70% der benötigten Energie durch die Oxidation von Fettsäuren bereitgestellt. Die Energieproduktion aus Glukose spielt im Zustand der Ruhe nur eine untergeordnete Rolle (27).

Durch den Prozess einer Ischämie oder einer Hypoxie kommt es zu einer Reduktion des myokardialen Energiebedarfs. Im Zuge

## Einleitung

einer Ischämie werden ATP-abhängige Kaliumkanäle geöffnet. Folglich kommt es zu einem Kaliumausstrom aus den Zellen und somit zu einer Reduktion der Aktionspotenzialdauer. Zusätzlich wird der Kalziueinstrom in die Kardiomyozyten reduziert und somit die Kontraktilität der Zellen gehemmt. Durch diesen Vorgang kann eine Einsparung des ATP-Verbrauchs erreicht werden (28).

Die Energieproduktion aus Glukose beruht auf zwei wesentlichen Mechanismen. Diese umfassen die Glykolyse und die Glukoseoxidation. Die Glykolyse findet im Zytosol der Zellen statt und führt zu einer Umwandlung von Glukose in Pyruvat. In der nachfolgenden Glukoseoxidation findet in den Mitochondrien eine Oxidation des zuvor gebildeten Pyruvat statt. Pyruvat wird in den Citratzyklus eingeschleust und durch die Katalyse der Pyruvat Dehydrogenase zu Acetyl-Co-A umgewandelt (29). Da das Herz seine Glukose entweder aus dem zirkulierenden Blut oder aus intrazellulären Glykogenspeichern bezieht, führt eine ischämiebedingte Reduktion des Blutflusses je nach Ausmaß zu einer verminderten Glukosezufuhr (30). Dadurch kommt es zu einer verminderten Glukose Aufnahme und einem Rückgang der Glykogen Reserven (31). Unter aeroben Bedingungen werden durch Glykolyse nur etwa 5% des gesamten vom Herzen produ-

## Einleitung

zierten ATP bereitgestellt. Unter ischämischen Bedingungen findet hingegen eine beschleunigte Glykolyse statt, welche einen größeren Beitrag zum ATP-Gehalt liefert. Da es unter ischämischen Bedingungen zu Sauerstoffengpässen kommt, erfolgt anaerobe Glykolyse. Durch diesen Vorgang wird Pyruvat in Laktat umgewandelt und es reichern sich Laktat und Wasserstoffionen im Myokard an. Zusätzlich bedingt die ischämische Inaktivierung der Pyruvatdehydrogenase die Forcierung der anaeroben Glykolyse (25). Ein niedriger intrazellulärer pH-Wert und ein Anstieg der Laktatkonzentration sind laut Heusch mit einer verminderten Kontraktilität assoziiert (28).

Anders als im Glukosestoffwechsel findet die ATP-Gewinnung aus freien Fettsäuren durch den Prozess der beta-Oxidation statt. Dieser Prozess ist an die Verfügbarkeit von Sauerstoff gekoppelt. Während ischämischer Prozesse kommt es zu einer vermehrten Ausschüttung von Katecholaminen (32). Diese stimulieren die Fettgewebslipolyse, unterdrücken die pankreatische Insulinausschüttung und induzieren einen Rückgang der Insulin Sensitivität (33-35). All diese Prozesse führen zu einer erhöhten Konzentration von freien Fettsäuren im Plasma (36). Der oxidative Stoffwechsel während ischämischer Phasen aus dem residual Gehalt an Sauerstoff wird durch die beta-Oxidation der Fettsäuren dominiert (37-39). In der Phase der Reperfusion kommt

## Einleitung

es zu einer schnellen Erholung der Fettstoffwechsel Rate (40). Ein gesteigerter Fettsäurestoffwechsel führt zu einer Hemmung der Pyruvat Dehydrogenase und entkoppelt somit die Prozesse der Glykolyse und der Glukose Oxidation (36). Aufgrund der somit blockierten Glukose Oxidation kann Pyruvat nicht in die Mitochondrien eingeschleust werden und wird stattdessen im Zytosol zu Laktat reduziert. Protonen, die bei der Hydrolyse von glykolytisch gewonnenem ATP entstehen verbleiben in den Mitochondrien, da sie nicht im Co-Transport mit Pyruvat aus der Zelle geschleust werden können. Dieses bedingt eine intramitochondriale Azidose (41). Der Prozess der beta-Oxidation liefert zwar mehr ATP als der Abbau von Glukose, dennoch ist der Fettsäuremetabolismus mit einem höheren Sauerstoffverbrauch assoziiert und demnach als ineffizientere Energiequelle einzustufen. In der post ischämischen Phase führt eine Dominanz des Fettsäurestoffwechsels demnach zu Einbußen der kardialen Funktion und ebenso der kardialen Effektivität (36, 40, 42). Zwischenprodukte der beta-Oxidation können sowohl die systolische Herzfunktion als auch den stabilen Sinusrhythmus negativ beeinflussen (43).

Während länger andauernder Phasen eines ischämischen Herzstillstandes kann es zum Auftreten von ischämischen Kontraktu-



## Einleitung

ren kommen. In diesem Fall wird der linke Ventrikel fest und kontrahiert. Dieser Zustand ist unter klinischen Bedingungen meistens irreversibel (44) und wird auch als „stone-heart“ bezeichnet (45). In den letzten Jahren gab es viel Disput über die biochemischen Mechanismen, welche der ischämischen Kontraktur zu Grunde liegen. Zum einen besteht die Annahme, dass ein Verbrauch der ATP-Reserven, welcher bei einer verlängerten Ischämiedauer zu beobachten ist und den physiologischen Prozessen des Rigor mortis folgt, für die Entstehung von Kontrakturen verantwortlich gemacht werden kann (46, 47). Zum anderen wird ein kalziumabhängiger ATP-hydrolysierender Kreuzbrückenzyklus diskutiert (48, 49). In experimentellen Studien ist der Prozess einer ischämischen Kontraktur allgemein als ein Anstieg der Ruhespannung der Wand des linken Ventrikels bei konstantem luminalen Volumen definiert (49). Kingsley und Kollegen erweitern ihre Definition ischämischer Kontrakturen als einen Anstieg des LVP  $> 2$  mmHg des ischämischen Ruhedruckes. Zusätzlich definieren sie einen Anstieg von  $> 2$  mmHg/min als sicheres Kriterium für den Beginn ischämischer Kontrakturen (50). Es wird davon ausgegangen, dass ischämische Kontrakturen entstehen, wenn es zu einer Erschöpfung der ATP-Reserven kommt und die anaerobe Glykolyse erliegt (50). Hearse und Kollegen gehen davon aus, dass ATP-Konzentrationen  $< 12$  mmol/g Trockenmasse mit dem Beginn von Kontrakturen assoziiert sind (46). Kingsley

## Einleitung

und Kollegen konnten hingegen lediglich zeigen, dass ein Zusammenhang mit dem Absinken der ATP Konzentration besteht, nicht jedoch ein spezifischer Schwellenwert das Auftreten von Kontrakturen begünstigt (50). Zusätzlich konnte durch Humphrey und Kollegen dargelegt werden, dass die Kontraktionskraft während ischämischer Kontrakturen mit dem entstehenden Reperfusiondefekt korreliert. Je deutlicher die Kontrakturen ausgeprägt sind, desto stärker werden Gefäßstrukturen komprimiert. Dieses hat den sogenannten „no-reflow“ Effekt zur Folge. Mittels Fluoreszinperfusion konnte diese Arbeitsgruppe zeigen, dass bei höheren Kontraktionskräften größere Areale nicht mehr perfundiert werden konnten. Zuerst tritt das „no-reflow“ Phänomen im Bereich des Lumens des linken Ventrikels auf. Von dort findet eine radiäre Ausbreitung bis hin zur Ventrikelwand statt. Der rechte Ventrikel sowie das subepikardiale Drittel des linken Ventrikels sind seltener betroffen (49). Bereits kurz nach der Induktion einer globalen Ischämie kommt es zu einem Rückgang oxidativer Prozesse und somit auch der ATP-Produktion. Die Kontraktilität stagniert. Dennoch übersteigt der Energiebedarf der Zellen die Zufuhr an ATP. ATP wird in diesem Zustand hauptsächlich durch anaerobe Glykolyse und endogenes Glykogen zur Verfügung gestellt. Anhaltende kontraktile Aktivität während den ersten Minuten der Ischämie, anabole und katabole Prozesse der Zellen sowie die Aufrechterhaltung von transmembranen Ionengradienten

sind maßgeblich am ATP-Verbrauch beteiligt (46). Einige Studien konnten zeigen, dass sowohl der Beginn des Auftretens ischämischer Kontraktoren sowie der maximal entwickelte Ruhe- druck stark vom Perfusionsmedium abhängig sind (46, 49). Kalziumfreie bzw. Perfusionsmedien mit wenig Kalzium führen zum späteren Auftreten ischämischer Kontraktoren (46) und niedrigeren Plateauwerten (49).

### 1.3 Reperfusion

Nicht nur die Ischämie ist mit Myokardschädigungen assoziiert, sondern auch die Reperfusion. Diese beschleunigt das Auftreten von Myokardschädigungen und verursacht auch eigenständig myokardiale Verletzungen. Aufgrund dieser Tatsache bezeichnen Braunwald und Kloner die Reperfusion als „double edged sword“ (51). In der Klinik sind Reperfusion assoziierte Verletzungen nach der Revaskularisation durch das Auftreten vom sogenannten myocardial stunning, Reperfusionsarrhythmien, Myozytentod und Funktionsstörungen des Endothels, welche das no-reflow Phänomen einschließen, charakterisiert (52).

Als myocardial stunning bezeichnet man laut Braunwald und Kloner eine verlängerte postischämische Funktionsstörung des vorher ischämischen Gewebes, welche auch nach der Reperfusion

## Einleitung

persistiert aber ohne irreversible Myokardschädigungen oder Nekrosen auftritt (53). Dieser Prozess wurde erstmals 1975 von Heyndrickx et. al. beschrieben (54) und zählt heute zu den am besten etablierten Reperfusionsschäden (55). Laut Kloner und Kollegen ist „myocardial stunning“ ein bedeutender Faktor für die Entwicklung von ischämischen Kardiomyopathien. Eine wiederholende Episode von Ischämie und Reperfusion kann hingegen zu Herzversagen führen (55).

Eine weitere klinische Konsequenz der Reperfusion stellen Arrhythmien dar. Diese können potenziell tödlichen verlaufen (56). Am häufigsten treten akzelerierte idioventrikuläre Rhythmen auf (57). Die ventrikuläre Tachykardie und Kammerflimmern stellen hingegen die häufigsten Ursachen für plötzlichen Tod dar (56, 58). Allgemein wird angenommen, dass freie Sauerstoffradikale maßgeblich an der Entstehung von Reperfusion bedingten ventrikulären Arrhythmien beteiligt sind (59, 60).

In der frühen Phase (Minuten) der Reperfusion entwickeln Kardiomyozyten aufgrund von Nekrosen sogenannte Kontraktionsbanden. Im weiteren Verlauf der Reperfusion (Minuten bis Stunden) können zahlreiche weitere Ursachen entweder durch Nekrose oder Apoptose zum Zelltod führen (61).

## Einleitung

Als endotheliale Funktionsstörung bezeichnet man eine beeinträchtigte endothel-abhängige Vasodilatation während die vaso-konstriktiven Prozesse verstärkt ablaufen. Eine gesteigerte Freisetzung von Vasokonstriktoren wie Endothelin 1 und freien Sauerstoffradikalen führen zu einer verstärkten Koronargefäßkonstriktion und somit zu einer Reduktion des Blutflusses. Zusätzlich kommt es im Zuge der Reperfusion zur Aktivierung von Thrombozyten und neutrophilen Granulozyten. Die Aktivierung der Thrombozyten führt zur Freisetzung von Plättchenprodukten wie zum Beispiel Thromboxan A<sub>2</sub> und Serotoninen (62). Diese Produkte verstärken mikrozirkulatorische Spasmen, führen zu mikrovaskulärer Okklusionen, Thrombosebildung und verlangsamen den koronaren Blutfluss (52). Funktionsstörungen des Endothels treten schon in der frühen Phase der Reperfusion in Erscheinung und bleiben über lange Zeiten bestehen (63). Bereits während der ersten 2,5 - 5 Minuten erleidet das Endothel Funktionsstörungen und Stickstoffmonoxid (NO) wird vermindert freigesetzt. Es wird angenommen, dass die verminderte NO Freisetzung mit der Bildung von Superoxidradikalen in Verbindung steht. Diese werden während der abrupten Reoxygenierung im Zuge der Reperfusion gebildet (64). Die freien Radikale reagieren mit dem vom Endothel freigesetzten NO und bilden Peroxynitrit. Durch diesen Vorgang kommt es zu einer Reduktion der Bioverfügbarkeit von NO und somit zu einer Verminderung der

## Einleitung

Endothel-abhängigen Vasodilatation (65). NO besitzt einige kardioprotektive Eigenschaften. Es hemmt die Thrombozytenaktivierung (66) und vermindert die Anheftung der neutrophilen Granulozyten sowie deren Aktivierung (67). Zusätzlich kann NO eine Bereinigung von Superoxidradikalen bewirken (68).

Nach ungefähr 20 Minuten der Reperfusion kommt es zu einer Steigerung der Adhäsion und Aktivierung der neutrophilen Granulozyten (69). Diese migrieren ins reperfundierte Gewebe und setzen Zytokine, Protease, Leukotriene und Sauerstoffradikale frei (52).

Mikrovaskuläre Funktionsstörungen sind eine Kombination aus endothelialen Funktionsstörungen, mikrovaskulären Obstruktionen, Ödemen und oxidativem Stress. In Fällen mit stark ausgeprägter mikrovaskulärer Funktionsstörung kann es zum zuvor beschriebenen „no-reflow“ Phänomen kommen (52).

Die pathophysiologischen Mechanismen von Ischämie und Reperfusion sind bis heute nicht vollständig geklärt. Es wird jedoch angenommen, dass ein übermäßiger Gehalt an freien Sauerstoffradikalen (70) und eine Anreicherung von Kalziumionen im Intrazellularraum maßgeblich an der Entstehung von Reperfusionsschäden beteiligt sind (71).

## Einleitung

Als freie Radikale werden Moleküle oder Fragmente von Molekülen bezeichnet, die in ihrem äußeren Ring ein oder mehrere ungepaarte Elektronen besitzen (72). Durch das ungepaarte Elektron sind diese Moleküle sehr instabil und hochreaktiv (52). Im Herzen können Sauerstoffradikale auf unterschiedlichen Wegen erzeugt werden. Zum einen besteht die Möglichkeit der Entstehung durch die mitochondriale Atmungskette, der Freisetzung durch aktivierte neutrophile Granulozyten und in seltenen Fällen durch Xanthin-Oxidase-Aktivität (52). Unter physiologischen Bedingungen besteht ein Gleichgewicht zwischen der Radikalbildung und dem Radikalabbau. Wenn körpereigene Schutzsysteme bspw. antioxidative Vitamine oder Enzyme versagen oder eine vermehrte Freisetzung von Sauerstoffradikalen auftritt, entstehen radikalbedingte Schädigungen, welche auch als oxidativer Stress bezeichnet werden (73). Veränderungen der Zellmembranproteine durch die Reaktion mit freien Radikalen spielen eine bedeutende Rolle in der Entstehung von Reperfusionsschäden. Hohe Konzentrationen an freien Sauerstoffradikalen führen zu einem Zusammenbruch der endogenen antioxidativen Kapazitäten. Dieses bedingt eine Peroxidation der Lipidmembranen und somit einen Verlust der Membranintegrität, welcher in Nekrosen und Zelltod resultiert (74). Es ist wichtig anzumerken, dass die Lipidperoxidation ein Vorgang ist, welcher ausschließlich Reperfusion und nicht Ischämie assoziiert auftritt (75).

Des Weiteren spielt eine Verschiebung der intrazellulären Kalziumkonzentration eine bedeutende Rolle in der Entstehung von Reperfusionsverletzungen (76). Sowohl Ischämie als auch Reperfusion stehen in Verbindung mit einer Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration. Durch eine intrazelluläre Natriumanreicherung dringt durch die L-Typ Kalziumkanäle vermehrt Kalzium in den intrazellulären Raum ein. Zusätzlich wird durch eine Erschöpfung der ATP-Reserven die kalziumbindende Seite der Glykokalyx zerstört, was den Eintritt in die Myozyten ebenfalls erleichtert. Ebenso wie in der Ischämie kann das Gewebe auch in den ersten Minuten der Reperfusion besonders durch Kontrakturen geschädigt werden. Auch hier kann es zur Ausbildung eines „stone-heart“ kommen (45).

### 1.4 Biomarker kardialer Schädigung

In den letzten Jahren hat die Diagnostik kardialer Biomarker stark an Bedeutung gewonnen. Es gibt verschiedene Biomarker, welche Rückschlüsse auf das Ausmaß kardialer Schädigungen ermöglichen.

Troponin I (cTnI) und Troponin T (cTnT) zählen zu den Bestandteilen des kontraktiven Apparates der myokardialen Zellen. Ihre



## Einleitung

Freisetzung erfolgt fast ausschließlich im Herzen (77, 78). Troponin I und T sind die am häufigsten empfohlenen Biomarker für die Diagnostik von akuten Myokardschädigungen und Myokardinfarkten (78-80). Der Troponin-Protein-Komplex befindet sich an den dünnen Filamenten des kontraktiven Apparates der quergestreiften Muskulatur und besteht aus drei verschiedenen Proteinen, die durch unterschiedliche Gene codiert werden (81). Die wichtigste Funktion des Troponin-Komplexes liegt in der Regulation der Kontraktion des Sarkomers, als Antwort auf zytosolische Kalziumkonzentrationen und Proteinphosphorylierung. Demnach spielt Troponin eine wichtige Rolle in der Regulation von Erregung und Kontraktion im Herzen (77). Kardiales Troponin I ist von großer Bedeutung für die Muskelkontraktion. Es bindet Kalzium und aktiviert somit die Querbrückenbildung zwischen dünnen und dicken Filamenten. Kardiales Troponin T interagiert sowohl mit Troponin I und C als auch mit Tropomyosin und heftet dadurch den Troponin-Komplex an die dünnen Myofilamente an. Troponin C hingegen interagiert mit Kalziumionen, was eine Konformationsänderung bedingt (77). Als Folge der Ischämie kommt es zu einer Proteolyse von Troponin I und T (82, 83).

Auch wenn cTnI und cTnT Marker für myokardiale Schädigungen sind, können nur klinische Symptome und weitere Diagnostik die

Ätiologie der erhöhten Werte bekräftigen (77). Durch die Forschung der letzten Jahre erreichten Troponin-Komplex Testverfahren immer bessere Sensitivitäten. Aus diesem Grund ist es von großer Bedeutung zwischen akuten und chronischen myokardialen Schäden zu differenzieren. Hierfür ist es sinnvoll Verlaufsblutproben mit einem Abstand von 3-6 Stunden zu untersuchen (84). Im Falle eines akuten Prozesses ergibt sich ein Anstieg von Troponin, während bei chronischen Prozessen meist gleichbleibende Werte ermittelt werden können (77). Die Verwendung von sensitiveren Testverfahren ermöglicht eine frühere und akkuratere Diagnose des akuten Myokardinfarkt (85, 86). Höhere cTn Werte werden mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von kardialen Events während der Kurz- und Langzeitkontrollen assoziiert (87, 88). Es wird davon ausgegangen, dass cTnI und cTnT eine vergleichbare prognostische Aussagekraft besitzen. Bei der terminalen Niereninsuffizienz ist die prognostische Aussagekraft von cTnI und cTnT jedoch unterschiedlich (88-90). Bereits 4-8 Stunden nach der myokardialen Schädigung kommt es zu einem Anstieg der cTnI und cTnT Konzentrationen im Blut. Nach 12-24 Stunden erreichen diese ihr Maximum (91, 92). CTnT bleibt für ca. zwei Wochen erhöht, während die Erhöhung von cTnI nur 5-7 Tage anhält (93).

## Einleitung

Auch in experimentellen Studien an isolierten Rattenherzen im Langendorff-Modell konnte gezeigt werden, dass cTnT ein zuverlässiger Marker für myokardiale Schädigungen ist und eine Evaluierung des Ausmaßes der Zellschädigung ermöglicht (94-97). Remppis und Kollegen konnten zusätzlich zeigen, dass eine Verlängerung der Ischämiedauer eine kontinuierliche Freisetzung von cTnT bedingt. Dies geht darauf zurück, dass cTnT sowohl frei im Zytosol als auch an Myofibrillen gebunden vorliegt. Bei einer Membranschädigung kommt es zuerst zu einer Freisetzung des ungebundenen Pools, während bei längerer Schädigung durch Zerstörungen der Myofibrillen der gebundene Pool freigesetzt wird. Diese Ergebnisse können die biphasischen Serumkonzentrationsschwankungen von cTnT erklären (96). Ähnlich wie cTnT hat sich auch cTnl als diagnostischer Marker für myokardiale Schädigungen in experimentellen Studien an isolierten Rattenherzen bewährt (98, 99). Chocron und Kollegen konnten zeigen, dass cTnl linear zur Ischämiedauer ansteigt. Ein früher Anstieg der Konzentration ist zusätzlich mit einem größeren Ausmaß myokardialer Schädigung assoziiert (99).

Neben der Möglichkeit der Bestimmung von cTnl und cTnT existieren noch zahlreiche weitere Biomarker für kardiale Schädigung. Eine zusätzliche weit verbreitete diagnostische Möglichkeit besteht in der Bestimmung der Creatinkinase-Konzentrationen

(CK-MB ). Wie auch cTnI und cTnT ist eine erhöhte Creatin-kinase-Konzentration mit einer schlechteren Langzeitprognose assoziiert (100). Die CK-MB ist ein herzspezifisches Enzym (101), welches nur bei myokardialen Zelltod und nicht bei reversibler Zellschädigung freigesetzt wird (102). Ein Anstieg der CK-MB tritt etwa 4-8 Stunden nach den ersten Brustschmerzsymptomen auf (102). Die Aussagekraft dieses Enzymes ist besonders für geringgradige Myokardinfarkte nicht präzise genug (103).

Myoglobin stellt einen weiteren Marker früher myokardialer Schädigung dar. Jedoch ist dieser wenig spezifisch und wird aufgrund dessen nur in Verbindung mit anderen Biomarkern oder EKG Befunden interpretiert (103). Copeptin, Heart-type fatty acid binding protein (H-FABP), B-type natriuretic peptide (BNP) und N-Terminal fragment of pro-BNP (NT-proBNP), verschiedene Micro RNAs und hochsensitive Troponin I- und T-Messverfahren stellen die Zukunft der Biomarkerdiagnostik dar (86, 103-107).

### 1.5 Therapie

Für die Therapie eines Myokardinfarktes stehen je nach Ausmaß und Pathophysiologie verschiedene Therapieoptionen zur Verfü-

gung. Die Therapie kann medikamentös, interventionell oder chirurgisch erfolgen (2). Für die Behandlung eines akuten Myokardinfarktes stehen zwei invasive Optionen zur Verfügung. Die perkutane Koronarintervention (PCI) und die Implantation eines arteriellen Bypasses (CABG) (3). Der wesentliche Unterschied der beiden Prozeduren liegt in der Revaskularisierungsstrategie.

Im Jahre 1964 wurde zum ersten Mal eine Implantation eines arteriellen Bypasses durchgeführt. Heute ist CABG die am häufigsten durchgeführte kardiale Prozedur und wurde über die Jahre einer stetigen Weiterentwicklung unterzogen (108). Seit Beginn der Bypass Implantation wurde diese unter Kardio-Pulmonaler-Umgehung (CPB) mithilfe von Kardioplegie durchgeführt (109, 110). Diese Methode wird auch als on-pump CABG bezeichnet (111). Sie war lange Zeit mit einer Verbesserung ischämischer Symptome und einer verlängerten Überlebenszeit assoziiert (112-114). Manchmal wird diese Methode jedoch mit einer höheren Inzidenz des Auftretens von systemischen Entzündungsreaktionen und Störungen der Koagulation, welche zu Schäden an Endorganen führen können, in Verbindung gebracht (115). Über die letzten Jahre hat die Durchführung der off-pump CABG Variante an Bedeutung gewonnen. Diese Prozedur wird ohne CPB durchgeführt. Ziel dieser Strategieänderung war es die Nebenwirkungen sowie die Morbidität und Mortalität, welche mit der

Verwendung der Herz-Lungen-Maschine einhergehen, zu reduzieren (116-118). Im Gegensatz dazu wurde die off-pump Methode bezüglich der schwierigeren Durchführung von präzisen Koronargefäßanastomosen in einem blutgefüllten und nicht bewegungslosen Operationsfeld, der eventuell schlechteren Durchgängigkeit der Transplantate und der schlechteren Langzeiterfolge hinterfragt (119, 120).

### 1.6 Kardioplegie

Als Kardioplegie bezeichnet man einen künstlich induzierten reversiblen Herzstillstand bei Operationen am offenen Herzen (121). Durch den Einsatz von Kardioplegie soll eine kardioprotektive Wirkung erzielt werden. Die Myokardfunktion soll geschützt werden, während ein blutleeres und unbewegtes Operationsfeld geschaffen wird (5). Bretschneider et al. charakterisiert Kardioplegie durch vier Determinanten (122-124):

1. Energiebedarf
2. Energiereserve
3. Energiebereitstellung
4. Energienutzung

Nach dieser Charakterisierung ist die optimale Kardioprotektion von der Temperatur des Organes, der Bereitstellung anaerober Energiereserven, der Pufferkapazität der kardioplegischen Lösung und der Qualität des Mediums abhängig (122).

### 1.7 Geschichtliche Aspekte

Im Laufe der Zeit unterlagen die Mechanismen der Kardioprotektion einem starken Wandel (125). Schon früh war bekannt, dass durch Ischämie, welche mit einer Depletion der ATP Reserven des Myokards verbunden ist, ein Herzstillstand induziert werden kann (125). Als Folge traten jedoch Nekrosen, Hypo-Kontraktibilität (125) und das sogenannte Steinherz auf (45). Je länger die Ischämie aufrecht erhalten wird, desto deutlicher sind die zellulären und molekularen Veränderungen, welche unter Umständen zum Zelltod führen können (126).

1950 führte Bigelow mit der Hypothermie die erste Form der Kardioprotektion ein (127). Mit seiner Studie wollte Bigelow Erkenntnisse über die Physiologie des kardiovaskulären Systems und über den Mechanismus des Todes bei kalten Körpertemperaturen gewinnen. Bereits in früheren Studien konnte er belegen, dass der Sauerstoffbedarf bei Körpertemperaturen von 20 °C nur 15 % des normalen Sauerstoffkonsums beträgt (128). Zu dieser

## Einleitung

Zeit war allgemein bekannt, dass Hypothermie ein protektiver Mechanismus ist, welcher den Sauerstoffbedarf der Organe und teilweise auch des Gehirns reduziert (126).

1952 wurde die erste Operation an offenen Hundeherzen unter Verwendung von systemischer Hypothermie (28 °C) und kurzem zirkulatorischem Stillstand (6 min) durchgeführt (129).

Im Jahre 1955 führte Melrose das erste chemische kardioplegische Agens ein (130). Er injizierte eine Infusionslösung mit einem hohen Kaliumcitratgehalt (77 mmol/L) mit Blut gemischt in die Koronararterie. Der hohe Kaliumgehalt dieser Lösung verursacht eine Depolarisation der Zellmembran. Diese Depolarisation verhindert, dass Aktionspotentiale ausgebildet werden und führt zu einem diastolischen Herzstillstand. Die Wirkung dieser Lösung ist durch den „wash-out-Effekt“ schnell reversibel. Schon bald wurde angenommen, dass Kaliumcitrat fokale myokardiale Nekrosen induziert und somit den Tod vieler Patienten herbeiführte. Aus diesem Grund wurde die zuvor vielversprechende Lösung über einen Zeitraum von fast 20 Jahren nicht mehr verwendet. Chirurgen benutzten eine Vielzahl von Techniken, um das Herz während der Ischämie zu schützen. Zu diesen zählten: kontinuierliche oder intermittierende normotherme Perfusion, elektrisch induziertes Flimmern oder Hypothermie (126).



## Einleitung

Eine weitere Option eines pharmakologischen Herzstillstandes wurde von deutschen Chirurgen und Physiologen durch die Verwendung der von Bretschneider 1964 entwickelten Kardioplegic-Lösung, welche heutzutage auch als HTK-Lösung bezeichnet wird, beeinflusst (126). Die Lösung ist natriumarm, kalziumfrei und enthält Procain (131). Procain fungiert als Natrium-Kanal-Blocker. Der Herzstillstand wird durch eine Polarisation der Zellmembran ausgelöst. Die Lösung wurde routinemäßig eingesetzt und konnte erhebliche Erfolge erzielen (132). Die Vorteile der Kardioplegie nach Bretschneider wurden jedoch erst mit späteren Publikationen bekannt (133).

In Amerika und England wurden Mitte der 1970er Kardioplegic-Lösungen entwickelt, welche dem extrazellulären Ionengehalt nachempfunden waren. Sie hatten moderat erhöhte Kaliumchloridkonzentrationen (134, 135).

Tyers et al überarbeitete 1975 die von Melrose veröffentlichte Kardioplegie. Es konnte nicht belegt werden, dass die fokalen Nekrosen eher durch hohe Kaliumcitratkonzentrationen als durch hohe Kaliumkonzentrationen ausgelöst wurden (136).

David Hearse und Mark Braimbridge entwickelten die sogenannte St. Thomas' Hospital Kardioplegie (126). Diese Lösung

## Einleitung

besteht aus Kaliumkonzentrationen von 20 oder 16 mmol/L, erhöhten Magnesiumkonzentrationen von 16 mmol/L und normalen ionisierten Kalziumkonzentrationen (137, 138). Laut Bambridge et al. wurde diese Form der Kardioplegie 1975 zum ersten Mal verwendet (139). Aus einer Studie von Robinson und Kollegen aus dem Jahr 1995, in welcher praktizierende Herzchirurgen zu der von ihnen verwendeten Kardioplegiemethoden befragt wurden, geht hervor, dass die St. Thomas Hospital Kardioplegie in den Jahren der Umfrage (1991-1992) die in Amerika am häufigsten verwendete kristalloide Kardioplegielösung war (140).

Buckberg entwickelte mit seiner Forschungsgruppe eine Kardioplegielösung auf Blutbasis (141, 142). Die neue blutbasierte Kardioplegielösung sollte viele Vorteile bieten. Die Vor- und Nachteile der Blutkardioplegie gegenüber der kristalloiden Kardioplegie wurden bis heute in einigen experimentellen und klinischen Studien herausgearbeitet (13, 143, 144).

Heutzutage existieren zahlreiche verschiedene Kardioplegieoptionen. Bis heute konnte jedoch keine uneingeschränkt empfehlenswerte Möglichkeit der Kardioprotektion entwickelt werden. Eine optimale Kardioplegie sollte folgende Kriterien erfüllen (126):

## Einleitung

1. Herzstillstand: Ein schneller diastolischer Herzstillstand ist erforderlich, um das Myokard zu entspannen und den ATP-Verbrauch der Zellen zu reduzieren.
2. Myokard-Protektion: Die protektiven Eigenschaften sollen dazu beitragen den Eintritt irreversibler Schädigungen zu verzögern, welche durch Ischämie herbeigeführt werden. Außerdem soll das Ausmaß des Schadens durch Reperfusion limitiert werden.
3. Reversibilität: Der Herzstillstand soll schnell und einfach durch Auswaschung reversibel sein, damit das Herz ohne Verzögerung seine Tätigkeit wieder aufnehmen kann und eine schnelle Entwöhnung vom CPB möglich ist.
4. Toxizität: Das kardioplegische Reagenz soll keine toxischen Effekte zeigen. Weder auf das Herz noch auf andere Organsysteme.

Aufgrund der Vielzahl von kommerziellen und „homemade“ Kardioplegielösungen, der unterschiedlichen Arten der Verabreichung (warm, kalt, tepid, retrograd, anterograd, Kombination aus anterograd und retrograd, single shot, intermittierend oder kontinuierlich), der zugrunde liegenden kardialen Pathologie und der Pathophysiologie der einzelnen Erkrankungen, ist ein Vergleich der verfügbaren Kardioplegielösungen äußerst schwierig (145). Die Entwicklung einer optimalen Kardioplegie beschäftigt die

Forschung, wie oben aufgezeigt, schon seit Jahrzehnten. Zum jetzigen Erkenntnisstand der Autorin gibt es noch kein kardioplegisches Agens, welches alle oben aufgeführten Kriterien erfüllt. Es bedarf weiterer klinischer und experimenteller Studien.

### 1.8 Ablauf der Herzkontraktion

Um die unterschiedlichen Wirkungsmechanismen der Kardioplegie zu verstehen, ist es essenziell sich die physiologischen Aspekte der Herzkontraktion ins Gedächtnis zu rufen.

Die Zellen des Herzens besitzen, wie alle Zellen des Körpers, ein elektrisches Membranpotential. Dieses Membranpotential wird maßgeblich durch die intra- und extrazellulären Konzentrationen von Kalium, Natrium und Kalzium bestimmt. Von diesen drei Ionen ist Kalium das wichtigste für die Aufrechterhaltung des Ruhepotentials (146). Als Ruhepotential bezeichnet man das Membranpotential einer nicht erregten Muskel- oder Nervenzelle, welches maßgeblich durch Kaliumionen bestimmt wird, da diese im Ruhezustand leicht passieren können (121). Kardiomyozyten besitzen ein Ruhepotential von -90 mV. Die Konzentration von Kalium ist im intrazellulären Raum höher als im extrazellulären Raum. Aus diesem Grund folgt Kalium dem Konzentrationsgradienten und diffundiert aus der Zelle. Natrium und Kalzium

## Einleitung

verhalten sich entgegengesetzt (146). Wenn die chemische und elektrische Kraft gleich groß sind, fließen keine Ionen mehr durch die Membran. Diesen Zustand nennt man Nernst- oder Gleichgewichtspotential (147). Das Gleichgewichtspotential für Kalium bei 37 °C liegt bei -96mV und das für Natrium bei 53 mV (146). Da das Ruhemembranpotential der Kardiomyozyten bei -90 mV liegt und das Gleichgewichtspotential von Kalium -96 mV umfasst, gibt es auch während der Ruhephase der Kardiomyozyten einen permanenten Kaliumausstrom aus der Zelle. Da die Zellmembran zusätzlich eine höhere Permeabilität für Kalium aufweist, ist dieses maßgeblich an der Aufrechterhaltung des Ruhemembranpotentials beteiligt (146).

Am Herzen unterscheidet man zwei verschiedene Formen von Aktionspotentialen. Schrittmacher- und Nicht-Schrittmacheraktionspotentiale. Schrittmacheraktionspotentiale werden durch spontane Depolarisation ausgelöst, während Nicht-Schrittmacheraktionspotentiale durch Depolarisation der benachbarten Zellen entstehen. Im Gegensatz zu Aktionspotentialen in der Skelettmuskulatur dauert ein Aktionspotential in den Kardiomyozyten nur 200 bis 400 Millisekunden (146).

Aktionspotentiale der Nicht-Schrittmacherzellen lassen sich nach Klambunde folgendermaßen beschreiben: Sie sind in fünf

## Einleitung

Phasen einzuteilen. Die erste Phase wird als Phase null beschrieben. Bei einer schnellen Depolarisation von  $-90\text{ mV}$  auf  $-70\text{ mV}$ , ausgelöst durch Erregung einer benachbarten Zelle, werden spannungsabhängige schnelle Natriumkanäle geöffnet. Zusätzlich sinkt der Ausstrom von Kalium. In der nachfolgenden Phase eins kommt es zu einer initialen Repolarisation. Diese wird durch die Öffnung von speziellen Kaliumkanälen und die Inaktivierung der Natriumkanäle erreicht. Durch den langsamen Einstrom von Kalziumionen wird die Repolarisation verlangsamt und es kommt zu einer Plateauphase (Phase zwei). Der langsame Kalziumeinstrom erfolgt durch L-Typ Kalziumkanäle, welche ab einem Membranpotential von  $-40\text{ mV}$  geöffnet werden. Diese Art der Kalziumkanäle bleibt besonders lange geöffnet. In Phase drei kommt es zu einer Repolarisation durch die verzögerte Öffnung von Kaliumkanälen. Während den Phasen null, eins, zwei, und teilweise auch drei, ist die Zelle in einer absoluten Refraktärzeit (Phase vier), was bedeutet, dass eine erneute Stimulation in dieser Zeit kein neues Aktionspotential zur Folge haben kann. Dieser Mechanismus dient dem Schutz des Herzens. Durch die Limitation der Aktionspotentialfrequenz bekommt das Herz ausreichend Zeit zur Regeneration. Dieses wiederum ermöglicht dem Herzen eine ausreichende Füllung in der Diastole und einen angemessenen Auswurf in der Systole. Am Ende der absoluten Refraktärzeit folgt eine relative Refraktärperiode. In dieser Phase

## Einleitung

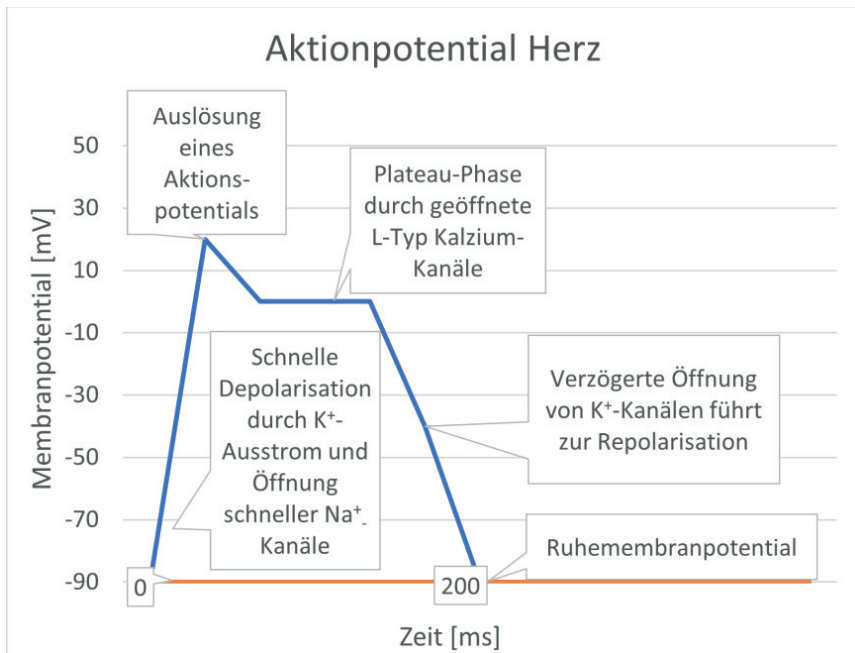
können nur ausreichend starke Stimuli eine Depolarisation der Zellen bewirken (146).

Laut Klabunde besteht der Unterschied zu Schrittmacherzellen im Wesentlichen in der Abwesenheit eines echten Ruhemembranpotentials. Die Depolarisation wird bei diesen Zellen nicht durch einen Natriumeinstrom erreicht, sondern durch einen Einstrom von Kalzium. Schrittmacherzellen depolarisieren im Vergleich zu nicht taktgebenden Kardiomyozyten sehr langsam. Aus diesem Grund werden sie oft auch als langsame Antwort bezeichnet (146).

Die Kontraktion, auch Inotropie genannt, wird maßgeblich durch die kalziumassoziierten Prozesse gesteuert. Klabunde beschreibt die Abläufe folgendermaßen: Der Kalziumeinstrom während der Depolarisation triggert die Kalziumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum (SR). Kalzium bindet an TN-C. Diese Bindung wird zum einen durch die Kalziumkonzentration und zum anderen durch die Bindungsaffinität von TN-C beeinflusst. Je höher die intrazelluläre Kalziumkonzentration ist, desto mehr Kalzium wird an TN-C gebunden und desto stärker ist die generierte Kraft zwischen Aktin und Myosin. Azidose, welche bei Hypoxie auftritt, führt zu einer verminderten Bindungsaffinität von TN-C zu Kalzium und damit auch zu einer Reduktion der Kontraktionskraft. Durch die Kalziumbindung ändert sich die Struktur

## Einleitung

des TN-C. Somit kann Myosin an Aktin binden. ATP-Hydrolyse führt zu einer Verkürzung der Sarkomerlänge. Die SERCA Pumpe des sarkoplasmatischen Retikulums führt Kalzium in dieses zurück und reduziert somit den intrazellulären Kalziumgehalt. Die TN-C-Kalziumbindung wird gelöst und Myosin löst sich von Aktin. Für diesen Vorgang ist ATP erforderlich. Das Sarkomer kann somit seine ursprüngliche relaxierte Länge wieder einnehmen (146).



**Abbildung 1:** Ablauf des Aktionspotenzials am Herzen (in Anlehnung an Klabunde, Cardiovascular physiology concepts, 2012)



## 1.9 Kardioplegie Optionen

### 1.9.1 Depolarisierter Herzstillstand

Die am Häufigsten verwendete Methode einen schnellen diastolischen Herzstillstand zu erzeugen ist der Einsatz von erhöhten extrazellulären Kaliumkonzentrationen (meist zwischen 12-25 mmol/L) (135). Diese Methode des herbeigeführten Herzstillstands, mit dem Ziel der Kardioprotektion während der Ischämie, ist seit über 20 Jahren der Goldstandard (148). Eine Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration bedingt eine Depolarisation des Membranpotentials (149). Wenn das Membranpotential Werte um -65 mV erreicht (dafür sind Kaliumkonzentrationen von mindestens 10 mmol/L notwendig) werden spannungsabhängige Natriumkanäle inaktiviert (150). Durch die Blockade der schnellen Natriumkanäle findet keine schnelle Depolarisation statt. Somit kann kein Aktionspotential ausgebildet werden. Dieses resultiert in einem diastolischen Herzstillstand (9). Höhere extrazelluläre Kaliumkonzentrationen führen zu einer weiteren Depolarisation des Membranpotentials (146, 150). Bei einem Membranpotential von ungefähr -40 mV werden die L-Typ Kalziumkanäle geöffnet (146). Der dadurch bedingte Kalziumeinstrom, welcher die Auslösung einer Kontraktion zur Folge hat,

## Einleitung

limitiert die therapeutische Breite von Hyperkaliämie auf Werte zwischen 10 und 30 mmol/L (9). Zusätzlich kann der Kalzium-einstrom zu einer Überladung führen, welche Ischämie- und Re-perfusionsschäden bedingt (151).

Während dem durch Hyperkaliämie eingestellten Membranpotential kommt es weiterhin zu Konzentrationsquotient abhängigen Ionenflüssen, welche sich negativ auf die myokardiale Unversehrtheit auswirken können (126). Bei einem Membranpotential von -60 bis -20 mV erfolgt ein nicht inaktiver Natriumeinstrom (152, 153). Dieser führt zusammen mit der Aktivierung des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschers durch Ischämie induzierte Azidose (154) und Hemmung der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-ase (155) zu einer intrazellulären Natriumanflutung. Eine Erhöhung der intrazellulären Natriumkonzentration führt durch den Mechanismus des  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers, welcher bei Membranpotentialen positiver als -50 mV gegenläufig arbeitet, zu einer Beladung der Kardiomyozyten mit Kalzium (154, 155). Dieser Vorgang bedingt unerwünschte Kontraktionen und resultiert letztendlich im Zelltod (156). Ein weiterer Nachteil hyperkaliämischer Lösungen ist die vasokonstriktive Wirkung. Patienten erleiden Koronararterien-spasmen, die sich durch eine temporäre Erhebung des ST-Seg-mentes im EKG post operationem zeigen (157). Bereits Kalium-

konzentrationen von 10 mM sind mit Endothelschädigungen assoziiert. Diese inkludieren vaskuläre Depolarisation, Entzündung, Anheftung von neutrophilen Granulozyten, undichte Zellverbindungen, Thrombozytenaktivierung und eine beeinträchtigte Gerinnung (158, 159).

### 1.9.2 Polarisierter Herzstillstand

Neben dem depolarisierten Herzstillstand stellt der polarisierte Herzstillstand eine Alternative dar. Bei dieser Methode wird das Membranpotential nahe dem Ruhemembranpotential oder geringfügig negativer eingestellt (148). Das Ruhemembranpotential der Kardiomyozyten liegt bei -90 mV (146). Diese Methode des elektiven Herzstillstands bietet theoretisch viele Vorteile. Die transmembranen Ionenflüsse, speziell Kalzium- und Natriumflüsse sollen reduziert werden, da das zur Aktivierung der jeweiligen Kanäle benötigte Membranpotential nicht erreicht wird (für Natriumkanäle -70 mV und Kalziumkanäle -40 mV (146)) (9, 148). Die Reduktion der Ionenimbancen reduziert laut Chambers et al. den myokardialen Energieverbrauch, da keine Energie aufgewendet werden muss, um das Membranpotential aufrecht zu erhalten (9).

Für die Induktion einer Polarisation/Hypopolarisation stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, welche im Folgenden erläutert werden:

### 1.9.2.1 Natrium-Kanal-Blocker

Natrium-Kanal-Blocker werden schon seit vielen Jahren als kardioplegisches Agens verwendet (135). Durch die Blockade der schnellen Natriumkanäle, bleibt die für die Ausbildung des Aktionspotentials benötigte Depolarisation aus (160). Das Membranpotential wird somit wie oben beschrieben nahe dem Ruhemembranpotential von -90 mV eingestellt (146).

Der Einsatz von Lokalanästhesie stellt eine Möglichkeit zur Blockade der Natriumkanäle dar. Lokalanästhetika wie Lidocain oder Procain werden weitverbreitet entweder alleine oder in Kombination mit anderen kardioplegischen Agens zur Induktion eines Herzstillstandes eingesetzt (161). Procain und Lidocain binden nahe des intrazellulären Endes der Natriumkanäle (160). Diese Bindungslokalisation führt zu einer längeren Aktivität und einer weniger schnellen Reversibilität. Der Einsatz dieser Natriumkanalblocker ist jedoch limitiert durch die hohen Dosen, welche zur Induktion eines Herzstillstandes benötigt werden. Diese

können zu einer Akkumulation des Arzneimittels und seiner Metaboliten im Patienten führen und somit Arrhythmien und neurologische Toxizität bewirken (162). Ein weiteres Problem des Einsatzes von Lidocain besteht in der leber- und nierenabhängigen Eliminierung. Da die Leber- und Nierenfunktion während des kardiopulmonalen Bypasses durch die verminderte Perfusion reduziert sind, kommt es zu deutlich längeren Halbwertszeiten und eventuell zusätzlich zur Akkumulation (162). Die für die alleinige Kardioplegie benötigte Lidocainkonzentration liegt bei 1,4 mM (163). Diese Dosis liegt deutlich über der höchsten, frei von toxischen Nebenwirkungen, definierten Konzentration von 0,03-0,04 mM (164). Diese hohe Toxizität stellt eine starke Limitation für den alleinigen Einsatz als kardioplegische Lösung dar.

### 1.9.2.2 ATP abhängige Kalium-Kanal- Aktivatoren

Kalium-Kanal-Öffner sind eine vielfältige Gruppe pharmakologischer Stoffe, welche gezielt ATP-sensitive Kaliumkanäle öffnen und somit eine Hyperpolarisation, verbunden mit einer Verkürzung der Aktionspotentialdauer, bedingen (165, 166). Auf Grund der Tatsache, dass das myokardiale Ruhemembranpotential (-90 mV) nahe dem Gleichgewichtspotential von Kalium (-96 mV) liegt und die Permeabilität für Kaliumionen deutlich höher als die

## Einleitung

für andere Ionen wie Natrium oder Kalzium ist, führt eine Öffnung der ATP-sensitiven Kaliumkanäle zu einer Hyperpolarisation. Diese Hyperpolarisation ist durch den verstärkten Kalium-einstrom bedingt. Durch diesen Ionenstrom wird das Membranpotential in der Nähe des Gleichgewichtspotentiales von Kalium eingestellt. Das Membranpotential kann keine Werte von ungefähr -70 mV erreichen. Somit können die spannungsabhängigen Natriumkanäle nicht geöffnet werden. Die schnelle Depolarisation bleibt aus und es kommt zu einem diastolischen Herzstillstand (9). Eine Einstellung des Membranpotentials auf Werte des Kaliumgleichgewichtspotentials ist zudem mit einer Reduktion der myokardialen Kontraktilität, mit einer Reduktion der intrazellulären Kalziumkonzentration und dem Erhalt von ATP-Reserven assoziiert (166). Kaliumkanalaktivatoren werden meist in Kombination mit hyperkaliämischer Kardioplegie verwendet. Einige Studien konnten belegen, dass die Zugabe von Kaliumkanalaktivatoren, wie zum Beispiel Nicorandil oder Pinacidil, zu hyperkaliämischen Lösungen einen verbesserten protektiven Effekt, verglichen zu hyperkaliämischen Lösungen ohne Zusatz, haben (167, 168). Der kardioprotektive Effekt von Kaliumkanalöffnern wurde erstmals von Cohen und Kollegen beschrieben (169). Sie fanden heraus, dass durch einen mit Aprikalim induzierten Herzstillstand eine bessere Erholung der Herzen im iso-

lierten Langendorff-Modell erzielt werden konnte als unter Verwendung von reiner Hyperkaliämie (169). Neben den genannten Vorteilen bieten Kaliumkanalöffner den Nachteil des häufigeren Auftretens von postischämischen Arrhythmien (170). Die Halbwertszeit von Pinacidil ist mit zwei Stunden relativ lang (171). Die lange Wirksamkeit zusammen mit dem sehr geringem sicherem Anwendungsbereich (172) und hohen benötigten Dosierungen um einen Herzstillstand zu induzieren (173) führen oft zu hypotensiven und arrhythmischen Effekten in der Entwöhnungsphase vom kardiopulmonalem Bypass. Aufgrund der aufgezeigten Limitation ist der Einsatz von ATP-sensitiven Kaliumkanalaktivatoren in der Klinik als alleiniges kardioplegisches Agens bislang unüblich. Wahrscheinlicher ist jedoch der Einsatz von diesen pharmakologischen Substanzen als Zusatz zu hyperkaliämischen Kardioplegielösungen (126).

### 1.9.2.3 Adenosin

Eine weitere Möglichkeit einen Herzstillstand durch Hyperpolarisation zu erzeugen ist der Einsatz von Adenosin. Im Herzen ist Adenosin am besten bekannt als ein vasoaktives Agens, welches eine koronare Dilatation bedingt. Zusätzlich unterdrückt es

die Sinus- und AV-Knotenaktivität, es reduziert die Vorhofkontraktilität und unterdrückt die Autonomie der Ventrikel (174). Die durch Adenosin erzeugte Hyperpolarisation bezieht sich besonders auf das leitende Gewebe des Herzens (175). Schubert und Kollegen konnten zeigen, dass Adenosin gute kardioprotektive Eigenschaften in Konzentrationen von 10 mmol/L als alleinige Kardioplegie aufweist (176). Es konnte belegt werden, dass Adenosin die Zeit bis zum Eintritt des Herzstillstands verkürzt und einen ebenso positiven Effekt wie hyperkaliämische Lösungen hat (177). Jovanovic und Kollegen konnten herausfinden, dass Adenosin den durch Hyperkaliämie induzierten Kalziueinstrom in die Zelle unterdrückt (178). Diese Erkenntnis macht es interessant für die Kombination mit hyperkaliämischen Lösungen.

### 1.9.3 Einflüsse auf den Kalziumstoffwechsel

Kalzium ist essenziell für die Entwicklung von Kontraktionen. Der Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration hat einen fundamentalen Einfluss auf die Kontraktion der Herzmuskulatur. Die Reduktion des Kalziumflusses verhindert mechanische Kontraktionen und induziert einen diastolischen Herzstillstand (126). Es gibt verschiedene Möglichkeiten in die Kalziummechanismen einzugreifen. Diese werden im Folgenden erläutert.



### 1.9.3.1 Hypokalzämie

Eine Perfusion des Herzens mit kalziumfreier Lösung bedingt, dass kein Kalziumeinstrom durch die L-Typ Kalziumkanäle erfolgen kann. In Folge dessen bleiben Kontraktionen aus und das Herz kommt in der Diastole zum Stillstand (179). Ein Beispiel für eine kalziumfreie Kardioplegie stellt die in den 1960ern entwickelte Bretschneider Kardioplegie dar (131). Der Einsatz von kalziumfreien Lösungen kann jedoch zum sogenannten Kalziumparadox führen (180). Während der Perfusion mit Lösungen ohne Kalzium, kommt es zu einer Anreicherung von Natrium im intrazellulären Raum. Bei der Reperfusion mit kalziumhaltigen Lösungen kommt es durch den  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher zu einem massiven Kalziumeinstrom in die Zelle (179). Dieser Einstrom triggert die Kalziumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum und führt somit zu letalen Konditionen mit Kontraktionen und massiven ultrastrukturellen Schädigungen des Myokards (180). Laut Jynge et al. schützen niedrige Natrium- oder hohe Magnesium-Konzentrationen vor dem Kalziumparadox (181). Die niedrigen Natriumkonzentrationen vermindern den schnellen Natriumeinstrom bei der Initiierung des Aktionspotentials. Das führt dazu, dass das Membranpotential nahe dem Ruhemembranpo-

tential eingestellt wird, was einen polarisierten Stillstand begünstigt (126). Jynge et al. fanden zudem heraus, dass Hypothermie die kardioprotektiven Eigenschaften von kalziumfreier Kardioplegie begünstigt (181). Die Natrium- und Kalziumkonzentration stehen in enger Abhängigkeit und werden besonders durch den  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher beeinflusst. Um einen sicheren kardioprotektiven Effekt erzielen zu können, müssen somit beide Ionenkonzentrationen reduziert werden (126).

### 1.9.4 Kalziumkanalblocker

Eine Blockade der L-Typ Kalziumkanäle führt zu einem reduzierten Kalziumeinstrom. Durch den fehlenden Einstrom findet keine Kalziumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum statt. Die Herzkontraktion wird somit unterdrückt (126). Die Blockade dieser Kalziumkanäle kann durch viele verschiedene Möglichkeiten erzielt werden. Laut Shattock et al. führt eine Erhöhung der extrazellulären Magnesiumkonzentration zu einem Myokardstillstand (182). Es wird angenommen, dass Magnesium Kalzium von den L-Typ Kanälen verdrängt und somit eine kompetitive Hemmung bewirkt (183). Shattock et al. konnten jedoch zeigen, dass die Effekte von Magnesium als Kalziumkanalblocker sehr stark speziesabhängig sind. Das Myokard von Ratten zeigt sich

## Einleitung

als sehr sensitiv während Hasenherzen eher unsensibel auf Magnesiumeinfluss reagieren. Das menschliche Herz stellt eine Zwischenstufe von Ratten- und Hasenherzen dar (182). Aus diesem Grund wird angenommen, dass Magnesium effektiv als Kardioplegie verwendet werden kann. Trotz allem ist es weniger effektiv als der Einsatz von einem hyperkaliämischen Agens und benötigt deutlich höhere Konzentrationen um einen Herzstillstand mit Kardioprotektion zu erzielen (135). Zum heutigen Forschungsstand wird Magnesium eher als Zusatz zu anderen kardioplegischen Lösungen eingesetzt (126), obwohl Studien die kardioprotektive Wirksamkeit bei alleiniger Verwendung in mehreren Dosen bestätigen konnten (184). Als Zusatz zu hyperkaliämischen Kardioplegielösungen können bereits Konzentrationen von 10-20 mmol/L das Myokard vor Kalziumüberladung während Ischämie und Reperfusion schützen (185). Der Einsatz von Magnesium zum Zweck der Kardioprotektion führt zusätzlich zu einem verminderten ATP-Verbrauch und zu einer höheren ATP-Verfügbarkeit (186). Diese metabolischen Vorteile sind laut Steenbergen et al. auf den verminderten Kalziumeinstrom zurückzuführen (187).

Neben Magnesium existieren noch weitere Kalziumkanalblocker wie zum Beispiel Verapamil, Diltiazem und Nifedipine, welche speziell die L-Typ Kalziumkanäle blockieren (188). Diese können

in hohen Konzentrationen als kardioplegische Agens verwendet werden (189). Jedoch zeigen sich unter dem Einsatz dieser pharmakologischen Stoffe verlängert negativ inotrope Effekte. Diese sind durch die hohe Affinität zum L-Typ Kalziumkanal bedingt (190). Sie resultieren zudem in einer verlängerten Erholungsphase mit „low-Output-Syndrom“ (191). Yamamoto et al. konnten zeigen, dass Kalziumkanalblocker unter hypothermen Bedingungen keinen kardioprotektiven Effekt als Zugabe zu hyperkaliämischen Lösungen bewirken können (192). Bei all den limitierenden Eigenschaften wie dem dosisabhängigem Effekt und temperatur- sowie zeitabhängiger Aktivität können Kalziumkanalblocker bislang, trotz ihrer bewiesenen kardioprotektiven Wirkung, während Ischämiephasen, nicht im klinischen Alltag als Kardioplegie verwendet werden (126).

### 1.9.5 Blockade mehrerer zellulärer Ziele

Wie oben beschrieben kann die Blockade von einzelnen Ionenmechanismen erfolgreich einen Herzstillstand mit kardioprotektiven Eigenschaften erzielen. Laut Chambers et al. führt eine synergistische Blockade mit verschiedenen kombinierten Mechanismen zu einer besseren Protektion. Das Ziel der Kombination

ist es die benötigten Konzentrationen zu reduzieren, die Sicherheit der Kardioprotektion zu verbessern, die Toxizität zu reduzieren und die Reversibilität zu verkürzen (126).

### 1.10 Blutkardioplegie

Allgemein können kardioplegische Lösungen in kristalloide und blutbasierte Lösungen unterteilt werden. Wie zuvor bereits beschrieben entwickelten Melrose und Kollegen im Jahr 1955 die erste Kardioplegie auf Blutbasis (130). Jahrelang fand diese jedoch keine Anwendung und wurde erst im Jahre 1977 wieder eingeführt (142). Erst seit ca. 1985 fand sie vermehrt Einsatz in der Klinik. Das Prinzip einer Blutkardioplegie beruht auf der Mischung von oxygeniertem Blut mit einer kristalloiden Lösung. Meist wird hierfür ein Verhältnis von 4:1 angestrebt (193). Initial wurde Blutkardioplegie mit folgenden Vorteilen assoziiert (142):

1. Induktion eines schnellen Herzstillstandes in einem oxygenierten Umfeld.
2. Intermittierende Reoxygenierung mit der Verabreichung der Kardioplegie.

3. Durch die intermittierende Reoxygenierung ist ein Zusatz von anaerobem Substrat wie Glukose oder Insulin nicht erforderlich.
4. Der Einsatz von Vollblut liefert onkotische Bestandteile, welche sonst als Plasmaproteine, Mannitol oder Dextrane ergänzt werden müssen.
5. Die Herstellung der Kardioplegie ist günstiger, da Kosten für die Vorbereitung einer komplexen pharmakologischen Mixtur entfallen.

Befürworter der Blutkardioplegie beschreiben zusätzlich eine bessere Sauerstoffversorgung, eine blutassoziierte Pufferkapazität und die Funktion der Erythrozyten als Radikalfänger (194).

### 1.10.1 Calafiore

Die Kardioplegie nach Calafiore gehört zur Gruppe der Blutkardioplegien. 1994 wurde diese Kardioplegie zum ersten Mal von Calafiore und Kollegen beschrieben (195). Es handelt sich um eine intermittierend verabreichte warme Blutkardioplegie auf Kaliumbasis (195). Im Jahre 1998 ergänzten Caputo und Kollegen die ursprüngliche Blutkardioplegie nach Calafiore um Magnesium (196). Sie konnten zeigen, dass die Laktatkonzentrationen der Gruppen, welche die modifizierte Blutkardioplegie nach

## Einleitung

Calafiore erhielten, deutlich unter denen der magnesiumfreien Gruppen lagen. Diese Ergebnisse erklärten sie durch eine magnesiumabhängige Blockade der L-Typ Kalziumkanäle und folglich eine Unterdrückung des Kalziumeinstroms (196). Während der letzten Jahre kardiovaskulärer Forschung wurden einige klinische und experimentelle Studien durchgeführt, um die kardioprotektiven Eigenschaften der Blutkardioplegie nach Calafiore zu eruieren. Diese erlangte weitreichende Akzeptanz und gilt heute als eine sichere, kostengünstige (11, 197) sowie gut steuerbare Kardioplegielösung (11). Calafiore kann sowohl kalt als auch warm verabreicht werden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass warm verabreichte Calafiore-Lösung unter experimentellen Bedingungen eine bessere kardiale Erholung nach Ischämie-Reperfusion Versuchen sowie eine geringere Inzidenz zum Auftreten zellulärer Ödeme bietet (198). Klinische Studien zeigten zudem, dass die antegrade, intermittierende, warme Blutkardioplegie mit einer geringeren Freisetzung von Biomarkern kardialer Schädigung assoziiert ist als die kalte Verabreichung (197, 199). Postoperativ konnten Fan und Kollegen einen höheren kardialen Index bei Patienten, welche warme Calafiore-Blutkardioplegie erhielten nachweisen (199).

### 1.11 Kristalloide Kardioplegie

Die kristalloiden Kardioplegielösungen werden je nach Zusammensetzung in extra- und intrazelluläre Lösungen unterteilt. Zusätzlich ist eine Einteilung in Abhängigkeit der Oxygenierung in oxygenierte und nicht-oxygenierte Lösungen möglich (193).

#### 1.11.1 Cardioplexol

Cardioplexol wurde ursprünglich für den Einsatz in sogenannten „mini ECCs“ (minimal invasive extrakorporale Zirkulation) entwickelt (14). Das Ziel war es, eine Kardioplegielösung zu schaffen, die den gleichen Prinzipien wie etablierte Standardprozeduren folgt, schneller verabreicht werden kann, in sehr geringen Volumina wirksam ist, eine längere Wirksamkeit aufweist und einen unverzüglichen Herzstillstand induziert (14). Cardioplexol ist eine hyperkaliämische Kardioplegielösung auf Basis einer kristalloiden Lösung. Bereits in niedriger Dosierung und einmalig appliziert erzeugt sie einen sofortigen asystolischen Herzstillstand (17). Laut Tevaearai Stahel und Kollegen bleibt die Wirkung der Initialdosis für 45-60 min bestehen (14). Cardioplexol, hergestellt im Laboratorium Bichsel AG, CH 3800 Interlaken, besteht aus



## Einleitung

zwei Lösungen. Lösung A umfasst 95 ml und enthält: 16,2 mmol Magnesium Heptahydrat, 10 mmol Kaliumchlorid, 29,6 mmol Xylitol, 5 mmol Citronensäure Monohydrat und Wasser zu Injektionszwecken. Lösung B umfasst 5 ml und enthält 1,1 mmol Procain sowie Wasser für Injektionszwecke. Der pH-Wert der Lösung liegt bei 6,0. Es handelt sich um eine hypertone Lösung mit einer Osmolarität von ca. 850 mosmol/l . Es wird im nicht-oxygenierten Zustand verabreicht. Cardioplexol ist in der Schweiz bereits zugelassen und befindet sich zur Zeit in ausgewählten EU Ländern im Zulassungsprozess (14).

Im Inselspital in Bern wird Cardioplexol bereits seit 2008 verwendet. Dort konnten einige Vorteile festgestellt werden:

für die Anwendung wird nur eine eingeschränkte Manipulation benötigt, die Kardioplegie kann vom Chirurgen selbst, schnell und direkt verabreicht werden. Nach Aufhebung der Aorten-Klemmung, erfolgt eine sofortige Eliminierung dieser Lösung. Die größten Vorteile stellen jedoch der sofortige Herzstillstand innerhalb weniger Sekunden und die längere Wirkungsdauer von bis zu 45 min dar. Diese beiden Aspekte führen zu einer maßgeblichen Reduktion der Aorten-Klemmzeiten und somit zu verringerten myokardialen Schädigungen (14).

## Einleitung

Laut Matt und Kollegen resultiert die antegrade Verabreichung von Cardioplexol innerhalb von 10 sec in einem vollständigen Herzstillstand, was auf eine gleichmäßige Verteilung im myokardialen Gewebe schließen lässt. Zusätzlich konnte herausgefunden werden, dass eine einzelne Verabreichung für kurze Eingriffe ausreichend Myokardprotektion gewährleistet und keine weitere Applikation erforderlich ist. Die Messung kardialer Biomarker für Myokardschädigung ergaben niedrige Werte für Troponin T und CK-MB. Dennoch konnte eine Korrelation zwischen der Aorten-Klemmzeit und dem Anstieg kardialer Biomarker bemerkt werden. Patienten mit Aorten-Klemmzeiten über 60 min zeigten Troponin T Level von  $>0,9 \mu\text{g/L}$ . Aus diesem Grund wird angemerkt, dass für längere Prozeduren eine erneute Verabreichung alle 30 min als sinnvoll angesehen wird (15).

Tschopp und Kollegen verglichen in einer Studie die Wirksamkeit von Cardioplexol bei verschiedenen Arten von Koronararterien-erkrankungen. Sie konnten zeigen, dass der Einsatz von Cardioplexol zwar als sicher einzustufen ist, jedoch Unterschiede im Grad der Protektion bei verschiedenen Erkrankungen bestehen (200). Wie bereits von Matt und Kollegen gezeigt kommt auch diese Arbeitsgruppe zu der Schlussfolgerung, dass Cardioplexol, alle 30 Minuten verabreicht, eine sichere Kardioprotektion ermöglicht (15, 200).

Bezüglich der Länge der Wirksamkeit existieren, wie zuvor bereits angedeutet, widersprüchliche Angaben in der Literatur. Laut Kairet et al kann mit der einmaligen Gabe von Cardioplexol ein zuverlässiger Herzstillstand von bis zu 90 Minuten erreicht werden (17). Tevaearai und Kollegen gehen von einer zuverlässigen Wirkung bei einmaliger Applikation von bis zu 45-60 Minuten aus (14). Koechlin und Kollegen setzten in ihrer Studie eine sichere Wirkung von 38 Minuten voraus (201).

### 1.12 Das Langendorff-Modell

Oskar Langendorff erreichte 1895 mit der Entwicklung eines Versuchsaufbaues zur Untersuchung isolierter Herzen einen großen Durchbruch im Bereich der kardiovaskulären Forschung (202). Das wesentliche Prinzip des Langendorff-Modells beruht auf der Aufrechterhaltung der kardialen Aktivität durch eine retrograde Perfusion der Koronararterien mithilfe einer in der Aorta platzierten Kanüle. Als Folge der retrograden Perfusion kommt es zu einem Verschluss der Aortenklappe während der Diastole und der Perfusionsfluss erreicht die Koronargefäße (203). Mit der Erfindung der isolierten Organperfusion im Langendorff-Modell wurde ein sehr gut reproduzierbarer Versuchsaufbau geschaffen. Mit relativ geringem Kosten- und Zeitaufwand können hier

## Einleitung

ein großes Spektrum an biochemischen, physiologischen, morphologischen und pharmakologischen Parametern untersucht werden (204). Nahezu jedes Säugetierherz, aber auch die Herzen von Vögeln oder Fröschen können für diesen Versuchsaufbau verwendet werden (205). Rattenherzen haben jedoch besonders in Blut perfundierten Systemen die größte Relevanz. Die Messung und Aufzeichnung von Druckverhältnissen sind aufgrund der Größe der Herzen verglichen mit Mäuseherzen, diesen deutlich überlegen. Ein wesentlicher Nachteil bei der Verwendung von Rattenherzen besteht in der sehr kurzen Zeit der Aktionspotentiale. Dieser nicht zu vernachlässigende Unterschied zu menschlichen Herzen erschwert eine Übertragbarkeit der Studienergebnisse in die Humanmedizin, besonders bei Rhythmus und Arrhythmie assoziierten Studien (204).

Laut Dhein et al. sind drei Parameter bei der Verwendung des Langendorff-Modells von besonderer Bedeutung (203):

1. Der Koronarfluss/ der Perfusionsdruck
2. Die ventrikuläre Kraft
3. Das Elektrokardiogramm

## Einleitung

Im Wesentlichen werden die druckkonstante- und die flusskonstante Perfusion unterschieden. Der Grundgedanke dieser Perfu-sionsmodelle beruht auf dem Ohm'schen Gesetz des Widerstands. Dieses besagt:

$$R = \frac{\Delta P}{\Phi}$$

(R= Widerstand;  $\Delta P$ = Druck Differenz inflow-outflow;  $\Phi$ = Koronarfluss)

Im Falle des Langendorff-Modells ist der Druck des „outflows“ annähernd 0 und kann somit vernachlässigt werden.  $\Delta P$  entspricht somit dem Perfusionsdruck der Anlage. Da entweder eine fluss- oder druckkonstante Perfusion erfolgen kann muss laut dieser Formel nur die variable Größe gemessen werden, was die Grundlage dieser Perfu-sionsmodelle bildet (203). Zusätzlich zum Ohm'schen Gesetz findet auch das Hagen-Poiseuille Gesetz, zur Berechnung des Flusswiderstandes von Flüssigkeiten, hier Anwendung. Dieses lautet:

$$R = \frac{8\eta l}{\pi r^4}$$

## Einleitung

( $l$  = Länge des Rohres;  $\eta$  = Viskosität einer Flüssigkeit;  $r$  = der Radius des Rohres)

Dhein et al. schreiben in ihrem Buch „practical methods in cardiovascular research“: Eine Veränderung des Durchmessers eines Gefäßes, verursacht durch Vasokonstriktion oder Dilatation, führt zu einer Veränderung des Radius dieses Gefäßes und dadurch auch zu einer Veränderung des Widerstandes, welcher proportional zu

$$\frac{1}{r^4} \text{ ist.}$$

Wenn der Druck konstant gehalten wird, gilt:

$$\frac{\Delta P(\textit{konstant})}{\Phi} \sim l/r^4$$

Der Koronarfluss kann dann gemessen werden, um einen Indikator für  $l/R$  oder  $r$  darzustellen.“ (203). Aus diesen von Dhein et al. beschriebenen Proportionalitäten wird deutlich, dass der Koronarfluss als Indikator für den vorherrschenden Gefäßradius angesehen werden kann und somit zusätzlich Aussagen über den Gefäßwiderstand ermöglicht. Sowohl die flusskonstante als auch die druckkonstante Perfusion bieten Vor- und Nachteile. Flusskonstante Perfusionsmodelle kommen besonders bei blutfreier Perfusion zum Einsatz. Auch wenn eine flusskonstante Perfusion

## Einleitung

gleichbleibende Bedingungen während eines Experimentes liefert und besonders bei low-flow Versuchen sinnvoll ist (206), so werden autoregulatorische Mechanismen, wie die Anpassung an eine schnellere Herzfrequenz oder Herzkraft während Phasen regionaler Ischämie, unterdrückt (204). Bei einer druckkonstanten Perfusion hingegen, kann die Fähigkeit der Autoregulation der Koronargefäßtonus aufrechterhalten bleiben. Dieses ist besonders für Ischämie- und Reperfusionsversuche von großer Bedeutung (207).

Für die Messung des Koronarflusses existieren verschiedene Möglichkeiten. Allgemein werden manuelle und automatische Varianten unterschieden. Als automatische Methoden können elektrische Tropfenzähler, „Condon tipper“ oder als favorisierte Methode elektromagnetische Durchflusssonden verwendet werden. Bei der manuellen Methode erfolgt die Messung durch Auffangen der austretenden Tropfen in einem Messzylinder (203).

Die präferierte Methode für die Erfassung der Aktivität des linken Ventrikels umfasst das Einsetzen eines Latexballons durch die Mitralklappe. Diese Methode ermöglicht eine isovolumetrische Erfassung der Funktion des linken Ventrikels sowie der Herzfrequenz. Der Latexballon ist an einem kurzen starren Katheter befestigt, welcher wiederum mit einem Druckaufnehmer verbunden ist. Der Ballon wird mit Flüssigkeit gefüllt, bis der enddiastolische

## Einleitung

Druck im linken Ventrikel zwischen 8-12 mmHg beträgt (203). Höhere Werte sollten vermieden werden, da ansonsten subendokardiale Ischämien durch Gewebskompressionen entstehen könnten (204).

Durch die Verwendung eines bipolaren Kreislaufes unter Anbringung einer Elektrode am linken Ventrikel und einer zweiten Elektrode am rechten Ventrikel ist die Erfassung eines epikardialen Elektrokardiogramm möglich (203).

In der Mehrzahl der in der der Literatur beschriebenen Versuche wird als Perfusionsmedium eine Bikarbonat-Lösung, welche ursprünglich von Krebs und Henseleit im Jahre 1932 definiert wurde, verwendet (208). Dieses Perfusionsmedium zielt darauf ab die wesentlichen Ionengehalte des Blutes/ Plasmas sowie den dort vorherrschenden pH-Wert von 7,4 bei 37 °C zu imitieren. Weiterhin bestehen die Möglichkeiten einer Blut- bzw. Erythrozytenperfusion. Bei der Blutperfusion kommen Spendertiere der gleichen Tierart als Blutquelle zum Einsatz, während bei der Erythrozytenperfusion auf ein aufgearbeitetes Erythrozytenkonzentrat von Schweinen oder Rindern zurückgegriffen wird (204). Als Vorteile dieser Perfusionsmethode gelten eine verringerte Inzidenz für die Entstehung myokardialer Ödeme, ein näher an physiologischen Werten orientierter Koronarfluss von 2-3 ml/min



## Einleitung

sowie eine stabilere Perfusionsdauer mit lediglich etwa 5 % Einbußen der myokardialen Aktivität pro Stunde, verglichen mit 5-10 %/Stunde bei einer Perfusion mit einem kristalloiden Medium (204). Die Verwendung eines Blutspendetieres der gleichen Tierart birgt das Risiko von negativen immunologischen Reaktionen und ist zudem sehr aufwändig (204).

## 2 Fragestellung

Wie zuvor bereits beschrieben existieren bislang keine experimentellen Studien, welche die kardioprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol genauer untersuchen. Ziel dieser Studie ist es zu untersuchen, ob die kardioprotektiven Eigenschaften einer einmaligen Verabreichung von Cardioplexol ausreichen, um das Herz unter experimentellen Bedingungen zuverlässig vor Ischämie- und Reperfusion-assoziiertes Schädigung zu schützen. Zusätzlich sollen die Auswirkungen einer verlängerten Ischämiedauer von bis zu 90 Minuten unter Verabreichung von Cardioplexol in 30 Minuten Intervallen genauer beleuchtet werden. Abschließend gilt es zu klären, ob Cardioplexol bei einer Ischämiedauer von 90 Minuten eine vergleichbar gute kardioprotektive Wirkung gewährleisten kann wie die etablierte Blutkardioplegie nach Calafiore. Die Bewertung der kardioprotektiven Kapazitäten soll anhand der Herzfunktion, des Herzstoffwechsels und des Ausmaßes ultrastruktureller Schädigungen erfolgen. Mithilfe eines Rattenmodells sollen die protektiven Kapazitäten dieser neuen Kardioplegielösung dargestellt werden.

Diese Arbeit befasst sich mit folgenden Fragestellungen:

## Fragestellung

1. Gibt es Unterschiede innerhalb der kardialen Erholung nach einer 45-minütigen Ischämie unter einmaliger Applikation von Cardioplexol und einer reinen „no-flow“ Ischämie?
2. Wie wirkt sich eine Ischämiedauer von 30-, 60- und 90-Minuten bei einer Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten auf die kardioprotektiven Kapazitäten dieser Lösung aus?
3. Gibt es Unterschiede zwischen einer 90-minütigen Ischämie unter Verwendung von Cardioplexol und der Blutkardioplegie nach Calafiore?

### 3 Material und Methoden

Im Folgenden werden der detaillierte Versuchsaufbau, die Tötung der Ratten sowie die Entnahme der Herzen, die Langendorff-Apparatur, die Datenerhebung, Messverfahren sowie Methoden der statistischen Auswertung thematisiert. Eine Auflistung aller verwendeter Materialien befindet sich im Anhang dieser Arbeit (siehe S. 103 ff.).

#### 3.1 Versuchstiere

Bei dem durchgeführten Versuch handelt es sich um eine anzeigepflichtige Tötung zur Organentnahme (Anzeigenummer der Justus-Liebig-Universität Gießen: 617\_M). Sowohl die Haltung als auch die Handhabung der Tiere erfolgte nach den Vorgaben des deutschen Tierschutzgesetzes und der Tierschutzversuchstierverordnung.

Die verwendeten Versuchstiere sind etwa drei Monate alt. Es handelt sich um männliche unkastrierte Wistar Ratten. Diese werden von der Firma Janvier, CS 4105 Le Genest-Saint Isle, F-53941 Saint. Berthevin Cedex gezüchtet und bezogen. Zum Versuchszeitpunkt wiegen die Tiere  $478,83 \text{ g} \pm 40,85 \text{ g}$ .

Die Ratten werden in der Versuchstierhaltung des Physiologischen Instituts (Justus-Liebig-Universität Gießen FB 11 Medizin) gehalten. Es handelt sich um eine konventionelle Haltung bei Raumtemperaturen von  $22 \pm 2$  °C,  $55 \pm 10$  % relativer Luftfeuchtigkeit, einem Tag-Nacht-Rhythmus von 14 h/10 h (Wechsel 05:00 h und 19:00 h) und einer 22-fachen Luftwechselrate. Die Tiere sind in Zweier-Gruppen in Käfigen mit einer Grundfläche von 1500 cm<sup>2</sup> und den Maßen 480 mm x 374 mm x 210 mm (1500 U EUROSTANDARD Typ IVS, Techniplast, Italien) untergebracht. Ihnen steht Weichholzgranulat als Einstreu zur Verfügung. Als sogenanntes „Cage-Enrichment“ erhalten die Tiere Papp-Röhren als Rückzugsmöglichkeit sowie Beißhölzer zur Unterstützung des Nagetriebes und Zahnabriebes. Die Fütterung der Tiere erfolgt ad libitum. Sie erhalten das Rattenfutter „Altromin 1324 TPF Hal tung sdiät für Ratten und Mäuse“ der Firma Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG. Auch Wasser steht den Tieren ad libitum zur Verfügung. Die Tiere unterliegen regelmäßigen Hygienekontrollen gemäß der FELASA Richtlinien.

### 3.2 Tötung und Organentnahme

## Material und Methoden

Nach einer etwa 30-minütigen Adaptionsphase an die neuen Umweltbedingungen werden die Ratten mithilfe von 1,6 ml Isofluran, welche auf einen Tupfer innerhalb eines Exsikkators aufgebracht werden, narkotisiert. Da der Exsikkator ein Volumen von ungefähr 6 L fasst, entspricht diese Dosierung einer 5 % Isoflurananreicherung. Sobald eine vollständige Bewusstlosigkeit eingetreten ist, welche durch die Abwesenheit des Kornealreflexes sichergestellt wird, erfolgt die Tötung der Tiere durch einen Genickbruch. Die Tiere werden in Bauchlage verbracht. Eine Schere wird unmittelbar hinter dem Os occipitale im Nacken angelegt. Die Tiere werden an der Schwanzbasis im 45° Winkel angehoben. Durch einen kraftvollen und ruckartigen Zug an der Schwanzbasis in kaudo-dorsale Richtung und den Gegendruck mithilfe der Schere im Nacken erfolgt die Tötung. Der Tod wird durch die Palpation der Frakturstelle überprüft und sichergestellt. Im Anschluss wird der Thorax der Tiere eröffnet. Das Herz wird dargestellt, freipräpariert und schließlich folgt die Exstirpation. Nachfolgend wird in ca. 8 °C kalter NaCl -Lösung eine Feinpräparation des Herzens vorgenommen. Nach Abschluss der Präparationsvorgänge erfolgt durch Kanülierung der Aorta eine Insertion in eine blutperfundierte Langendorff-Apparatur.

### 3.3 Blutperfusat

Ein Langendorff-Apparat der Firma Hugo Sachs (Grünstraße 1, 79232 Hustetten, Deutschland) wird mit frisch angesetzten heparinisierten Rindererythrozytenkonzentrat auf der Basis eines modifizierten Krebs-Henseleit Puffers befüllt.

Das Perfusat des Versuchsaufbaus wird folgendermaßen gewonnen:

Im Zuge der Ausblutung, während des Schlachtprozesses zur Fleischgewinnung von Rindern, wird das austretende Rinderblut in heparinisierten Gefäßen aufgefangen (1,5 ml Heparin-Natrium-25000/ 1 L Blut.) Das gewonnene Blut wird bei 1500 G für fünf Minuten und einer Temperatur von 4 °C ohne Bremse zentrifugiert. Im Anschluss an die Zentrifugation erfolgt ein Verwurf des Überstandes und eine dreimalige Waschung mit 0,9 % NaCl-Lösung. Anschließend erfolgt eine Mischung des Blutes mit NaCl 0,9 % im Verhältnis 1:1. Für eine bessere Stabilität und Haltbarkeit werden dem Rindererythrozytenkonzentrat 15 mg Gentamycin pro 500 ml Konzentrat zugemischt. Das fertige Erythrozytenkonzentrat wird durch einen Transfusionsfilter, mit einer Porengröße von 40 µm, in Glasflaschen abgefüllt und bei

## Material und Methoden

Temperaturen von 8 °C gelagert. Dieses Konzentrat ist maximal 1,5 Wochen haltbar.

Der modifizierte Krebs-Henseleit Puffer, welcher auch als Langendorff-Puffer bezeichnet werden kann, beinhaltet folgende Komponenten: 2,5 L Aqua dest, 20,25 g NaCl und 8,1 g Glukose werden gemischt und mit Carbogen begast. Anschließend werden 505 ml Aqua dest. mit 6,8 g NaHCO<sub>3</sub> versetzt und dem zuvor beschriebenen Gemisch zugefügt. Nachfolgend werden jeweils 50 ml CaCl (21,96 g/l), KCL (17,25 g/l), MgSO<sub>4</sub> (19,1 g/l), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10,7 g/l) und NaEDTA (12,21 g/l) ergänzt. Zur Herstellung des endgültigen Blutperfusates wird das Erythrozyten-NaCl Gemisch erneut mit 1500 G bei 4 °C für 5 Minuten ohne Bremse zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und das Erythrozytengemisch drei Mal mit dem Langendorff-Puffer gewaschen. 250 ml des Langendorff-Puffers werden mit 5 g bovinem Serum-Amyloid und einem Tropfen Insulin (entspricht ca. 1 I.E.) mithilfe eines Magnetrührers vermischt. Das gewaschene Erythrozytenkonzentrat wird im Verhältnis 1:1 mit dem zuvor angesetzten Langendorff-BSA Puffer angerührt. Zur pH-Wert Korrektur erfolgt eine Zugabe von 10-15 ml Bicarbonat-Lösung. Vor Versuchsbeginn wird das fertige Perfusat mit Carbogen begast, bis ein pH-Wert von 7,33 erreicht ist.



### 3.4 Langendorff-Apparatur

Die Langendorff-Apparatur besteht aus einem Reservoir für das Perfusat mit Wasserbad, einer Rollerpumpe, einer beheizten Herzkammer, einem Oxygenator, einem Transfusionsfilter, einem Aortenblock und verschiedenen Möglichkeiten der Datenerfassung.

Das isolierte Rattenherz wird über die Kanülierung der Aorta in die Langendorff-Apparatur eingebracht. Mithilfe einer Fadennagelung erfolgt eine Befestigung der Aorta an der eingeführten Kanüle. Über diese Perfusionskanüle erfolgt eine druckkonstante Perfusion mit dem oben beschriebenen Blutperfusat. Der Perfusionsdruck beträgt 70 mmHg und ist manuell über eine drehbare Druckpumpe einstellbar. Das Blutperfusat befindet sich in einem Reservoir, welches in einem Wasserbad eingebettet ist. Über dieses Wasserbad wird eine Perfusatemperatur von 36 °C sichergestellt. Das Perfusatreervoir ist mit zwei Kreisläufen verbunden. Das eine Schlauchsystem ermöglicht eine Begasung des Perfusates mithilfe eines Membranoxygenators. Der andere Kreislauf ermöglicht eine Perfusion des Herzens. Durch die schonende Art der Begasung mit Carbogen mithilfe eines Membranoxygenators wird ein Aufschäumen, welches die Erythrozyten

möglicherweise schädigen könnte, verhindert (204). Die Begasung erfolgt mit Carbogen bestehend aus 95 % O<sub>2</sub> und 5 % CO<sub>2</sub>. Des Weiteren befindet sich in diesem Kreislauf ein Bluttransfusionsfilter. Dieser verfügt über eine Porengröße von 40 µm und ist somit in der Lage Verunreinigungen und Mikroaggregate abzufangen. Nach erfolgter Begasung und Filterung wird das Perfusat über das Schlauchsystem erneut dem Perfusatresevoir zugefügt. Dort erfolgen eine Durchmischung sowie eine erneute Aufnahme in die Kreisläufe.

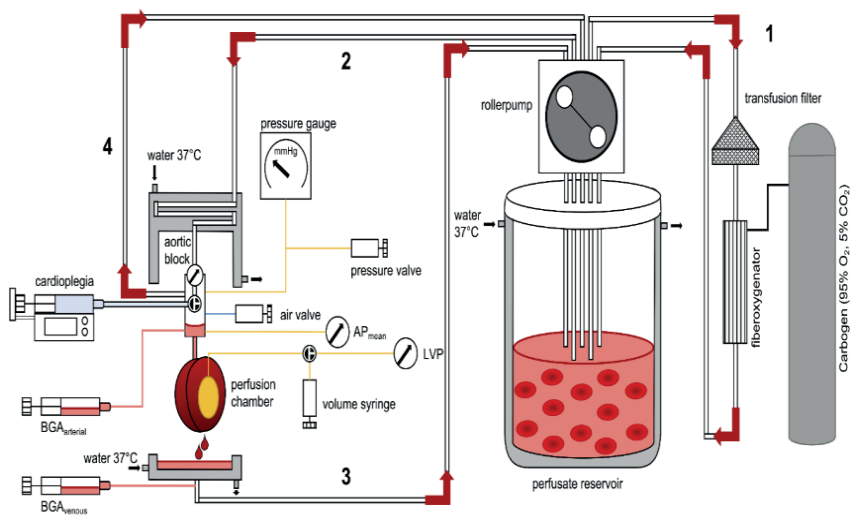
Das Blutperfusat wird mithilfe einer Rollerpumpe durch den zweiten Kreislauf zum Herzen befördert. Über die kanülierte Aorta erreicht das Blutperfusat das Herz und die Koronargefäße werden perfundiert. Die sogenannte „Compliance-Kammer“, welche sich oberhalb der Aortenkanüle im Aortenblock befindet, dient als Luftblasenfalle und wird bereits vor Versuchsbeginn mit Blutperfusat gefüllt. Zusätzlich beinhaltet der Aortenblock einen Absperrhahn zur Regulation des Perfusionsflusses, Zugänge zum Zuführen der Kardioplegielösung bzw. zur Entnahme arterieller Perfusatsproben sowie einen verstellbaren Widerstand. Letzterer setzt sich aus einer Teflonmembran, einem Manometer und einer Druckspritze zusammen und ermöglicht die Einstellung des konstanten Perfusionsdruckes von 70 mmHg. Ist der zuvor beschriebene Absperrhahn zugezogen, wie im Falle der Ischämie,

existiert ein Rückführ-Bypass im Aortenblock. Über eine Applikationshilfe, dessen Zugang sich oberhalb der „Compliance-Kammer“ befindet, ist mithilfe eines Schlauchsystems eine Applikation von Substanzen direkt in die Aortenkanüle möglich. Über diesen Zugang können besonders Lösungen mit einem sehr geringen Volumen direkt ins Herz verabreicht werden (bspw. Cardioplexol s.u.). Über den Sinus coronarius sammelt sich das Perfusat durch die Perfusion der Koronararterien im rechten Vorhof. Während der Präparation wurde hier eine Öffnung geschaffen, die ein Abtropfen des Perfusates ermöglicht. An dieser Stelle ist somit eine Entnahme venöser Proben durchführbar.

Das isolierte Herz befindet sich in einer Kammer, welche das Herz zum einem vor dem Auskühlen bewahrt und zum anderen das aus dem Sinus coronarius austretende Blutperfusat auffängt und über verbundene Schläuche mithilfe der Rollerpumpe zurück ins Vorratsgefäß transportiert. Die Organkammer besteht aus doppelwandigem Plexiglas. Durch den Zwischenraum wird dauerhaft 38 °C warmes Wasser gepumpt. Dadurch werden physiologische Bedingungen bei Körpertemperatur simuliert und die Organkammer erreicht Temperaturen von 36 °C im Inneren. Aufgrund der Tatsache, dass das Perfusat aus der Organkammer erneut dem Perfusateservoir zugeführt wird, handelt es sich grundsätzlich um ein rezirkulierendes System. Lediglich in den

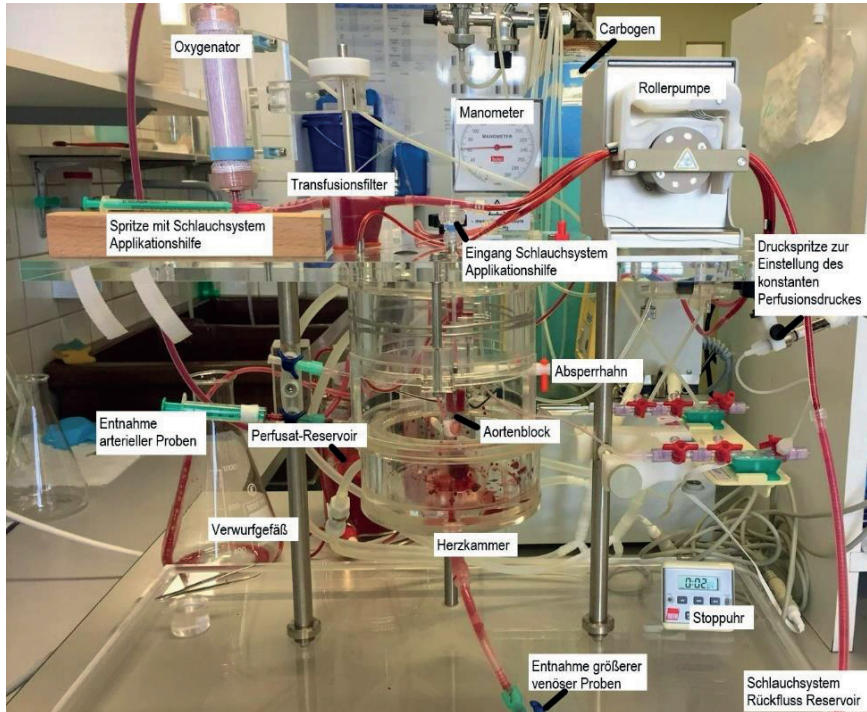
## Material und Methoden

ersten Minuten nach Verabreichung der etwaigen Kardioplegie erfolgt eine Unterbrechung des rezirkulierenden Zyklus. In dieser Phase wird das Perfusat verworfen. Durch die Bestandteile des Blutperfusates und die Oxygenierung werden physiologische Perfusionsbedingungen nachgeahmt.



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung Langendorff-Modell (Veitinger et al. 2021)

## Material und Methoden



**Abbildung 3:** Langendorff Apparatur, Labor AG Böning Frontansicht

### 3.5 Datenerfassung

Der Versuchsaufbau der Langendorff Apparatur ermöglicht die Erfassung verschiedener physiologischer Parameter. Über einen Latexballon, welcher durch die Mitralklappe in den linken Ventrikel eingebracht wird, können Funktionsparameter des linken

Ventrikels erfasst werden. Hierzu zählen: Die Herzfrequenz, der linksventrikuläre Druck während der Systole, der linksventrikuläre Druck während der Diastole und die minimale sowie maximale Kontraktionskraft. Der eingebrachte Ballon wird mit Flüssigkeit gefüllt, sodass der enddiastolische Druck zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns 10-12 mmHg beträgt. Das im Ballon angelegte Flüssigkeitsvolumen bleibt über die gesamte Versuchsdauer konstant. Für möglichst präzise Messungen ist eine optimale Passform des Latexballons erforderlich. Dieser sollte das Volumen des linken Ventrikels nach Möglichkeit vollständig ausfüllen, um Kontraktionen jeder Stärke detektieren zu können. In diesem Versuch, angepasst an die Größe der Herzen, hat sich eine Ballongröße von 5/6 bewährt.

Aus den erfassten Parametern lassen sich weitere funktionelle Werte ermitteln. Der LVDP ergibt sich durch Subtraktion des linksventrikulären Druckes während der Systole mit dem linksventrikulären Druck während der Diastole. Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit ( $dLVP/dt_{\max}$ ) und die minimale Kontraktionsgeschwindigkeit, welche auch als Relaxationsgeschwindigkeit ( $dLVP/dt_{\min}$ ) bezeichnet wird, ergeben sich aus der ersten Ableitung des LVDP pro Zeiteinheit. Sie können, wie oben bereits beschrieben, als Maß für Inotropie/Lusitropie bezeichnet werden (203). Die ermittelten Daten werden mithilfe der Software

Isoheart digital (Hugo Sachs Elektronik GmbH 79232 Hugstetten) dargestellt und aufgezeichnet. Es erfolgt eine graphische Visualisierung der Herzfrequenz, des LVDP,  $dLVP/dt_{\min}$ ,  $dLVP/dt_{\max}$ , AP und der Temperatur. Weiterhin erfolgt vor Versuchsbeginn, in der 10., 30., 60. und 90. Minute der Reperfusion eine Messung des Koronarflusses (CF).

Zusätzlich zu den kontinuierlich während der Versuchsdauer erfassten Daten werden kurz vor Versuchsbeginn, 10 Minuten nach Beginn der Reperfusion und in der 90. Minute der Reperfusion sowohl venöse als auch arterielle Blutproben entnommen. Arterielle Proben werden vor der Herzperfusion aus dem Aortenblock, entnommen. Venöse Proben werden aus der Herzkammer oder jedoch direkt aus dem Sinus coronarius des Herzens entnommen. Aus diesen Proben erfolgt eine Bestimmung des pH-Wertes, des Sauerstoffpartialdruckes, der Sauerstoffsättigung, der Hämoglobinkonzentration sowie verschiedener Elektrolytwerte durch die Verwendung eines Blutgasanalysegerätes (Siemens 65760 Eschborn). Mithilfe eines Laktatphotometers (Diaglobal GmbH, 12555 Berlin) erfolgt zusätzlich eine Bestimmung des Laktatgehaltes der arteriellen sowie venösen Proben zu den oben angegebenen Zeitpunkten. 5 ml der arteriellen sowie venösen Probe, zu jedem Messzeitpunkt, werden bei 3000 G für 20

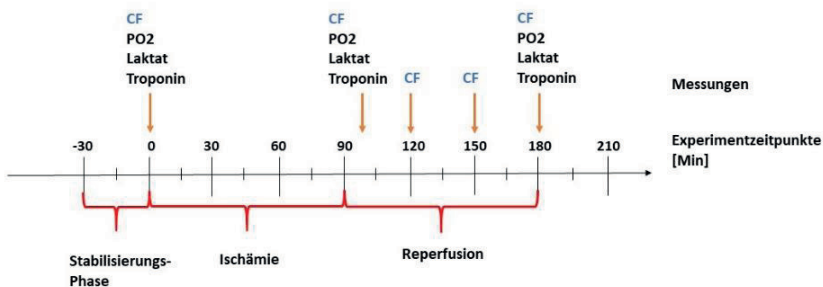
## Material und Methoden

Minuten bei 4 °C zentrifugiert, 900 µl Überstand werden abpipetiert und für Troponin I Messungen bei -80 °C konserviert. Die Untersuchung erfolgt durch Biocontrol (Bioscientia Healthcare GmbH, 55128 Ingelheim) mithilfe der CLIA Methode. Es handelt sich um einen hochsensitiven Troponin-I-Assay (TNI-Ultra™), der mithilfe des Advia Centaur XP 1520 Systems (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Tarrytown, NY, USA) durchgeführt wird.

Weitere 1800 µl jeder Probe werden bei -80 °C für etwaige weitere Untersuchungen asserviert. Zusätzlich zu den hämatologischen Untersuchungen erfolgt vor Versuchsbeginn, 10 Minuten nach Beginn der Reperfusion, in der 30., 60. und 90. Reperfusionsminute eine Messung des Koronarflusses. Vor Versuchsbeginn erfolgt diese durch das Auffangen der aus dem Herzen austretenden Perfusatstropfen. Diese werden über einen Zeitraum von 30 Sekunden gezählt und in einem Messzylinder gesammelt. Anschließend erfolgt eine Ablesung des aufgefangenen Volumens, aus welchem der Koronarfluss pro Minute berechnet werden kann. Über die Angabe der Tropfenzahl und das entsprechenden Milliliter Volumen ist die Koronardurchblutung der weiteren Zeitpunkte aus der gezählten Tropfenzahl zu errechnen.



## Material und Methoden



**Abbildung 4:** Zeitpunkte der Entnahme hämatologischer Proben, CF= Koronarfluss

### 3.6 Stabilisierungsphase

Nach der erfolgten Insertion in die Langendorff Apparatur erfolgt eine Stabilisierungsphase von  $15 \pm 2$  Min. Diese Phase, welche von der Insertion der Herzen bis zum eigentlichen Versuchsbeginn reicht, ermöglicht eine Adaption an die neuen Umweltbedingungen. Die neuen Umweltbedingungen umfassen veränderte vorherrschende Druckverhältnisse, ein Wechsel von Rattenblut zum Rinder-Erythrozyten-Perfusat, sowie die Erholung von Stress verursacht durch die Manipulation im Zuge der Exstirpation. Sobald in den Werten des LVDP eine konstante Tendenz wahrnehmbar ist, kann der eigentliche Versuch beginnen.

### 3.7 Versuchsgruppen

Die durchgeführten Versuche gliedern sich in verschiedene Phasen. Klinische Studien gehen davon aus, dass die einmalige Verabreichung von Cardioplexol einen sicheren Schutz vor Ischämie- und Reperfusion-assoziiertes Schädigung bei einer Ischämiedauer bis 45 Minuten bietet. Um diese Annahme unter experimentellen Bedingungen genauer zu untersuchen, wurde im ersten Versuchsteil eine Gegenüberstellung einer 45-minütigen Ischämie unter einmaliger Applikation von Cardioplexol und einer 45-minütigen reinen „no-flow“ Ischämie vorgenommen. In folgenden Versuchen wurden die Auswirkungen einer 30-, 60- und 90-minütigen Ischämie auf die kardiale Erholung während der Reperfusion bei einer Cardioplexolverabreichung alle 30 Minuten genauer beleuchtet. Im letzten Teil der Versuchsreihe fand eine Evaluierung der kardioprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol im Vergleich mit der etablierten Blutkardioplegie nach Calafiore innerhalb einer 90-minütigen Ischämie statt. Insgesamt wurden für die Klärung dieser Fragestellungen 66 Tiere verwendet.

#### 1. Versuchsteil:

- CP-45': 45 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion mit einmaliger Gabe von 0,5 ml Cardioplexol zu Beginn der Ischämie (n=11).

## Material und Methoden

- No-flow-45': 45 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion ohne die Verwendung einer Kardioplegielösung. Die Induktion des Herzstillstandes erfolgte ausschließlich durch „no-flow“ Ischämie (n=11).

### 2. Versuchsteil:

- CP-30': 30 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion mit einmaliger Gabe von 0,5 ml Cardioplexol zu Beginn der Ischämie (n=11).
- CP-60': 60 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion mit insgesamt zweimaliger Gabe von 0,5 ml Cardioplexol. Die erste Gabe erfolgte zu Beginn der Ischämie. Die zweite Gabe erfolgte in der 30. Minute der Ischämie (n=11).
- CP-90': 90 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion mit insgesamt dreimaliger Gabe von 0,5 ml Cardioplexol. Die erste Gabe erfolgte zu Beginn der Ischämie. Weitere Applikationen erfolgten in der 30. und 60. Minute der Ischämie (n=11).

### 3. Versuchsteil:

- CP-90': 90 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion mit insgesamt dreimaliger Gabe von 0,5 ml Cardioplexol. Die erste Gabe erfolgte zu Beginn der Ischämie. Weitere Applikationen erfolgten in der 30. und 60. Minute der Ischämie (n=11).

- Cala-90': 90 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion unter Verabreichung der Kardioplegie nach Calafiore alle 20 Minuten (n=11).

### 3.8 Versuchsablauf

Wie bereits beschrieben beginnt nach einer kurzen Stabilisierungsphase mit der Verabreichung der jeweiligen Kardioplegielösung der Versuch. Der detaillierte Versuchsablauf wird im Folgenden beschrieben.

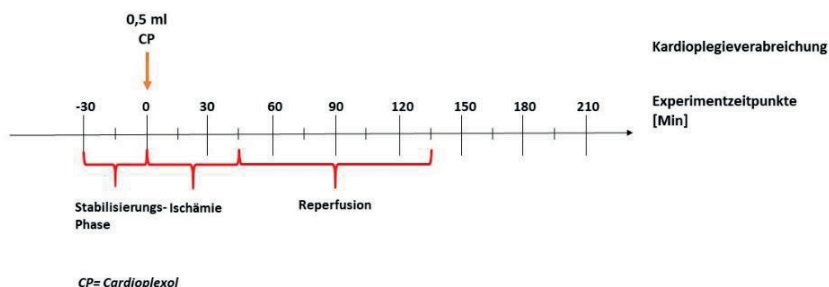
#### 3.8.1 Gruppe CP-45'

Die 11 Tiere, welche der ersten Versuchsgruppe zugeordnet sind, wurden einer 45-minütigen Ischämie und einer darauffolgenden 90-minütigen Reperfusion unterzogen. Zu Versuchsbeginn erfolgte die einmalige Applikation von 0,5 ml Cardioplexol.

Cardioplexol (Laboratorium Bichsel AG, CH 3800 Interlaken) besteht aus zwei Lösungen. Lösung A umfasst 95 ml und enthält: 16,2 mmol Magnesium Heptahydrat, 10 mmol Kaliumchlorid, 29,6 mmol Xylitol, 5 mmol Citronensäure Monohydrat und Wasser zu Injektionszwecken. Lösung B umfasst 5 ml und enthält 1,1

mmol Procain sowie Wasser für Injektionszwecke. Der pH-Wert der Lösung liegt bei 6,0. Vor Gebrauch müssen beide Komponenten mindestens drei Stunden im Kühlschrank gelagert werden. Zur Anwendung werden Lösung A und B gemischt. Man erhält somit ein Gesamtvolumen von 100 ml. Dieses Volumen ist auf das durchschnittliche Herzgewicht eines Erwachsenen, von 300 g, ausgelegt. Eine Umrechnung ergibt bei einem durchschnittlichen Herzgewicht von ca. 1,5 g bei den von uns verwendeten Ratten eine Dosierung von 0,5 ml. Da ein Restvolumen der Lösung in der Applikationshilfe zurückbleibt, wurden 0,61 ml Cardioplexol über die direkt in die Aortenkanüle reichende Applikationshilfe verabreicht. Um den Verwurf zu reduzieren, erfolgte stets eine Anmischung von einem Milliliter der Lösung. Dementsprechend wurden 0,95 ml Lösung A mit 0,05 ml Lösung B vermischt und im Anschluss 0,61 ml in einer ein Milliliter Spritze aufgezogen. Dieses Gemisch muss innerhalb von 15 min nach dem Anmischen appliziert werden um eine Anwendungstemperatur von 2-8°C einzuhalten. Gleichzeitig mit der Verabreichung der Kardioplegie erfolgte eine Schließung des Absperrhahnes, welcher den Perfusionsfluss regelt. Nach Ablauf der 45-minütigen Ischämie erfolgte eine erneute Öffnung des Absperrhahnes. Mithilfe einer Stoppuhr wurde die Zeit bis zum Auftreten von erneuten Herzkontraktionen gemessen. Während der 90-minütigen Reperfusion wurden regelmäßig Koronarflussmessungen, sowie

hämatologische Untersuchungen durchgeführt. Diese sind im Abschnitt der Datenerfassung (s. Kapitel 3.5, S. 69ff) genauer erläutert.

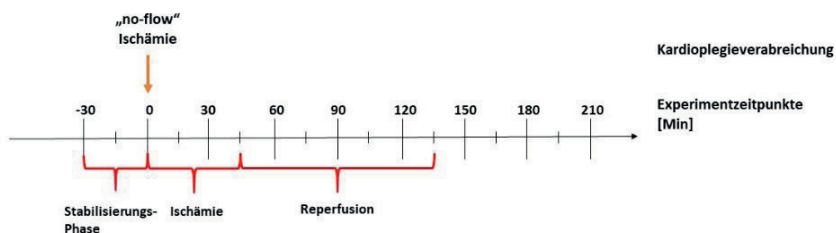


**Abbildung 5:** Versuchsablauf Gruppe CP-45'

### 3.8.2 Gruppe no-flow-45'

Die Versuchsgruppe no-flow-45' fungiert als Kontrollgruppe. Sie soll im Vergleich mit den Ergebnissen der Gruppe CP-45' ausgewertet werden. In dieser Gruppe erfolgte keine Verabreichung einer Kardioplegie zu Versuchsbeginn. Stattdessen wurde durch eine reine „no-flow“ Ischämie ein Herzstillstand induziert. Auch hier wurde zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns der Perfusionsfluss über den Absperrhahn im Aortenblock unterbrochen. Die

Phase der Ischämie wurde, wie auch in der Gruppe CP-45' beschrieben, für einen Zeitraum von 45 Minuten aufrechterhalten. Anschließend folgte ebenso wie bei der oben beschriebenen Versuchsgruppe eine 90-minütige Reperfusion.

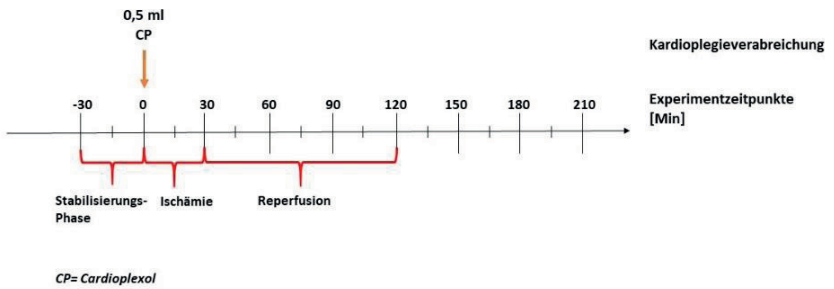


**Abbildung 6:** Versuchsablauf Gruppe no-flow-45'

### 3.8.3 Gruppe CP-30'

Der Versuchsablauf der CP-30'-Gruppe entspricht dem der zuvor dargestellten CP-45'-Gruppe. Auch hier erfolgte zu Versuchsbeginn eine einmalige Verabreichung von 0,5 ml Cardioplexol. Die Ischämie wurde in diesem Fall jedoch nur für eine Dauer von 30 Minuten aufrechterhalten.

## Material und Methoden

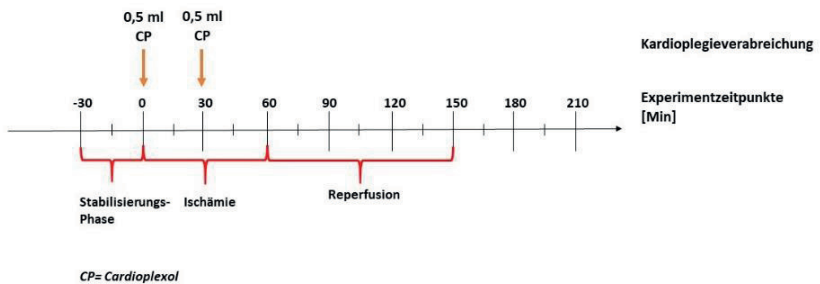


**Abbildung 7:** Versuchsablauf Gruppe CP-30'



### 3.8.4 Gruppe CP-60'

In dieser Gruppe erfolgte bei ansonsten identischen Versuchsablauf eine Ausweitung der ischämischen Phase auf 60 Minuten. Es wurden jeweils 0,5 ml Cardioplexol zu Beginn und in der 30. Minute der Ischämie verabreicht.

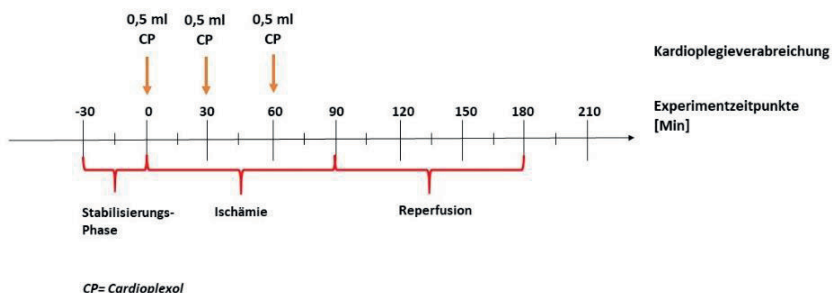


**Abbildung 8:** Versuchsablauf Gruppe CP-60'

### 3.8.5 Gruppe CP-90'

Um eine bessere Übertragbarkeit in die humanmedizinische Klinik zu ermöglichen, wurde die ischämische Phase in dieser Gruppe auf 90 Minuten verlängert. Es erfolgte eine dreimalige Verabreichung von jeweils 0,5 ml Cardioplexol. Diese fanden

zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns, in der 30. Minute der Ischämie sowie in der 60. Ischämieminute statt. In allen weiteren Abläufen entspricht auch diese Versuchsgruppe dem zuvor beschriebenen Ablauf.



**Abbildung 9:** Versuchsablauf Gruppe CP-90'

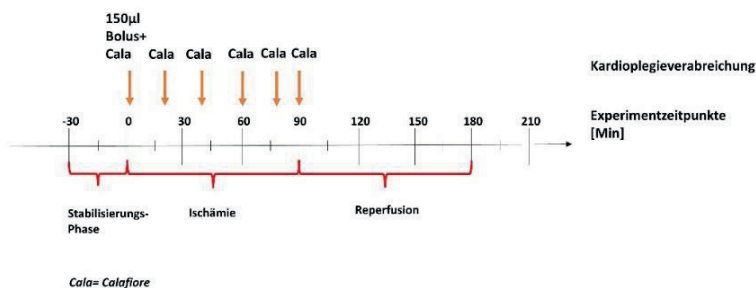
### 3.8.6 Gruppe Cala-90'

Als weitere Vergleichsgruppe dienen 11 Tiere, welche statt Cardioplexol alle 20 Minuten während einer 90-minütigen Ischämiephase Blutkardioplegie nach Calafiore verabreicht bekamen.

Die Blutkardioplegie nach Calafiore wird in unserer Einrichtung gemäß nachfolgenden Angaben verwendet. Die Ausgangslösung setzt sich aus 10 ml 2M KCL (14,9 %) und 2 ml MgSO<sub>4</sub>

7H<sub>2</sub>O, (50 %) zusammen. Calafiore-Blutkardioplegie wird bei einer Temperatur von 37 °C verwendet. Initial erfolgt eine Applikation eines Bolus von 150 µl der reinen Kardioplegielösung nach Calafiore. Zeitgleich wird mithilfe eines Perfusors ein zuvor angesetztes Gemisch aus Kardioplegielösung nach Calafiore und dem Blutperfusat verabreicht. Für die Herstellung werden 20 ml Blutperfusat mit 150 µl Kardioplegielösung gemischt und in einer Perfusor Spritze aufgezogen. Die zu verabreichende Menge orientiert sich am Koronarfluss, welcher vor Versuchsbeginn gemessen wurde. Auf diesen werden 30 % addiert und die Kardioplegie nach Calafiore somit mit einer Flussgeschwindigkeit von 130 % des Baselinewertes über einen Zeitraum von 2 Minuten perfundiert. Alle 20 Minuten und zum Ende der Reperfusion erfolgt eine Wiederholung der Verabreichung dieser Kardioplegielösung. Die Zusammensetzung für die Folgeapplikationen variiert in geringem Maße von der Initialgabe. Für die Nachdosierung werden 42 ml Blutperfusat mit 225 µl Kardioplegielösung nach Calafiore gemischt. Auch hier erfolgt eine an den Fluss angepasste Perfusion mit 130 % des Baselineflusses über einen Zeitraum von 2 Minuten.

## Material und Methoden



**Abbildung 10:** Versuchsablauf Gruppe Cala-90'

### 3.9 Biochemische Untersuchungen

Wie zuvor bereits beschrieben werden zu Versuchsbeginn, in der 10. Minute der Reperfusion sowie in der 90. Minute der Reperfusion arterielle und venöse Proben entnommen. Diese werden mithilfe eines BGA-Gerätes auf ihren pH-Wert, den  $PO_2$ , die  $SO_2$  sowie die Hämoglobinkonzentration (cHb) untersucht. Mithilfe dieser Daten kann eine Berechnung des myokardialen Sauerstoffverbrauches erfolgen. Für die Berechnung wurde folgende Formel, in Anlehnung an die von Fick definierte Gleichung, verwendet (146):

$$MVO_2 = (CaO_2 - CvO_2) * CF$$

$MVO_2$  = myokardialer Sauerstoffverbrauch,  $CaO_2$ = arterielle  $O_2$  Gehalt,  $CvO_2$ = venöser Sauerstoffgehalt,  $CF$ = Koronarfluss

Da der arterielle und venöse Sauerstoffgehalt nicht gemessen werden konnten, wurde dieser zuvor mithilfe der folgenden Formel ermittelt (209, 210).

$$C_{xO_2} \left[ \frac{mlO_2}{dl} \right] = S_{xO_2} [\%] * 1,34 \left[ \frac{mlO_2}{g} \right] * cHb \left[ \frac{g}{dl} \right] + P_{xO_2} [mmHg] * 0,0031 \left[ \frac{mlO_2}{dl * mmHg} \right]$$

$C_{xO_2}$ = Der Sauerstoffgehalt im venösen/ arteriellen Perfusat,  
 $S_{xO_2}$ = die Sauerstoffsättigung,  $cHb$ = Hämoglobinkonzentration,  
 $P_{xO_2}$ = der Sauerstoffpartialdruck

In der oben genannten Formel finden zwei Konstanten Anwendung. Die Konstante 1,34 wird auch als Hüfner-Zahl bezeichnet. Sie gibt an, dass 1 g Hämoglobin 1,34 ml Sauerstoff bindet (6). Die zweite Konstante 0,0031 beschreibt die Löslichkeit von Sauerstoff in 37 °C warmen Blut gemäß dem Bunsen-Löslichkeitskoeffizient.

Die verwendete Formel gibt den Sauerstoffgehalt in Milliliter pro Deziliter Blutvolumen an. Da in unserem Fall eine Berechnung

des Sauerstoffgehaltes in Milliliter pro Milliliter Blut sinnvoller wäre, wurde zusätzlich eine Einheitenkorrektur durch die Division durch 100 vorgenommen.

$$C_{xO_2} \left[ \frac{mlO_2}{ml} \right] = \frac{\left( S_{xO_2} [\%] * 1,34 \left[ \frac{mlO_2}{g} \right] * c_{Hb} \left[ \frac{g}{dl} \right] + P_{xO_2} [mmHg] * 0,0031 \left[ \frac{mlO_2}{dl * mmHg} \right] \right)}{100}$$

Die errechneten Werte wurden nach Abschluss der Untersuchungen in Bezug der „Baselineparameter“ ausgewertet.

Zusätzlich zur Berechnung des Sauerstoffverbrauches erfolgte eine Ermittlung der Laktatproduktion. Auch für diese Berechnung wurden arterielle und venöse Proben vor Versuchsbeginn, in der 10. und der 90. Minute der Reperfusion herangezogen. Für die Berechnung der Laktatproduktion wurde folgende Formel verwendet:

$$MV_{Lac} \left[ \frac{\mu mol}{min} \right] = \left( c_{Lac\ v} \left[ \frac{\mu mol}{ml} \right] - c_{Lac\ a} \left[ \frac{\mu mol}{ml} \right] \right) * CF \left[ \frac{ml}{min} \right]$$

*MVLac* = Laktatproduktion; *cLac v* = venöse Laktatkonzentration; *cLac a* = arterielle Laktatkonzentration

Sowohl der myokardiale Sauerstoffverbrauch als auch die myokardiale Laktatproduktion liefern wertvolle Informationen über den Metabolismus des Myokards. Der myokardiale Sauerstoffverbrauch ist von einigen Parametern abhängig. So steigt er bei einer Erhöhung der Herzfrequenz, der Inotropie sowie bei einer Erhöhung der Vor- bzw. Nachlast deutlich an (146). Des Weiteren stellen die myokardiale Wandspannung (211), der Koronarfluss (212) sowie die Kontraktionsgeschwindigkeit (213) beeinflussende Größen dar. Mithilfe des  $MVO_2$  lassen sich somit Rückschlüsse auf die aeroben Stoffwechselprozesse ziehen, während die myokardiale Laktatproduktion Rückschlüsse auf die anaeroben metabolischen Vorgänge ermöglicht (214).

Wie oben bereits beschrieben wurden weitere 5 ml von jeder arteriellen und venösen Probe 20 min bei 4 °C zentrifugiert, die Überstände abpipettiert und etwa 1800 µl bei -80 °C eingefroren. Etwa 900 µl wurden für die Durchführung von Troponin I Messungen bei -80 °C asserviert.

### 3.10 Elektronenmikroskopie

Nach Abschluss des Versuches wurden zwei Herzen jeder Versuchsgruppe einer Perfusionsfixation unterzogen. Zuerst fand

hierfür eine Spülung der Herzen im Langendorff-Apparat mit ca. 8 °C kalter 0,9 % NaCl-Lösung statt. Im Anschluss erfolgte eine Fixierung mittels einer Perfusion, auf Basis eines Hepespuffers. Das verwendete Fixiergemisch wird folgendermaßen hergestellt. 500 ml eines 0,3 molaren Hepespuffer werden mit 60 ml 25-prozentiger Glutardialdehyd, 60 ml 25-prozentiger Paraformaldehyd gemischt und auf 900 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Das 25-prozentige Paraformaldehyd wird folgendermaßen hergestellt: 15 g Paraformaldehyd werden mit 50 ml Aqua dest. unter Rühren und einer Erwärmung auf 65 °C vermischt. Es wird so viel 1n NaOH hinzugegeben, bis eine klare Lösung entsteht. Diese wird mit Aqua dest auf ein Volumen von 60 ml aufgefüllt. Anschließend wird das angesetzte Paraformaldehyd auf Raumtemperatur abgekühlt. Das hergestellte Fixierungsgemisch hat eine Endkonzentration von 1,5 % Glutardialdehyd und 1,5 % Paraformaldehyd. Nach Abschluss des Fixierungsvorganges werden die Herzen von Fixiergemisch bedeckt und bei 8 °C bis zur elektronenmikroskopischen Untersuchung asserviert. Im Anatomischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen, Abteilung Elektronenmikroskopie (Aulweg 123, 35392 Gießen), erfolgt das Zuschneiden und die Einbettung der Herzen.



Die Erstellung der Schnitte erfolgt nach den Prinzipien des „randomisierten sampling“ im Sinne der Stereologie (215). Hierfür erfolgte vorerst eine Isolierung des linken Ventrikels. Im Anschluss wurde dieser von der Basis zur Spitze eröffnet und in 1 mm dicke Scheiben geschnitten. Aus jeder dieser Scheiben wurde randomisiert ein Stück entnommen. Durch randomisierte Auswahl wurden drei Stücke gewählt und auf die Einbettung vorbereitet. Die gewonnenen Proben wurden in Mikroreaktionsgefäße, welche 0,15 molaren Hepespuffer enthielten gefüllt. Dieser Puffer hat einen pH-Wert von 7,4. Die Proben wurden fünfmal für eine minimale Einwirkdauer von 10 Minuten mit diesem Puffer gewaschen. Im Anschluss erfolgte eine Stabilisierung in 1 % Osmiumsäure (3 Teile Aqua dest. 1 Teil Osmiumsäure) für einen Zeitraum von zwei Stunden. Während dieser Zeit wurden die Proben auf einem Schüttler bei Raumtemperatur gelagert. Nach erfolgter Stabilisierung folgte eine fünfmalige Waschung mit Aqua dest. Auch hier sind minimale Einwirkzeiten von 10 Minuten nicht zu unterschreiten. Über Nacht wurde eine Kontrastierung durchgeführt. Hierfür wurden die Proben in halbgesättigter Uranylacetatlösung lichtgeschützt gelagert. Am nächsten Morgen erfolgte eine erneute dreimalige Waschung mit Aqua dest. Im Anschluss daran wurde eine Entwässerung vorgenommen. Für diesen Vorgang erfolgte eine Dehydratation in einer aufsteigenden Alkoholreihe. Zuerst wurden die Proben 30%igem Ethanol, für einen

Zeitraum von 15 Minuten und einmaligem Wechsel, ausgesetzt. Dieser Vorgang wurde mit 50%igem, 70%igem, 90%igem und 96%igem Ethanol identisch wiederholt. Die Dehydratation in 100%igem Alkohol wurde zwei Mal für jeweils 10 Minuten durchgeführt. Anschließend wurden die Proben in einem Gemisch aus 100%igem Ethanol und Propylenoxid im Verhältnis 1:1 für 15 Minuten entwässert. Es folgte eine 15-minütige Entwässerung in reinem 100%igem Propylenoxid. Anschließend fand eine Mischung von Propylenoxid und Epoxidharz im Verhältnis 1:1 statt und die Proben wurden für 60 Minuten in diesem Gemisch inkubiert. Die Proben wurden über Nacht in Epoxidharz gelagert. Am nächsten Morgen fand eine Entgasung der Proben für 3-4 Stunden im Exsikkator statt. Es wurde noch einmal frisches Epoxidharz aufgetragen und anschließend die endgültige Trocknung im Trockenschrank für mindestens 48 Stunden durchgeführt.

Pro eingebetteten Schnitt erfolgte die Begutachtung von 35 Testfeldern/Bildern. Pro Herz entspricht dieses einer Bildzahl von 105. Die Auswertung wurde unter Verwendung eines Transmissionselektronenmikroskop Zeiss EM 902 durchgeführt. Die elektronenmikroskopische Auswertung erfolgt mithilfe der Software STEPanizer (Version 1, <http://www.stepanizer.com>). Mithilfe dieses Computerprogramms können digitale Bilder stereologisch ausgewertet werden (216). Unter Verwendung des STEPaniz

erfolgte eine Zählung der Punkte, welche auf Mitochondrien, Myofibrillen, Sarkoplasma oder Nuklei fallen. Zusätzlich erfolgte eine Bestimmung der Linienschnittpunkte mit der äußeren Membran der Mitochondrien. Im Anschluss an die Zählungen wurde der zelluläre-Ödemindex (CEI) und das Verhältnis vom Volumen zur Oberfläche der Mitochondrien berechnet.

Für die Berechnung des CEI wurde folgende Formel verwendet (215):

$$CEI = \frac{Vv\left(\frac{mito}{cm}\right) + Vv\left(\frac{sp}{cm}\right)}{Vv\left(\frac{mf}{cm}\right)}$$

$Vv(mito)$  = Volumen der Mitochondrien,  $Vv(Sp)$  = Volumen des Sarkoplasmas,  $Vv(mf)$  = Volumen der Myofibrillen

Das Volumen der einzelnen Fraktionen wurde folgendermaßen berechnet:

Hier gezeigt am Beispiel des Volumens der Myofibrillen:

$$Vv\left(\frac{mf}{cm}\right) = \frac{P(mf)}{P(mf) + P(mito) + P(Sp) + P(nuc)}$$

$P(mf)$  = Anzahl der Punkte, welche auf Myofibrillen fallen,  
 $P(mito)$  = Anzahl der Punkte, welche auf Mitochondrien fallen,

$P(Sp)$  = Anzahl der Punkte, welche auf Sarkoplasma fallen,  
 $P(nuc)$  = Anzahl der Punkte, welche auf Nuklei fallen.

Anhand des CEI kann eine Aussage über die Myozytenschwellung getroffen werden. Diese steigt proportional zur Ischämiedauer und variiert je nach Induktion des Herzstillstandes (217).

Das Verhältnis vom Volumen der Mitochondrien zu deren Oberfläche ( $V_s$  ratio (mito)) wird mithilfe der folgenden Gleichung bestimmt (218):

$$VSratio(mito) = \frac{V_v \left( \frac{mito}{cm} \right)}{S_v \left( \frac{mito}{cm} \right)}$$

$VS (mito/cm)$  = Volumen-Oberflächen Verhältnis der Mitochondrien

Die Oberfläche der Mitochondrien wird folgendermaßen bestimmt (218):

$$S_v \left( \frac{mito}{cm} \right) = (2 * I) \div Lt$$

$I$  = Anzahl der Schnittpunkte mit Mitochondrien,  $Lt$  = Länge einer Testlinie;  $S_v$  = Oberflächendichte

Da pro Bild nur eine Schnittpunktlinie ausgezählt wurde, erfolgt eine Hochrechnung auf alle vorhandenen 8 Schnittpunktlinien pro Bild. Die verwendete Formel wird folgendermaßen angepasst:

$$Sv\left(\frac{mito}{cm}\right) = (2 * I * 8) \div (l(p) * P(mf) + P(mit) + P(Sp) + P(nuc))$$

Das Verhältnis vom Volumen zur Oberfläche der Mitochondrien hat sich als sensitive und vom Referenzvolumen unabhängige Größe für die Einschätzung von Veränderungen mitochondrialer Größe und Struktur erwiesen (219). Während des Zustandes myokardialer Ischämie ermöglicht die SV-Ratio (mito) eine adäquate Einschätzung mitochondrialer Veränderungen (220).

### 3.11 Statistik

Die vorliegenden Daten wurden mithilfe des Programms SAS University Edition (SAS Institute GmbH, Heidelberg, Deutschland) ausgewertet.

Im ersten Schritt wurden alle Daten auf Normalverteilung getestet. Von Normalverteilung wurde ausgegangen, wenn der Shapiro-Wilk-Test Werte  $> 0,05$  lieferte. In Abhängigkeit dieser

## Material und Methoden

Ergebnisse wurde der statistische Vergleich zweier Gruppen mit Hilfe eines Zweistichproben-t-Test bzw. eines Mann-Whitney-U-Test überprüft. Ebenfalls abhängig von vorhandener/ verletzter Normalverteilung wurde ein Vergleich von mehr als zwei Gruppen mittels einer einfaktoriellen Varianzanalyse (Analysis of variance= Anova ) mit anschließendem post-hoc-Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni bzw. einem Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem post-hoc-Test nach Dwass, Steel, Critchlow-Fligner (DSCF ) durchgeführt.

Ein Wert von  $p \leq 0,05$  wurde als signifikant bewertet.

Die Daten der Grafiken sind als Mittelwert (MW )  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts SEM (SEM ) oder  $\pm$  Standardabweichung STD (STD) des Mittelwerts angegeben.

## 4 Ergebnisse

Die Leistungsparameter sowie der Metabolismus der Herzen wurden jeweils zu drei Versuchszeitpunkten miteinander verglichen. Die „Baselinewerte“ (BL) entsprechen den Ausgangswerten zum Versuchsbeginn nach erfolgter Stabilisierungsphase. Um Unterschiede zwischen den Herzen auszugleichen, wurden die erfassten Folgeparameter in Prozent zur Baseline normiert.

Der grafisch dargestellte Zeitpunkt „Start Reperfusion“ (SR) entspricht dem zuvor beschriebenen Versuchsabschnitt der 10. Minute der Reperfusion.

Die gemessenen Werte nach einer 90-minütigen Reperfusion (Ende Reperfusion, ER), zum Versuchsende, stellen den letzten Vergleichszeitpunkt dar.

### 4.1 Baselineparameter

## Ergebnisse

Baseline-Parameter	CP-45'= 45' Ischämie 1x Cardioplexol (n=11)	no-flow- 45'= 45' no-flow Ischämie (n=11)	p-Wert	CP-30'= 30' Ischämie 1x Cardioplexol (n=11)	CP-60'= 60' Ischämie 2x Cardioplexol (n=11)	CP-90'= 90' Ischämie 3x Cardioplexol (n=11)	p-Wert	CP-90'= 90' Ischämie 3x Cardioplexol (n=11)	Cala-90'= 90' ischämie Calafiore (n=11)	p-Wert
LVPsys [mmHg]	93,4 ± 21,1	111,8 ± 26,2	0,0847	99,9 ± 27,8	89,0 ± 19,0	94,6 ± 25,1	0,5787	94,6 ± 25,1	98,1 ± 21,5	0,7306
LVPdia [mmHg]	11,5 ± 1,6	11,6 ± 1,7	0,9487	12,0 ± 1,4	11,9 ± 1,8	11,8 ± 0,9	0,9526	11,8 ± 0,9	11,3 ± 0,6	0,1032
LVDP [mmHg]	81,9 ± 21,4	100,2 ± 26,9	0,0933	87,9 ± 27,5	77,1 ± 18,5	82,8 ± 25,0	0,5766	82,8 ± 25,0	86,8 ± 21,6	0,6882
dLVPmax [mmHg/sec]	2349,9 ± 658,3	2346,3 ± 522,4	0,9889	2330,8 ± 688,5	1936,4 ± 585,4	2039,3 ± 606,9	0,2104	2039,3 ± 606,9	2337,6 ± 554,1	0,2427
dLVPmin [mmHg/sec]	-1908,3 ± 634,2	-1735,9 ± 369,3	0,4450	-1856,2 ± 640,9	-1518,8 ± 536,2	-1476,4 ± 523,4	0,1436	-1476,4 ± 523,4	-1878,72 ± 566,3	0,0759
HR [bpm/min]	236 ± 39	214 ± 64	0,3473	241 ± 35	239 ± 43	211 ± 40	0,1082	211 ± 40	265 ± 66	0,0192
Fluss [ml/min]	3,8 ± 1,0	4,3 ± 1,3	0,2991	3,8 ± 0,4	3,7 ± 0,4	3,7 ± 0,5	0,8731	3,7 ± 0,5	4,0 ± 1,3	0,4464
Troponin [ng/ml] (n=3)	9,6 ± 3,4	3,4 ± 1,6	0,1000	4,9 ± 2,8	5,5 ± 2,7	6,4 ± 2,7	0,8752	6,4 ± 2,7	3,7 ± 1,9	0,4000
MVO2 [ml O2/min]	0,070 ± 0,026	0,091 ± 0,027	0,0854	0,101 ± 0,089	0,074 ± 0,014	0,074 ± 0,022	0,7276	0,074 ± 0,022	0,079 ± 0,033	0,9487
MVLac [µmol/ml]	0,717 ± 0,746	0,314 ± 1,292	0,0400	0,096 ± 0,787	0,117 ± 0,560	0,247 ± 0,437	0,3636	0,247 ± 0,437	0,041 ± 0,330	0,2263
Ratten-Gewicht [g]	486,3 ± 45,1	503,5 ± 52,5	0,4180	455,5 ± 14,6	471,1 ± 36,7	489,2 ± 40,6	0,0691	489,2 ± 40,6	467,5 ± 34,3	0,1905

**Tabelle 1:** Darstellung der absoluten Baselinewerte (MW ± STD)

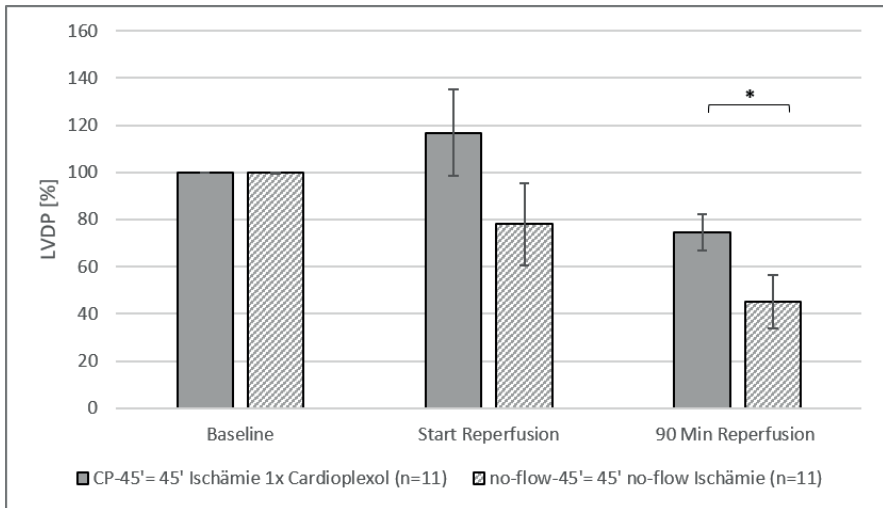
Die Ausgangswerte der sechs Versuchsgruppen zeigten keine deutlichen Unterschiede. Die Gruppen sind somit vergleichbar.

## 4.2 Leistungsparameter

### 4.2.1 LVDP



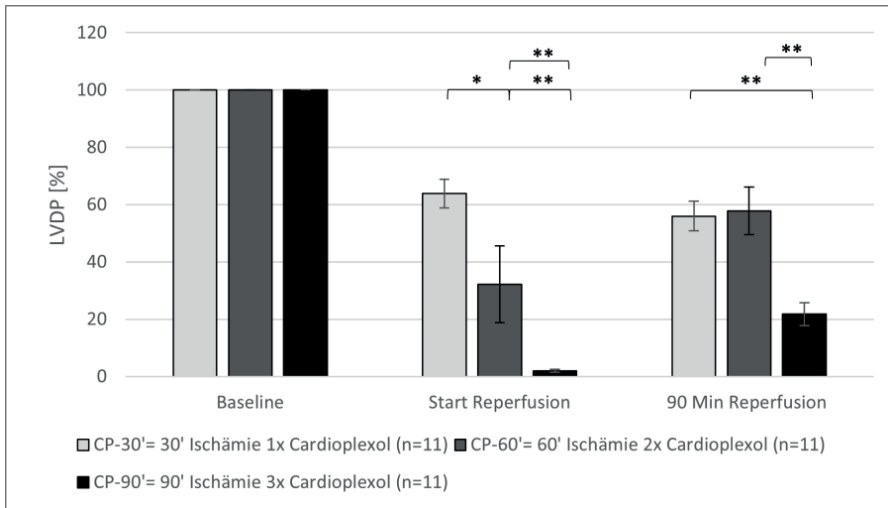
## Ergebnisse



**Abbildung 11:** LVDP [%] der isolierten Herzen, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

Die Verwendung von Cardioplexol führte zu einer besseren Herzerholung als die reine Ischämie. Dementsprechend konnten in der Gruppe CP-45' sowohl zu Beginn als auch am Ende der Reperfusion durchschnittlich höhere LVDP-Werte als in der no-flow-45'-Gruppe gemessen werden. Der Unterschied der beiden Gruppen war jedoch nur zum Ende der Reperfusion signifikant (SR  $p = 0,1384$ ; ER  $p = 0,0458$ ).

## Ergebnisse



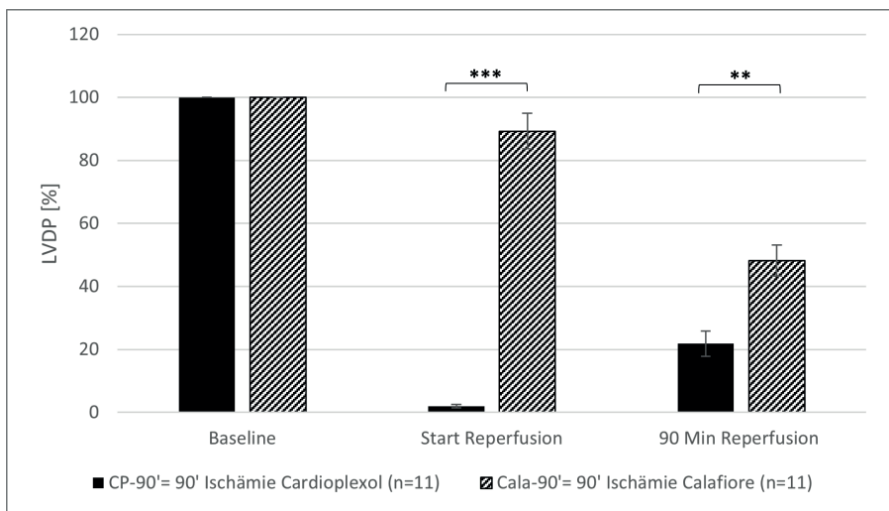
**Abbildung 12:** LVDP [%] der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, SR: Kruskal-Wallis-Test mit post hoc Test nach DSCF; ER: einfaktorielle-Anova-Varianzanalyse mit post hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

Die Verlängerung der Ischämiedauer bei einer Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten hatte einen signifikanten Einfluss auf den LVDP zu Beginn und zum Ende der Reperfusion (SR  $p = < 0,0001$ ; ER  $p = 0,0004$ ).

In der Frühphase der Reperfusion konnten in der CP-30'-Gruppe signifikant bessere LVDP-Werte gemessen werden als in den Gruppen, welche einer längeren Ischämiedauer ausgesetzt waren. Innerhalb der CP-90'-Gruppe wurden zu diesem Zeitpunkt bereits signifikant schlechtere LVDP-Werte als in den übrigen

## Ergebnisse

Gruppen gemessen. Nach 90-minütiger Reperfusion war kein Unterschied in der Erholung des LVDP in den Gruppen CP-30' und CP-60' erkennbar. Lediglich die Gruppe CP-90' zeigte auch am Ende der Reperfusion eine signifikant schlechtere kardiale Erholung als die übrigen Gruppen.



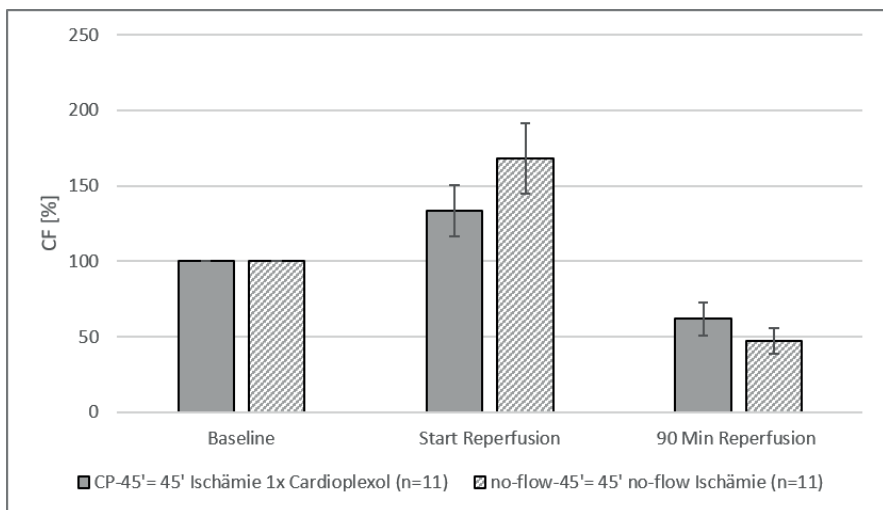
**Abbildung 13:** LVDP [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', MW und SEM, Mann-Whitney-U-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

Die Cala-90'-Gruppe erreichte im Verlauf der Reperfusion signifikant höhere LVDP-Werte als die CP-90'-Gruppe (SR  $p = <$

## Ergebnisse

0,0001; ER  $p= 0,0014$ ). Aufgrund dessen erholte sich die Herz-tätigkeit unter Verwendung von Calafiore-Kardioplegie besser als unter Verwendung von Cardioplexol-Kardioplegie. Während die LVDP-Werte der Cala-90'-Gruppe im Verlauf der Reperfusion eine fallende Tendenz zeigten, konnte in der CP-90'-Gruppe eine steigende Entwicklung beobachtet werden.

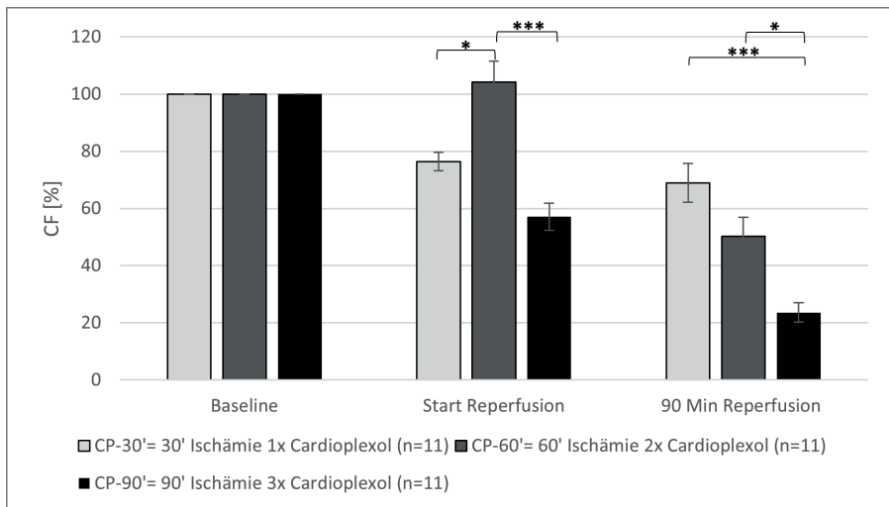
### 4.2.2 Koronarfluss



**Abbildung 14:** Koronarfluss [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test

## Ergebnisse

Während der Reperfusion kam es in der CP-45'- und der no-flow-45'-Gruppe zu einem initialen Anstieg des Koronarflusses. Diese Hyperämie war in der no-flow-45'-Gruppe stärker ausgeprägt. Zum Ende der Reperfusion erzielte die CP-45'-Gruppe eine bessere Koronarperfusion als die no-flow-45'-Gruppe. Im gesamten Verlauf der Reperfusion zeigte sich keine der Gruppen signifikant überlegen (SR  $p=0,3026$ ; ER  $p=0,2932$ ).

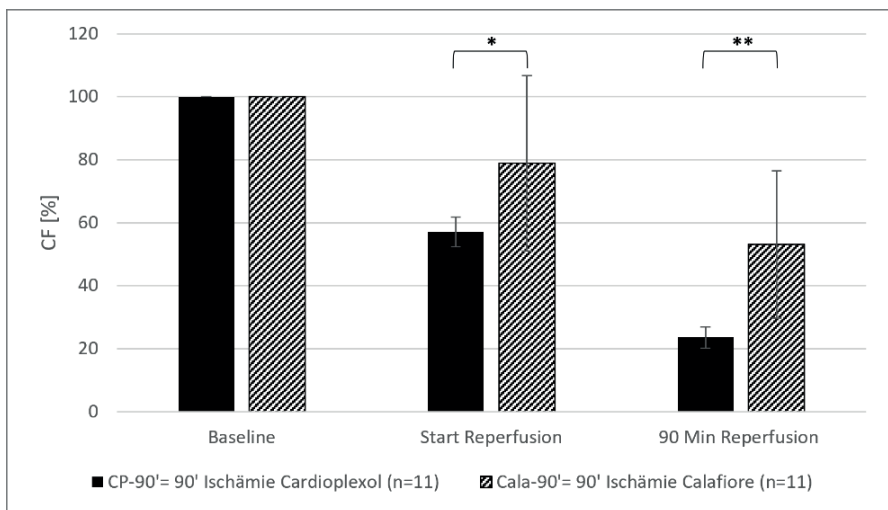


**Abbildung 15:** CF [%] der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, einfaktorielles Anova-Varianzanalyse mit post-hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferroni; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

## Ergebnisse

Eine Verlängerung der Ischämiedauer unter Verwendung von Cardioplexol hatte einen signifikanten Einfluss auf die Koronarperfusion zu Beginn und zum Ende der Reperfusion (SR  $p = < 0,0001$ ; ER  $p = < 0,0001$ ).

In der Frühphase der Reperfusion konnten in der CP-60'-Gruppe signifikant höhere Koronarflüsse gemessen werden als in den übrigen Gruppen. Zum Ende der Reperfusion wurden in der CP-90'-Gruppe signifikant niedrigere Koronarflüsse und somit eine schlechtere Koronarperfusion als in den Gruppen CP-30' und CP-60' gemessen. Je länger die Ischämie aufrechterhalten wurde desto schlechter war der gemessene Koronarfluss zum Ende der Reperfusion.



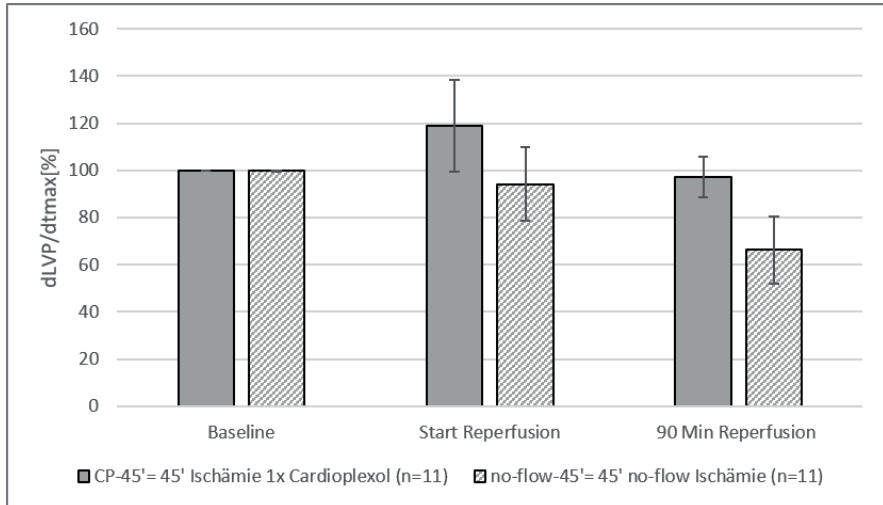
## Ergebnisse

**Abbildung 16:** *Koronarfluss [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$*

Die Cala-90'-Gruppe erreichte im gesamten Verlauf der Reperfusion eine durchschnittlich höhere Koronarperfusion als die CP-90'-Gruppe. Demnach war der koronare Blutfluss unter Verwendung von Calafiore sowohl zu Beginn als auch zum Ende der Reperfusion signifikant besser als unter Verwendung von Cardioplexol (SR  $p = 0,0343$ ; ER  $p = 0,0019$ ).

## Ergebnisse

### 4.2.3 $dLVP/dt_{max}$



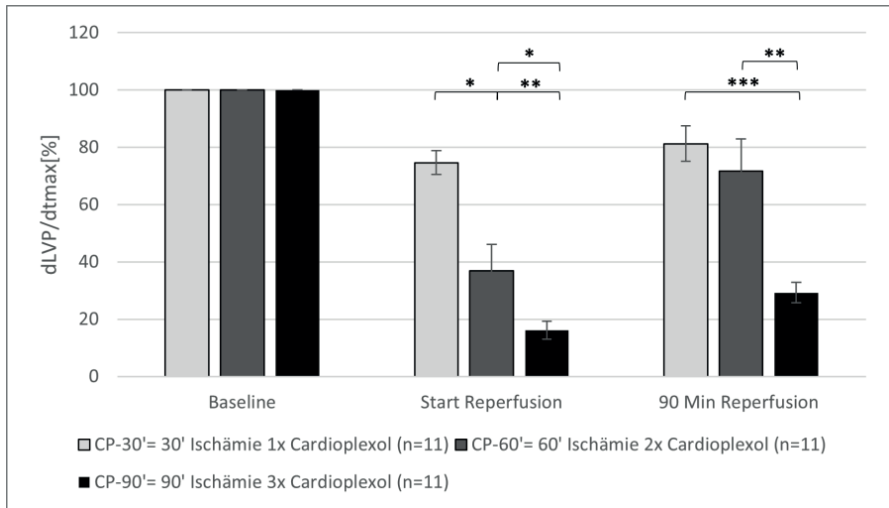
**Abbildung 17:**  $dLVP/dt_{max}$  der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test

Der Parameter  $dLVP/dt_{max}$  ist ein Maß für die linksventrikuläre maximale Kontraktionsgeschwindigkeit. Unter Verwendung von Cardioplexol konnten, während der Reperfusion, durchschnittlich höhere Kontraktionsgeschwindigkeiten gemessen werden als unter einer reinen Ischämie. Die Unterschiede der beiden Gruppen waren jedoch sowohl zu Beginn als auch zum Ende der Reperfusion nicht signifikant (SR  $p = 0,331$ ; ER  $p = 0,0776$ ). Dieses



## Ergebnisse

könnte darauf hindeuten, dass Cardioplexol keine bessere kardioprotektive Wirkung als eine 45-minütige reine Ischämie aufweist.

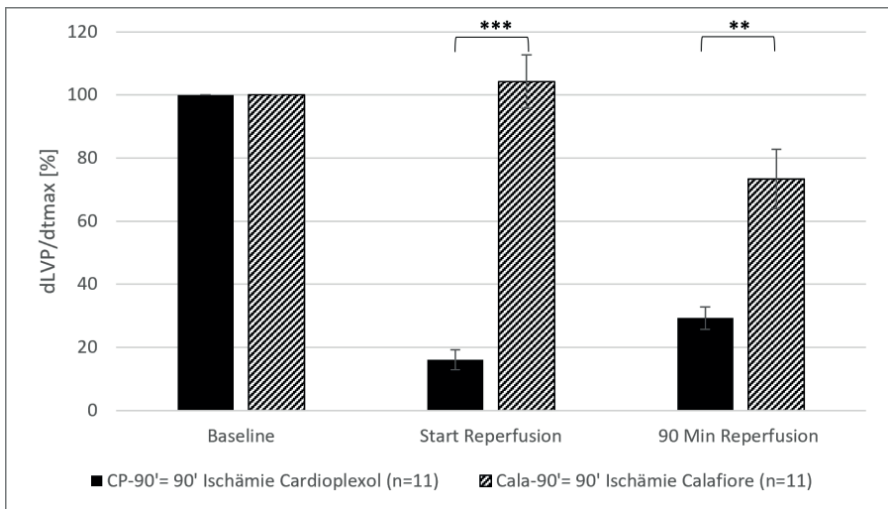


**Abbildung 18:**  $dLVP/dt_{max}$  der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, SR: Kruskal-Wallis Test mit post-hoc Test nach DSCF; ER: einfaktorielle Anova-Varianzanalyse mit post-hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

Eine Verlängerung der Ischämiedauer unter Verwendung von Cardioplexol wirkte sich signifikant auf die generierte maximale Kontraktionskraft während der Reperfusion aus (SR  $p = < 0,0001$ ; ER  $p = < 0,0001$ ). In der Frühphase der Reperfusion zeigte sich eine signifikante Verschlechterung der maximalen Kontraktionskraft mit steigender Ischämie­länge. Demnach konnte in der CP-

## Ergebnisse

30'-Gruppe die höchste Kontraktionsgeschwindigkeit gemessen werden, wohingegen die CP-90'-Gruppe eine signifikant schlechtere linksventrikuläre Kontraktionskraft entwickelte als die übrigen CP-Gruppen. Während zum Ende der Reperfusion kein signifikanter Unterschied zwischen der CP-30'- und der CP-60'-Gruppe bestand, war die Kontraktionsgeschwindigkeit innerhalb der CP-90'-Gruppe den übrigen Gruppen signifikant unterlegen.

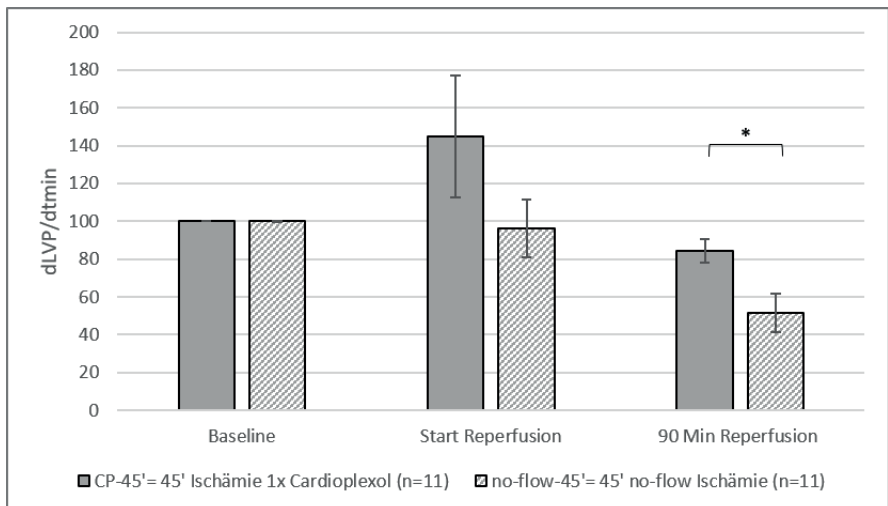


**Abbildung 19:**  $dLVP/dt_{max}$  der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90' 6, MW und SEM, SR: Mann-Whitney-U-Test, ER: Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

## Ergebnisse

Die Erholung der linksventrikulären Kontraktionsgeschwindigkeit war unter Verwendung von Calafiore signifikant besser als innerhalb der CP-90'-Gruppe (SR  $p = < 0,0001$ ; ER  $p = 0,0007$ ).

### 4.2.4 $dLVP/dt_{min}$

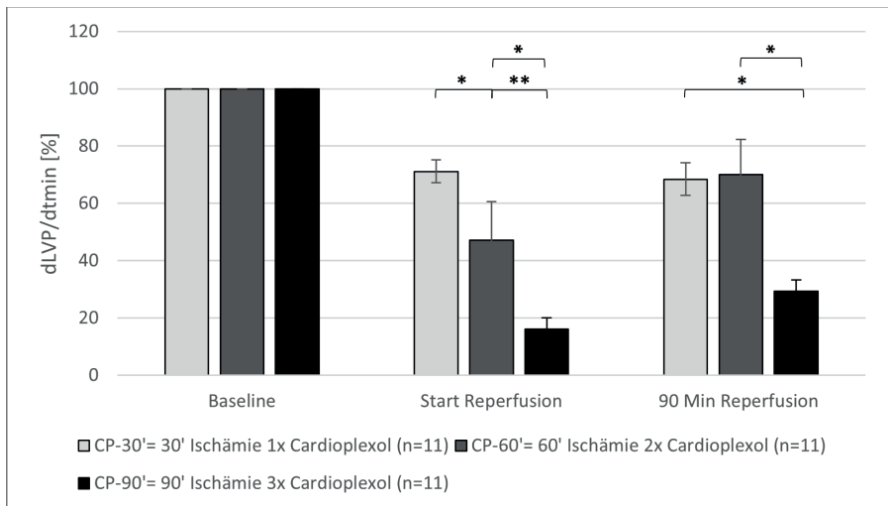


**Abbildung 20:**  $dLVP/dt_{min}$  der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, SR: Mann-Whitney-U-Test; ER: Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

Der Parameter  $dLVP/dt_{min}$  stellt die Zeit bis zum Erreichen des minimalen Drucks im linken Ventrikel dar. Dieser entspricht der maximalen Relaxationsgeschwindigkeit. Die CP-45'-Gruppe zeigte eine deutliche Überlegenheit über die no-flow-45'-Gruppe

## Ergebnisse

bezogen auf die linksventrikuläre Relaxationsgeschwindigkeit während der Reperfusion. Während der Unterschied der beiden Gruppen in der Frühphase der Reperfusion nicht signifikant war ( $p = 0,2703$ ), erreichte dieser zum Ende der Reperfusion ein signifikantes Niveau ( $p = 0,0123$ ).

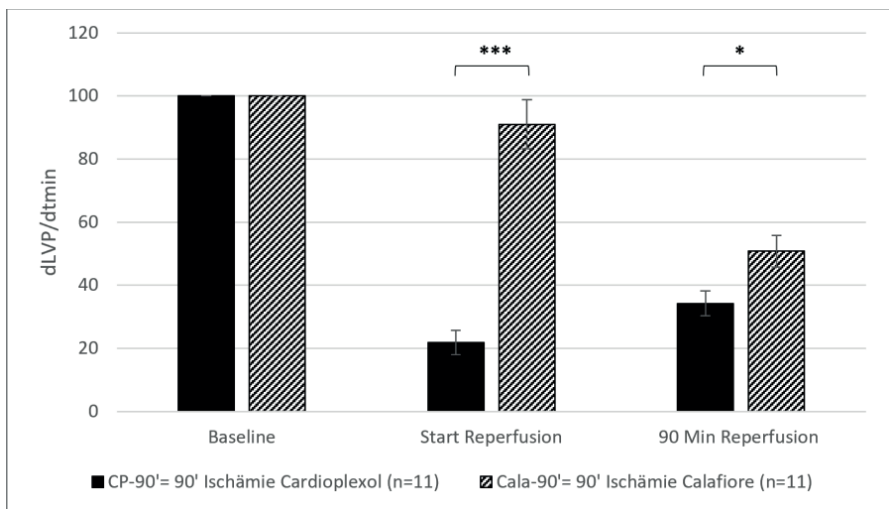


**Abbildung 21:**  $dLVP/dt_{min}$  der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90'; MW und SEM, SR: Kruskal-Wallis-Test mit post hoc Test nach DSCF; ER: Einfaktorielle Anova-Varianzanalyse mit post-hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

Die Verlängerung der Ischämiedauer unter Verabreichung von Cardioplexol im 30 Minuten Intervall hatte sowohl zu Beginn als auch zum Ende der Reperfusion einen signifikanten Einfluss

## Ergebnisse

auf die Entwicklung der Relaxationsgeschwindigkeit des linken Ventrikels (SR  $p=0,0001$ ; ER  $p<0,0001$ ). In der Frühphase der Reperfusion traten innerhalb der CP-60'- und CP-90'-Gruppe signifikant geringere Relaxationsgeschwindigkeiten auf. Dieses resultiert in einer signifikant schlechteren Lusitropie des linken Ventrikels. Zum Ende der Reperfusion konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der CP-30'- und der CP-60'-Gruppe erfasst werden. Lediglich die CP-90'-Gruppe zeigte ein signifikant schlechteres Relaxationsverhalten als die übrigen Cardioplexol-Gruppen.

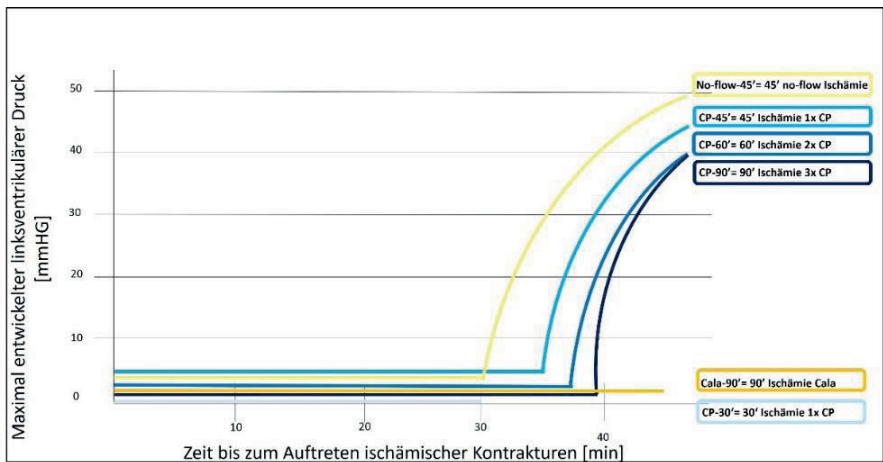


**Abbildung 22:**  $dLVP/dt_{min}$  der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', MW und SEM, zwei-Stichproben-T-Test; \* $p\leq 0,05$ ; \*\* $p\leq 0,001$ ; \*\*\* $p\leq 0,0001$

## Ergebnisse

Unter Verwendung von Calafiore wurden im Zuge der Reperfusion signifikant bessere Relaxationsgeschwindigkeiten gemessen als unter Verwendung von Cardioplexol (SR  $p = < 0,0001$ ; ER  $p = 0,0183$ ). Während in der Cala-90'-Gruppe im Verlauf der Reperfusion ein Rückgang der Lusitropie verzeichnet werden konnte, zeigte sich in der CP-90'-Gruppe eine geringgradige Verbesserung. Dennoch war die CP-90'-Gruppe zum Ende der Reperfusion der Cala-90'-Gruppe unterlegen.

### 4.2.5 Ischämische Kontraktionen



**Abbildung 23:** Druckveränderungen während der Ischämie innerhalb aller Gruppen

## Ergebnisse

In der no-flow-45'-Gruppe trat im Mittel nach 32-minütiger Ischämie ein Anstieg des linksventrikulären Drucks auf. Dieser erreichte Maximalwerte von durchschnittlich 52 mmHg. In der CP-45'-Gruppe traten hingegen erst nach etwa 36-minütiger Ischämie Druckveränderungen mit Plateauwerten von 44 mmHg auf. Dementsprechend führte die Induktion einer reinen Ischämie zu einem signifikant früheren Auftreten von ischämischen Kontrakturen ( $p=0,0363$ ) und zusätzlich zu signifikant höheren Plateauwerten ( $p=0,0036$ ) als unter Verwendung von Cardioplexol. Die experimentellen Ergebnisse detektieren somit eine Überlegenheit der CP-45'-Gruppe gegenüber der no-flow-45'-Gruppe.

Innerhalb der CP-30'-Gruppe traten keine wahrnehmbaren Druckveränderungen im linken Ventrikel während der Ischämie auf. Nach einer Verlängerung der Ischämiedauer von 30 auf bis zu 90 Minuten unter Nachdosierung von Cardioplexol in 30 Minuten Intervallen traten ischämische Kontrakturen innerhalb der CP-60'-Gruppe nach durchschnittlich 38 Minuten und innerhalb der CP-90'-Gruppe nach etwa 39 Minuten auf. Des Weiteren wurden in beiden Gruppen vergleichbare Plateauwerte erreicht. Die Unterschiede dieser beiden Gruppen waren demnach nicht signifikant. Durch die statistischen Berechnungen konnte zusätzlich bestätigt werden, dass eine Verlängerung der Ischämiedauer auf 60 bzw. 90 Minuten unter Verabreichung von Cardioplexol in

## Ergebnisse

Abständen von 30 Minuten keinen signifikanten Effekt auf den Zeitpunkt des Auftretens ( $p=0,5396$ ) und den maximal entwickelten Druck von ischämischen Kontraktionen hat ( $p=0,6599$ ).

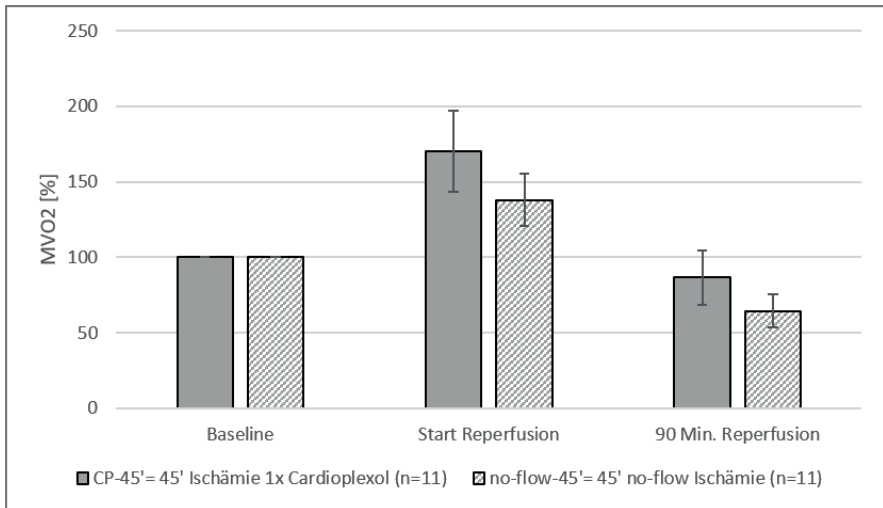
Wie auch in der CP-30'-Gruppe waren in der Cala-90'-Gruppe keine Druckveränderungen innerhalb des linken Ventrikels in der Phase der Ischämie wahrnehmbar. Bezogen auf das Auftreten ischämischer Kontraktionen ist die CP-90'-Gruppe der Cala-90'-Gruppe somit deutlich unterlegen.

### 4.3 Metabolismus

#### 4.3.1 Sauerstoffverbrauch



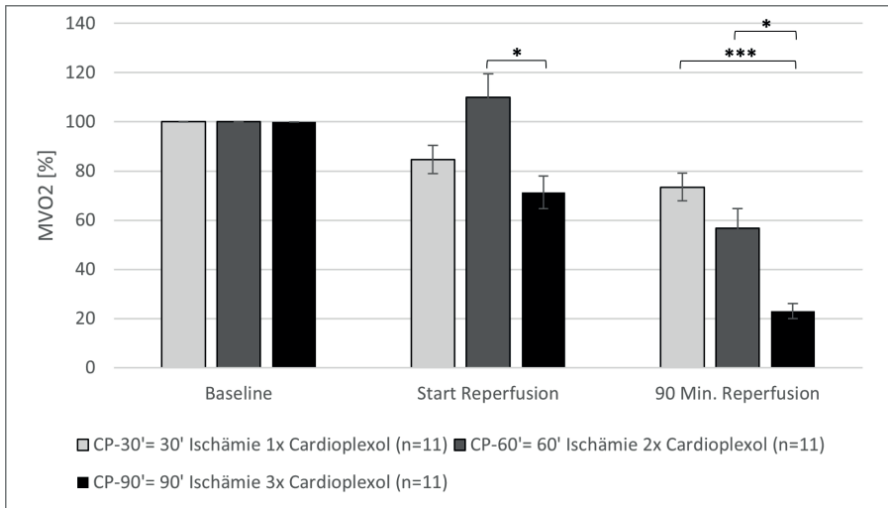
## Ergebnisse



**Abbildung 24:** Sauerstoffverbrauch MVO2 [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45'; MW und SEM, Zweistichproben-T-Test

Während der Reperfusion konnte eine Überlegenheit der CP-45' über die Gruppe der reinen Ischämie detektiert werden. Hier wurde eine bessere aerobe Stoffwechselleistung in der CP-45'-Gruppe als in der no-flow-45'-Gruppe gemessen. Trotz der deskriptiven Überlegenheit konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen berechnet werden (SR  $p = 0,2932$ ; ER  $p = 0,2345$ ). Die no-flow-45'-Gruppe zeigte ebenso wie die CP-45'-Gruppe einen initialen Anstieg des Sauerstoffmetabolismus zu Beginn der Reperfusion.

## Ergebnisse

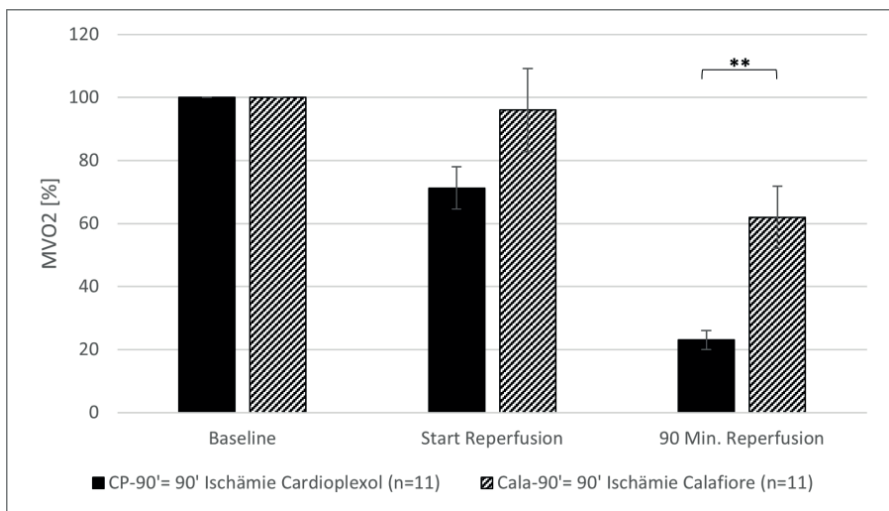


**Abbildung 25:** *Abbildung 25: Sauerstoffverbrauch MVO2 [%] der isolierten Herzen, Gruppe CP-30', CP-60' und CP-90'; MW und SEM, einfaktorielle Anova-Varianz-Analyse mit post-hoc Test und Fehlerkorrektur nach Bonferoni; \*p ≤ 0,05; \*\*p ≤ 0,001; \*\*\*p ≤ 0,0001*

Eine Verlängerung der Ischämiedauer von 30 auf bis zu 90 Minuten unter Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten wirkte sich signifikant auf den Sauerstoffmetabolismus der frühen und späten Reperfusion aus (SR  $p = 0,0045$ ; ER  $p < 0,0001$ ). Zu Beginn der Reperfusion wurde innerhalb der CP-60'-Gruppe der höchste und somit beste Sauerstoffverbrauch gemessen. Dieser war dem Sauerstoffmetabolismus der CP-90'-Gruppe signifikant überlegen während keine deutlichen Unterschiede zur CP-30'-Gruppe bestanden. Zum Ende der Reperfu-

## Ergebnisse

sion wurden in der CP-90'-Gruppe signifikant geringere Sauerstoffverbrauchswerte gemessen als in den übrigen Cardioplexol-Gruppen. Der geringe Sauerstoffverbrauch innerhalb der CP-90'-Gruppe detektierte eine signifikante Unterlegenheit gegenüber den Gruppen, welche einer kürzeren Ischämie ausgesetzt waren.



**Abbildung 26:** Sauerstoffverbrauch MVO2 [%] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90'; MW und SEM, Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

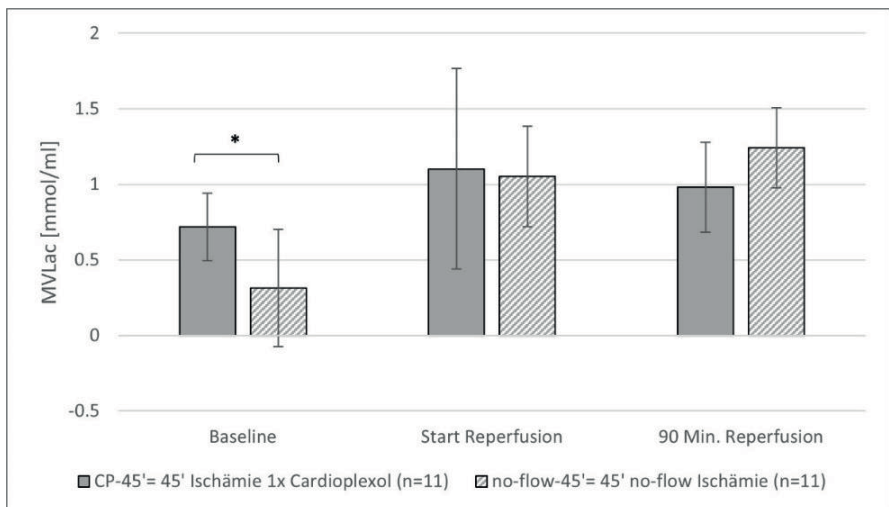
Innerhalb der Cala-90'-Gruppe konnte während der Reperfusion eine deutlich bessere aerobe Stoffwechsellleistung detektiert

## Ergebnisse

werden als in der CP-90'-Gruppe. Zum Ende der Reperfusion erreichte die Cala-90'-Gruppe sogar signifikant höhere Sauerstoffverbrauchswerte als ihre Vergleichsgruppe ( $p=0,0011$ ).

### 4.3.2 Laktatproduktion

Die Werte für die Laktatproduktion können nicht in „%“ der Baseline angegeben werden, da hier sowohl negative als auch 0-Werte vorliegen und somit eine Prozentrechnung nicht durchführbar ist.



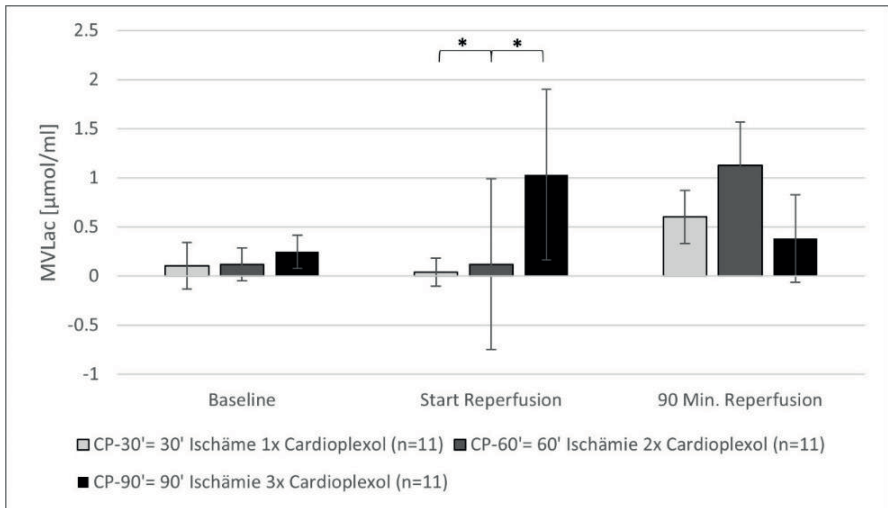
**Abbildung 27:** Laktatproduktion [ $\mu\text{mol/ml}$ ] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', MW und SEM, Mann-Whitney-U-Test; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

## Ergebnisse

Innerhalb der CP-45'-Gruppe konnten bereits zu Versuchsbeginn signifikant höhere Laktatwerte als in der no-flow-45'-Gruppe gemessen werden ( $p= 0,04$ ). Dieser initiale Unterschied muss zwingend bei der weiteren Bewertung dieser Ergebnisse beachtet werden.

Während der gesamten Reperfusion konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der CP-45'- und der no-flow-45'- Gruppe dargestellt werden. Die Verwendung von Cardioplexol war demnach mit keiner besseren Unterdrückung anaerober Stoffwechselprozesse assoziiert und lieferte keinen Vorteil gegenüber der reinen Ischämie bezogen auf den Laktatmetabolismus (SR  $p= 0,3653$ ; ER  $p= 0,2169$ ).

## Ergebnisse

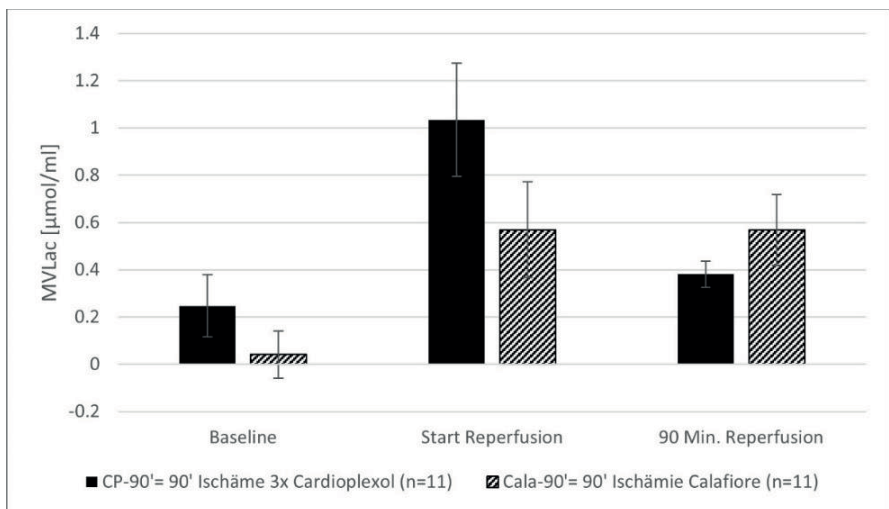


**Abbildung 28:** Laktatproduktion [ $\mu\text{mol/ml}$ ] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', MW und SEM, Kruskal-Wallis-Test mit post-hoc Test nach DCSF; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

Zum Zeitpunkt der Baseline konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen detektiert werden. Es kann demnach davon ausgegangen werden, dass die Gruppen vergleichbar sind. Die Verlängerung der Ischämiedauer von 30 auf bis zu 90 Minuten unter Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten hatte einen signifikanten Einfluss auf den Laktatmetabolismus zu Beginn der Reperfusion (SR  $p = 0,0046$ ). Zum Ende der Reperfusion bestand kein signifikanter Einfluss (ER  $p = 0,0541$ ). Innerhalb der CP-90'-Gruppe konnten zu Beginn der

## Ergebnisse

Reperfusion signifikant höhere Laktatwerte gemessen werden als in den übrigen Gruppen. Dieses deutet auf einen gesteigerten anaeroben Stoffwechsel hin. Zum Ende der Reperfusion wurden in der CP-60'-Gruppe die höchsten Laktatwerte gemessen. Paradoxe Weise wies die CP-90'-Gruppe den geringsten Laktatmetabolismus auf. Im Einklang mit der deutlichen Verschlechterung der Leistungsparameter und der aeroben Stoffwechselleistung der CP-90'-Gruppe muss der mögliche Zusammenhang mit einer irreversiblen Zellschädigung kritisch hinterfragt werden. Die Unterschiede innerhalb der drei Gruppen waren dennoch nicht signifikant.



**Abbildung 29:** Laktatproduktion [ $\mu\text{mol/ml}$ ] der isolierten Herzen im

## Ergebnisse

Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', MW und SEM, Zweistichproben-T-Test

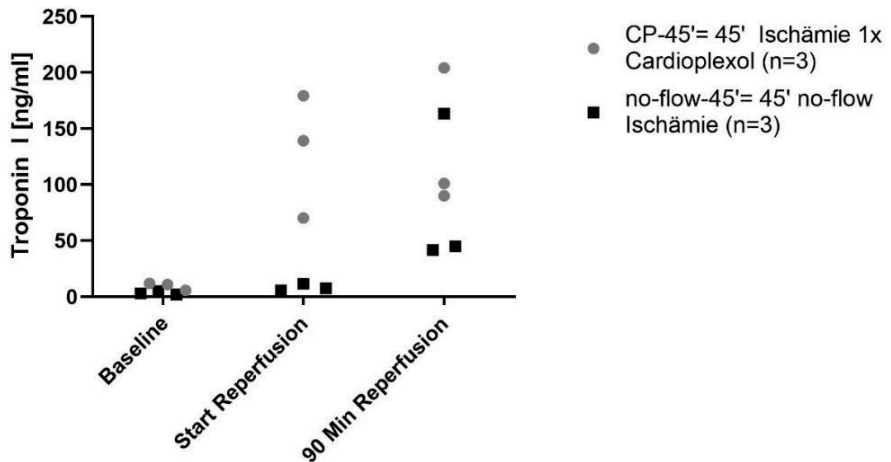
Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ausgangswerten des Laktatmetabolismus der CP-90'- und der Cala-90'-Gruppe ( $p=0,2263$ ). Demnach war davon auszugehen, dass die beiden Gruppen vergleichbar waren. In der Frühphase der Reperfusion lieferte die höhere Laktatproduktion innerhalb der CP-90'-Gruppe Hinweise auf eine schlechtere aerobe Stoffwechselleistung und eine deutlichere Fokussierung anhaltender anaerober Stoffwechselprozesse als in der Cala-90'-Gruppe. Der deskriptive Unterschied der beiden Gruppen war jedoch nicht signifikant ( $p=0,1521$ ). Während im weiteren Verlauf der Reperfusion ein deutlicher Abfall der Laktatkonzentration innerhalb der CP-90'-Gruppe gemessen werden konnte, zeigte der Laktatmetabolismus innerhalb der Cala-90'-Gruppe ein annähernd konstantes Niveau. Auch zum Ende der Reperfusion konnte keine signifikante Über-/ Unterlegenheit berechnet werden ( $p=0,2626$ ). Die niedrige Laktatkonzentration innerhalb der CP-90'-Gruppe zum Ende der Reperfusion sei unter Berücksichtigung irreversibler Zellschädigung und potenziellem Zelltod kritisch diskutiert.



## 4.4 Biomarker

### 4.4.1 Troponin

Aufgrund der besseren Darstellbarkeit werden die Troponin I-Werte nicht in % der Baseline dargestellt, sondern als Absolutwerte.

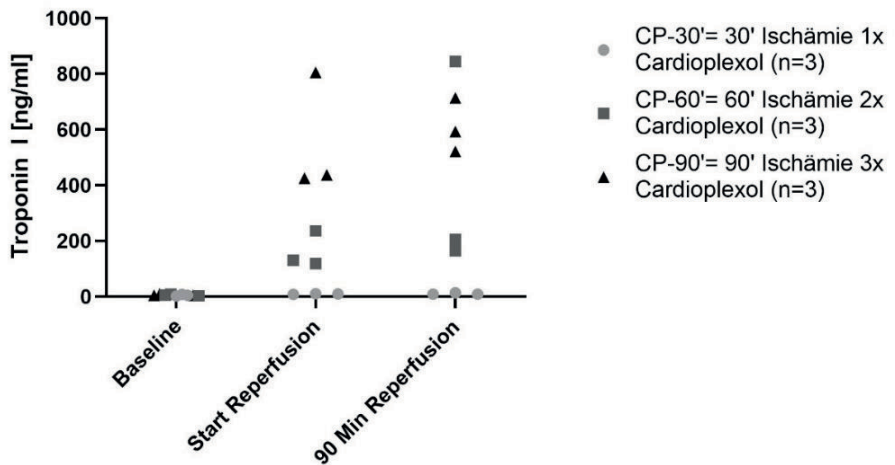


**Abbildung 30:** Troponin I [ng/ml] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-45' und no-flow-45', Mann-Whitney-U-Test

Bereits in der Frühphase der Reperfusion, wie auch zum Versuchsende, wurden innerhalb der CP-45'-Gruppe deutlich höhere Troponin I Konzentrationen gemessen als in der no-flow-

## Ergebnisse

45'-Gruppe. Die Verwendung von Cardioplexol konnte somit keine bessere myokardiale Protektion verglichen mit der reinen Ischämie entfalten. Dennoch waren die Unterschiede innerhalb der beiden Gruppen nicht signifikant (SR  $p=0,100$ ; ER  $p=0,400$ ). An dieser Stelle muss jedoch auf den geringen Stichprobenumfang ( $n=3$ ) verwiesen werden.



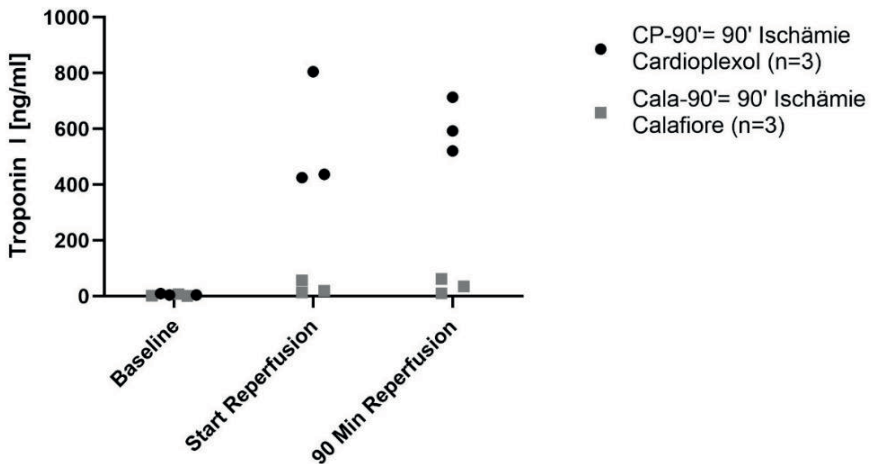
**Abbildung 31:** Troponin I [ng/ml] der isolierten Herzen, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', Kruskal-Wallis Test mit post hoc Test nach DCSE; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\* $p \leq 0,0001$

Zu Versuchsbeginn konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Cardioplexol-Gruppen dargestellt werden. Die Verlängerung der Ischämiedauer hatte zu Beginn der

## Ergebnisse

Reperfusion einen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung der Troponin I-Werte (SR  $p= 0,0273$ ). Am Ende der Reperfusion konnte jedoch kein signifikanter Einfluss festgestellt werden (ER  $p= 0,0608$ ). Innerhalb der CP-90' Gruppe wurden zu Beginn der Reperfusion die höchsten Troponin I-Werte gemessen. Demnach war eine Kardioplegiedauer von 90-Minuten mit einer deutlicheren Ausschüttung von kardialen Ischämie markern assoziiert. Zum Ende der Reperfusion zeigte sich eine ähnliche Tendenz wie bereits zuvor beschrieben. Der weitere Anstieg der Troponin I Konzentration detektierte einen stärkeren Untergang myokardialen Gewebes mit steigender Ischämiedauer und zusätzlich eine Erschöpfung der myokardialen Protektion ab einer Kardioplegiedauer von 60 Minuten. Dennoch konnten mithilfe des post-hoc Tests auch zum Ende der Reperfusion keine signifikanten Unterschiede detektiert werden. Hier sei jedoch erneut auf den geringen Stichprobenumfang verwiesen.

## Ergebnisse



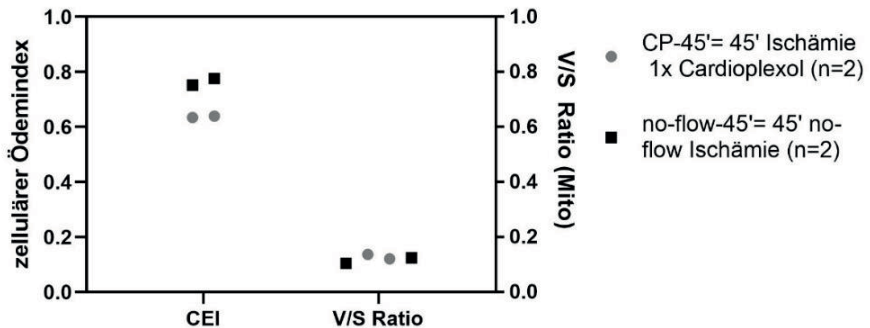
**Abbildung 32:** Troponin I [ng/ml] der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, Gruppen CP-90' und Cala-90', Mann-Whitney-U-Test.

Die Verwendung von Cardioplexol war mit einer deutlich höheren Freisetzung von Troponin I in der Frühphase und zum Ende der Reperfusion assoziiert. Demnach zeigte der Einsatz der Blutkardioplegie nach Calafiore ein eindeutig besseres kardioprotektives Potenzial. Die Überlegenheit der Cala-90'-Gruppe war aufgrund des geringen Stichprobenumfangs jedoch nicht signifikant (SR  $p=0,1000$ ; ER  $p=0,1000$ ).

### 4.5 Elektronenmikroskopie

## Ergebnisse

### 4.5.1 CEI und V/S Ratio



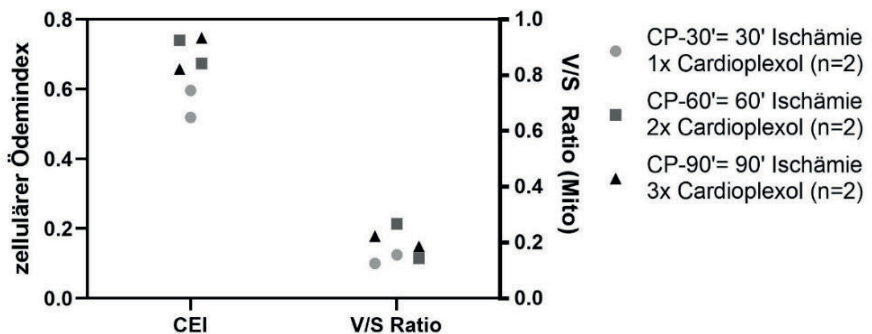
**Abbildung 33:** Zellulärer Ödemindex CEI und V/S Ratio der isolierten Herzen nach erfolgreichem Langendorff-Versuch, Gruppen CP-45' und no-flow-45', Mann-Whitney-U-Test

Innerhalb der no-flow-45'-Gruppe konnte eine stärkere ultrastrukturelle Ödematisierung und somit eine Unterlegenheit gegenüber der CP-45'-Gruppe detektiert werden. Jedoch konnten auch für diese beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede berechnet werden ( $p=0,333$ ).

Demgegenüber traten innerhalb der CP-45'-Gruppe stärkere mitochondriale Veränderungen auf als in der Gruppe der reinen Ischämie. Hier war die CP-45'-Gruppe der no-flow-45'-Gruppe somit unterlegen. Die Unterschiede der beiden Gruppen waren jedoch nicht signifikant ( $p=0,4386$ ).

## Ergebnisse

Es konnten keine signifikanten Vorteile der Verwendung von Cardioplexol, bezogen auf die ultrastrukturelle Unversehrtheit, gegenüber einer reinen Ischämie detektiert werden.

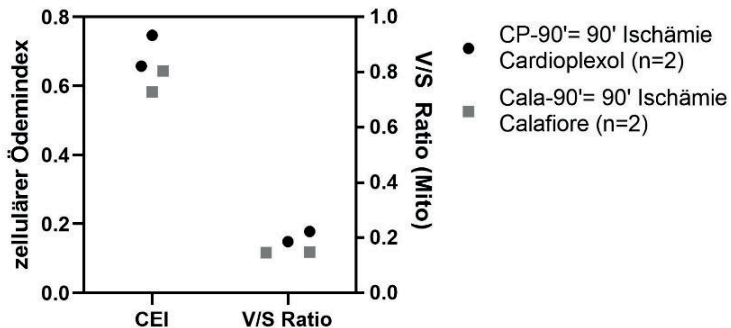


**Abbildung 34:** Zellulärer Ödemindex CEI und V/S Ratio der isolierten Herzen nach erfolgtem Langendorff-Versuch, Gruppen CP-30', CP-60' und CP-90', Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem post-hoc Test nach DCSF

Der quantitative Vergleich der Cardioplexol-Gruppen zeigte, dass mit zunehmender Ischämiedauer sowohl höhere zelluläre Ödemindex-Werte als auch stärkere mitochondriale Veränderungen auftraten. Eine Verlängerung der Kardioplegiedauer unter Verwendung von Cardioplexol resultierte demnach in einer verringerten ultrastrukturellen Unversehrtheit. Trotz der deskriptiven Unterschiede bestand kein signifikanter Einfluss des Kardioplegieschemas auf den Grad zellulärer Ödeme ( $p = 0,1801$ ) und das

## Ergebnisse

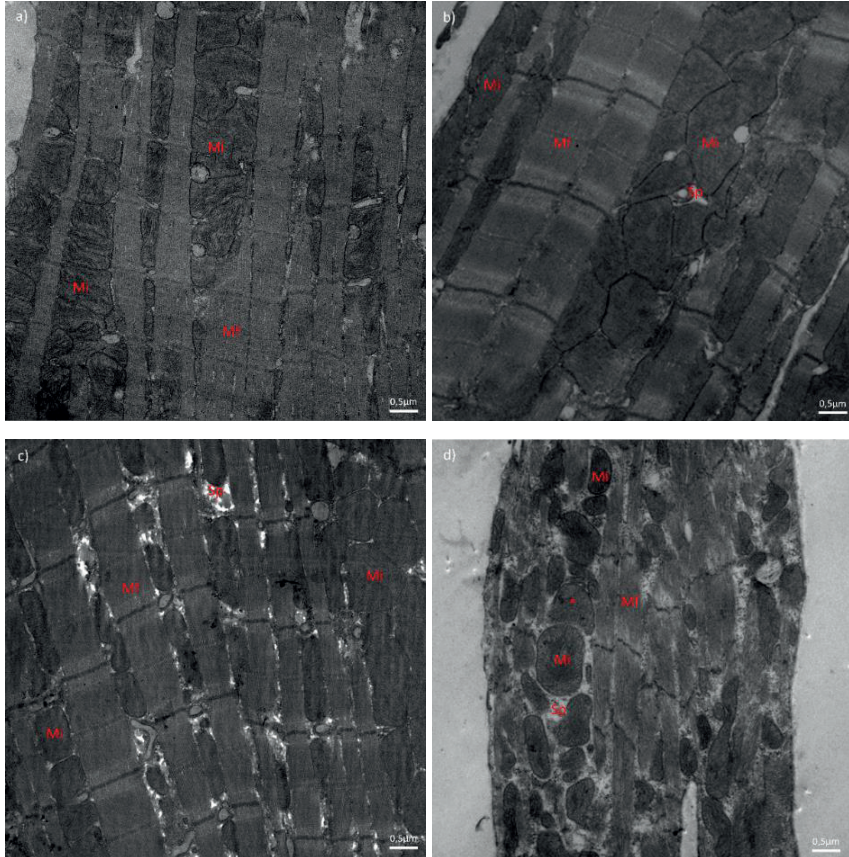
Ausmaß mitochondrialer Veränderungen ( $p= 0,3679$ ). An dieser Stelle sei jedoch auf den geringen Stichprobenumfang verwiesen.



**Abbildung 35:** Zellulärer Ödemindex CEI und der V/S Ratio der isolierten Herzen nach erfolgtem Langendorff-Versuch, Gruppen CP-90' und Cala-90', Mann-Whitney-U-Test

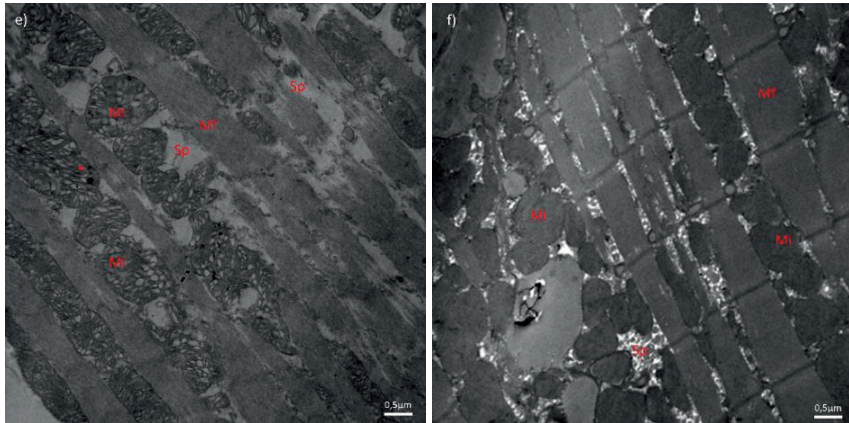
Nach Verwendung von Cardioplexol zeigte sich sowohl eine stärkere Ödem bedingte myokardiale Zellschwellung als auch ein größeres Maß mitochondrialer Veränderungen im Gegensatz zur Verwendung von Calafiore. Auch die Unterschiede zwischen diesen Gruppen waren nicht signifikant (CEI:  $p= 0,333$ ; V/S Ratio:  $p= 0,333$ ).

## 4.7 Qualitative Auswertung Elektronenmikroskopie





## Ergebnisse



**Abbildung 36:** Übersicht repräsentativer Aufnahmen a) CP-45' b) no-flow-45' c) CP-30' d) CP-60' e) CP-90' f) Cala-90' Mf= Myofibrille Mi= Mitochondrium Sp= Sarkoplasma

\* = Kalzium-Phosphat-Präzipitate; Vergrößerung: 12000x

Obwohl die statistischen Berechnungen der quantitativen Auswertung keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen detektieren konnten, zeigten die qualitativen Auswertungen Unterschiede auf. Der Strukturhalt der einzelnen Gruppen unterschied sich maßgeblich. Die Gruppen CP-30' und Cala-90' wiesen den besten Strukturzustand auf. In den Gruppen CP-60' und CP-90' waren teilweise elektronendichte Ablagerungen in den Mitochondrien zu finden. Diese sind als Kalzium-Phosphat-Präzipitate zu bezeichnen. Zusätzlich zeigten die Nuclei in diesen Gruppen deutliche Anzeichen von Chromatinkondensation. Unter Verwendung von Cardioplexol konnte mit

steigender Ischämiedauer eine deutlichere Schwellung der Mitochondrien mit desorganisierter Anordnung der Cristae beobachtet werden. Sowohl Anzeichen von Chromatinkondensation innerhalb der Nuklei, als auch Mitochondrien mit unregelmäßig angeordneten Cristae konnten innerhalb der Cala-90'-Gruppe nicht detektiert werden.

### 4.7.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

#### 1. CP-45' vs. No-flow-45':

Im direkten Vergleich zur reinen no-flow Ischämie kann die Verabreichung von Cardioplexol im Langendorff-Versuch eine signifikante Verbesserung der diastolischen Herzfunktion und des LVDP bewirken.

#### 2. CP-30' vs. CP-60' vs. CP-90':

Bei einer Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten und einer Ischämiedauer von 30-, 60-, und 90 Minuten kam es mit steigender Ischämiedauer zu einer signifikanten Verschlechterung der Leistungsparameter.

#### 3. CP-90' vs. Cala-90':

Die Gegenüberstellung einer 90-minütigen Ischämie unter Verwendung von Cardioplexol im Vergleich zu Calafiore identifizierte eine signifikant bessere kardioprotektive

## Ergebnisse

Wirkung von Calafiore. Dementsprechend erzielte Calafiore eine deutlich bessere Erholung der Leistungsparameter und des aeroben Metabolismus während der Reperfusion. Zusätzlich traten innerhalb der Cala-90<sup>i</sup>-Gruppe keine ischämischen Kontrakturen auf.

## 5 Diskussion

Bezugnehmend auf die eingangs formulierte Fragestellung dieser Arbeit können anhand der experimentellen Ergebnisse drei Hauptaussagen getroffen werden:

1. Die Verwendung von Cardioplexol ermöglicht eine bessere kardiale Erholung nach 45-minütiger Ischämie verglichen mit einer reinen Ischämie.
2. Längere ischämische Phasen unter Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten resultieren in einer schlechteren myokardialen Unversehrtheit.
3. Die kardioprotektiven Kapazitäten von Cardioplexol sind denen von Calafiore deutlich unterlegen.

Die bessere kardiale Erholung unter Verwendung von Cardioplexol im direkten Vergleich zu einer reinen Ischämie zeigte sich in signifikant höheren LVDP-Werten sowie einer signifikant besseren Relaxationsgeschwindigkeit des linken Ventrikels (vgl. Abb. 11; 20). Der LVDP berechnet sich aus dem linksventrikulären endsystolischen Druck subtrahiert mit dem enddiastolischen Druck. Er ist als Maß für die Herzkraft zu interpretieren (203). Da

sowohl die systolische Funktion als auch die diastolische Funktion einbezogen werden, kann mithilfe dieses Parameters eine Aussage über die kardiale Erholung getroffen werden. Höhere LVDP-Werte sind demnach mit einer besseren linksventrikulären systolischen und diastolischen Funktion assoziiert.

Die maximale Relaxationsgeschwindigkeit ( $dLVP/dt_{min}$ ) hingegen stellt ein Maß der Lusitropie und somit einen Parameter der diastolischen Herzfunktion dar. Eine Verminderung der relaxierenden Fähigkeiten resultiert in einer schlechteren diastolischen Füllung und beeinflusst somit ebenso wie die Inotropie die Auswurfleistung des Herzens (146). Das Auftreten einer diastolischen Dysfunktion nach CABG-Prozeduren stellt in der Klinik einen wichtigen prognostischen Marker dar. So ist eine verminderte diastolische Herzfähigkeit mit einer höheren Todesrate, schlechterer Entwöhnung von der Herz-Lungen-Maschine sowie längeren Krankenhausaufenthalten assoziiert (221, 222) und kann demnach zur Beurteilung der Qualität der myokardialen Protektion herangezogen werden. Da lediglich innerhalb der maximalen Relaxationsgeschwindigkeit und nicht innerhalb der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit eine signifikante Überlegenheit der CP-45<sup>i</sup>-Gruppe detektiert werden konnte, kann davon ausgegangen werden, dass Cardioplexol speziell zu einer

## Diskussion

besseren post ischämischen diastolischen Herzerholung führt und somit einen kardioprotektiven Effekt aufweist.

Sowohl innerhalb der Cardioplexol-Gruppe als auch innerhalb der direkten Vergleichsgruppe kann zu Beginn der Reperfusion ein Anstieg der Koronarperfusion und des myokardialen Sauerstoffverbrauches beobachtet werden (vgl. Abb. 14; Abb. 24). Der Sauerstoffverbrauch des Herzens steht in einem engen Verhältnis zum koronaren Blutfluss. Dies wurde schon früh von Katz und Kollegen beschrieben (223). Allgemein liefert der koronare Blutfluss ebenso wie der LVDP wertvolle Erkenntnisse über die myokardiale Unversehrtheit. Der Koronarfluss ist wie folgt definiert:

$$CF = \frac{\Delta P}{R}$$

Diese Formel beschreibt den Zusammenhang der Koronarperfusion, dem vorherrschenden Blutdruck sowie dem Widerstand der Gefäße. Da wir in unserem Versuchsaufbau mit einer druckkonstanten Perfusion arbeiten, liegt der mittlere Perfusionsdruck dauerhaft bei 70 mmHg. Der Koronarfluss wird somit in unserem Modell maßgeblich durch den Widerstand innerhalb der Gefäße beeinflusst. Dieser Widerstand wird allgemein durch zwei Faktoren bestimmt: Zum einen spielen intrinsische Faktoren eine Rolle. Diese umfassen beispielsweise die glatte Muskulatur der Blutgefäße. Zum anderen beeinflussen extrinsische Faktoren die

Entwicklung des Widerstandes. Als extrinsischer Faktor wird beispielsweise die myokardiale Kontraktion eingestuft. Diese komprimiert während der Systole die Koronargefäße und führt somit zu einer Reduktion der Koronarperfusion (146). Da es postischämisch lediglich zu einer geringgradigen Reduktion der myokardialen Kontraktionskraft kam, muss die beobachtete Steigerung der Koronarperfusion in der Frühphase der Reperfusion bei konstantem Perfusionsdruck demnach in einer Reduktion des Gefäßwiderstands begründet sein. Nach einer Phase der Ischämie kann es zu einem kompensatorischen Anstieg des Blutflusses kommen. Dieses Phänomen bezeichnet man auch als reaktive Hyperämie. Es wird angenommen, dass die reaktive Hyperämie einen Ausgleich Ischämie bedingter Unterversorgung repräsentiert. Dieser Prozess wird maßgeblich durch NO und Adenosin, als Mediatoren der gesteigerten Durchblutung, reguliert (224-227). Trotz dieser Erkenntnisse konnten Yamabe und Kollegen zeigen, dass weder eine Blockade der Zellsignalisierung von NO noch von Adenosin das Auftreten einer reaktiven Hyperämie in der frühen Reperfusion verhindern kann (228). So kann davon ausgegangen werden, dass die Prozesse, welche in einer reaktiven Hyperämie resultieren, noch nicht vollständig geklärt sind (229). Zusätzlich zu den bereits genannten Faktoren wird vermutet, dass Endothelin (230) und ATP-abhängige Kalium-Kanäle (231) einen Einfluss auf die Reaktivität der Gefäße und somit auf

das Auftreten einer reaktiven Hyperämie haben. Bloor und Kollegen konnten zusätzlich zeigen, dass bei einer Verlängerung der ischämischen Phase eine Reduktion der folgenden reaktiven Hyperämie detektiert werden kann (232). Die Ergebnisse dieser Studien deuten auf die Wichtigkeit der mikrovaskulären Zirkulation hin. Allgemein kann davon ausgegangen werden, dass das Auftreten reaktiver Hyperämien prognostisch wertvolle Informationen liefert. In einer Studie von Huang und Kollegen konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einem geringeren postischämischen Koronarfluss ein höheres kardiovaskuläres Risiko aufwiesen (233). Da bezüglich des Koronarflusses in der frühen Reperfusion keine signifikanten Unterschiede detektiert werden können, ist davon auszugehen, dass Cardioplexol keine Verbesserung der Koronarperfusion, verglichen mit der reinen Ischämie, bewirken kann.

Obwohl auch zum Ende der Reperfusion keine signifikanten Unterschiede zwischen der CP-45'- und der no-flow-45'-Gruppe detektiert werden konnten, liefert der deutlich reduzierte Koronarfluss am Ende der Reperfusion in beiden Gruppen wichtige Erkenntnisse über den myokardialen Zustand und die kardioprotektiven Kapazitäten von Cardioplexol. Gemäß den zuvor dargelegten Zusammenhängen vom Koronarfluss, dem Gefäßwider-



stand und dem Perfusionsdruck wird eine Reduktion der Koronarperfusion in unserem Modell maßgeblich durch eine Steigerung des Gefäßwiderstands begründet. Erhöhungen des Gefäßwiderstandes können unterschiedliche Ursachen haben. Bei der Verwendung hyperkaliämischer Kardioplegielösungen kann es durch eine kaliuminduzierte Vasokonstriktion zu einer Steigerung des Gefäßwiderstandes kommen (157, 234, 235). Jedoch wurde lediglich in der CP-45'-Gruppe eine hyperkaliämische Kardioplegielösung verwendet. Da die Reduktion der Koronarperfusion jedoch in beiden Gruppen auftrat, liegt die Vermutung nahe, dass andere Aspekte ursächlich sein müssen. Diese werden im Folgenden erläutert.

Ein verminderter Koronarfluss kann des Weiteren im Vorliegen myokardialer Ödeme begründet sein. Bei einer Unterbrechung der Blutzufuhr und somit der Sauerstoffbereitstellung kommt es zu einem schnellen Abfall der ATP-Konzentration des Myokards (46). Die Energiegewinnung durch oxidative Phosphorylierung kommt zum Erliegen und es reichert sich Pyruvat im Gewebe an, dieses wird in Laktat umgewandelt (25). Die nun einsetzende anaerobe Glykolyse stellt weniger ATP bereit als oxydative Prozesse (236) und kann somit den Energiebedarf des Herzens nicht decken. Der schnelle Verbrauch von Energiereserven, besonders durch anhaltende Kontraktionen in den ersten Minuten

der Ischämie sowie durch Aufrechterhaltung von Ionenströmen, resultiert in einer geringeren Toleranz gegenüber ischämischen Phasen (46). Als Folge des Energiedefizites kommt es zum Ausfall der ATP-abhängigen  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe. Dies führt zu einem Ausstrom von Kalium- und Magnesiumionen aus der Zelle, während Natrium- und Kalziumionen einströmen, was eine Verschiebung der Ionenkonzentrationen bedingt (237, 238). Da Wasser passiv den Natriumionen folgt, tritt im weiteren Verlauf ein intrazelluläres Ödem auf (239). Während der Reperfusion führt das schnelle Auswaschen osmotisch aktiver Substanzen zu einem transsarkolemmalen osmotischen Gradienten. Dieser Gradient führt zu einem Flüssigkeitseinstrom und weiterer Zellschwellung mit Zunahme des Wassergehaltes im Gewebe (240). Die Zusammensetzung der verwendeten Kardioplegie bzw. die verwendete Myokardprotektion haben einen maßgeblichen Einfluss auf das Ausmaß der zellulären Ödeme (240). Gemäß den dargelegten Zusammenhängen spielen besonders die unverzügliche Induktion eines diastolischen Herzstillstandes sowie die bestmögliche Reduktion des Energiehaushaltes eine bedeutende Rolle. Als Folge der Zellschwellung kommt es zu einer Beeinträchtigung der Herzfunktion (241). Diese äußert sich, wie auch in unserer Studie, in einer verminderten Auswurfleistung (241) (bewertet

über die Parameter der Inotropie und Lusitropie), einer verminderten linksventrikulären Compliance (242) und einer Reduktion der Koronarperfusion (217).

Ähnlich wie in klinischen Studien (14, 15) konnte unmittelbar nach der Verabreichung von Cardioplexol unter experimentellen Bedingungen eine Stagnation der Herztätigkeit beobachtet werden. Dieser Aspekt deutet darauf hin, dass trotz des geringen Volumens eine adäquate Verteilung der Kardioplegielösung im Herzen stattgefunden hat und steht in Einklang mit den Beobachtungen von Matt und Kollegen (15). Die schnelle Induktion des Herzstillstands deutet zusätzlich darauf hin, dass der Verbrauch von Energiereserven durch anhaltende Kontraktion des Herzens während der Frühphase der Ischämie limitiert ist. Unter den Bedingungen einer reinen Ischämie trat erst geringgradig verzögert ein diastolischer Herzstillstand ein. In dieser Gruppe kann demnach von einem stärkeren Energieverbrauch in der Frühphase der Ischämie ausgegangen werden.

Rubboli und Kollegen konnten in ihrer Studie an isolierten Rattenherzen zeigen, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt der Herzen [ml/g Trockenmasse] und Veränderungen im Gefäßwiderstand besteht. Sie stellten dar, dass ein Anstieg der Wasserkonzentration und somit die Zu-

nahme eines zellulären Ödems mit einem Anstieg des Gefäßwiderstandes assoziiert ist (243). Durch die Ödem-assoziierte Reduktion des Koronarflusses kann auch im Zuge der Reperfusion keine adäquate Blutversorgung gewährleistet werden. Somit werden ischämische Bedingungen aufrechterhalten. Diese führen zu einer Potenzierung der Zellschädigung und resultieren schließlich in myokardialen Nekrosen (244, 245). In unseren Untersuchungen wurde keine Bestimmung des Wassergehaltes der Herzen durchgeführt. Dennoch konnte mithilfe von elektronenmikroskopischen Untersuchungen, welche neben der qualitativen Beurteilung zusätzlich die Erfassung des zellulären Ödemindex (CEI) und die Erfassung ultrastruktureller Veränderungen der Mitochondrien umfassen, Rückschlüsse auf den Grad der Zellschwellung (217) sowie ultrastrukturelle Veränderungen der Mitochondrien gezogen werden (219, 220). Übereinstimmend mit den zuvor dargestellten Zusammenhängen zeigten Herzen, die einer reinen Ischämie ausgesetzt waren, einen höheren zellulären Ödem-Index und zusätzlich einen niedrigeren Koronarfluss am Ende der Reperfusion, als Cardioplexol-Hezen. Dieser Befund liefert eine Erklärung für den Anstieg des Gefäßwiderstands. Der scheinbare Widerspruch in der Annahme eines gesteigerten Gefäßwiderstands begründet durch myokardiale Ödeme und dem Auftreten einer reaktiven Hyperämie zu Beginn der Reperfusion ist auf die Pathophysiologie myokardialer

Ödeme zurückzuführen. Diese zeigen eine bimodale Entstehungskurve. So konnte eine Studie aus dem Jahr 2015 zeigen, dass Schweineherzen, die einer 120-minütigen Ischämie ohne Reperfusion ausgesetzt waren, einen wesentlich geringeren Ödematisierungsgrad aufwiesen als Herzen, die einer 40-minütigen Ischämie und einer 80-minütigen Reperfusion unterzogen wurden. Die Autoren schlussfolgern, dass postischämische myokardiale Ödeme demnach hauptsächlich in der Reperfusion auftreten. Zusätzlich konnte erst nach zwei Stunden Reperfusion die maximale Ödemausprägung beobachtet werden (246), was das Auftreten der reaktiven Hyperämie in der Frühphase der Reperfusion ermöglicht. Die fehlenden signifikanten Unterschiede innerhalb der beiden Gruppen, den Ödematisierungsgrad betreffend, sind in der geringen Stichprobenanzahl begründet. So reicht die statistische Power nicht aus, um Unterschiede verlässlich darzustellen.

Wie auch der zelluläre Ödem-Index (CEI), liefert das Verhältnis der Mitochondrien zur Gesamtoberfläche wichtige Erkenntnisse über die ultrastrukturelle Verfassung der Herzen. Die V/S Ratio ist ein vom Referenz-Volumen unabhängiger, sensibler Parameter zur Erfassung mitochondrialer Veränderungen (219, 220). Schmiedl und Kollegen konnten in ihrer Studie zeigen, dass es zu starken Unterschieden bezüglich der Ultrastruktur des linken

Ventrikels in Abhängigkeit der verwendeten Kardioplegiemethode kommt (220). Dieser Aspekt wurde in weiteren Studien ebenso deutlich hervorgehoben (247, 248). Zusätzlich besteht eine Korrelation zwischen mitochondrialer Schädigung und weiterreichenden Ischämie-assoziierten strukturellen Veränderungen sowie zur ATP-Konzentration innerhalb des linken Ventrikels (220). Die höheren V/S Ratio Werte innerhalb der CP-45' Gruppe deuten demnach daraufhin, dass Cardioplexol keinen zuverlässigen ultrastrukturellen Schutz des linken Ventrikels gewährleisten kann. Auch an dieser Stelle sei angemerkt, dass die statistischen Berechnungen bezüglich der strukturellen Veränderung der Mitochondrien nicht zuverlässig in der Lage sind, Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu detektieren, da der Stichprobenumfang zu gering gewählt wurde. Dies gilt es in folgenden Studien zu verbessern.

Ein weiterer möglicher Erklärungsansatz der Reduktion des koronaren Blutflusses sind mikrovaskuläre Funktionsstörungen. Diese stellen ein Zusammenspiel aus endothelialen Funktionsstörungen, mikrovaskulären Obstruktionen, Ödemen und oxidativem Stress dar und können im no-reflow Phänomen enden (52). Diese Prozesse werden maßgeblich durch die Verfügbarkeit von NO und Superoxidradikalen beeinflusst (64, 249). Leider wurden in unseren Untersuchungen keine Bestimmungen von

## Diskussion

NO und Superoxidradikalen durchgeführt, weshalb das Vorliegen mikrovaskulärer Funktionsstörungen nur vermutet werden kann. Jedoch stellen diese Untersuchungen einen interessanten Aspekt für folgende Studien dar.

Bedingt durch das enge Verhältnis des Sauerstoffverbrauchs und der Koronarperfusion kommt es durch eine Reduktion des Koronarflusses, verursacht durch eine Erhöhung des Gefäßwiderstands im Zuge myokardialer Ödeme, zu einer Reduktion des Sauerstoffverbrauchs in Folge einer Minderperfusion (146). Vorherrschende zelluläre Ödeme führen zusätzlich zu einer Vergrößerung des myokardialen Interstitiums und resultieren somit in einer Erweiterung der Sauerstoff-Diffusions-Strecke, was sich ebenfalls in einem verminderten Sauerstoffverbrauch des Myokards niederschlagen kann (250). Unabhängig von der erniedrigten Koronarperfusion resultiert die irreversible Zellschädigung mit einhergehendem Zelltod ebenfalls in einer reduzierten Stoffwechselleistung.

Die Ergebnisse unserer experimentellen Studie deuten darauf hin, dass die kardioprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol denen einer reinen Ischämie geringgradig überlegen sind. Somit besteht bei einmaliger Verabreichung von Cardioplexol und einer Ischämiedauer von 45 Minuten ein protektives Potential. Dies steht im Einklang mit klinischen Studien. Jedoch wird in diesen

von einer sicheren Myokardprotektion durch die einmalige Verabreichung von Cardioplexol von 45-60 Minuten ausgegangen (14-16).

Matt und Kollegen konnten in einer retrospektiven Studie mit 61 Patienten, welche einem isolierten Aortenklappenersatz unterzogen wurden, zeigen, dass unter Verwendung von Cardioplexol eine signifikante Korrelation zwischen der Dauer des cross-clampings und dem Anstieg der Troponin T-Werte besteht. Eine zusätzlich durchgeführte Regressionsanalyse bestätigte, dass die cross-clamping Dauer einen signifikanten prognostischen Effekt auf die Troponin T-Konzentrationen hat (15). Das Klinikum für Herzchirurgie in Basel konnte zuvor bereits belegen, dass Troponin T-Konzentrationen von  $> 0,9 \mu\text{g/L}$  mit einem schlechteren 12 Monats-„Outcome“ assoziiert sind (251). Aufgrund dessen wurde in der Studie von Matt und Kollegen ein cut-off-Wert für Troponin T von  $0,9 \mu\text{g/L}$  definiert. Hier konnte gezeigt werden, dass unter Verwendung von Cardioplexol Konzentrationen von  $> 0,9 \mu\text{g/L}$  mit cross-clamping Zeiten  $> 60$  Minuten assoziiert waren. Der Autor empfiehlt daher Cardioplexol bei längerem cross-clamping alle 30 Minuten zu verabreichen (15). Um die von Matt und Kollegen dargestellten Befunde der Ischämiedauer abhängigen Kardioprotektion genauer zu beleuchten, wurden Ischä-



mieintervalle von 30, 60 und 90 Minuten vergleichend untersucht. Die experimentellen Untersuchungen im Langendorff-Modell ergaben, unter Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten, eine schlechtere myokardiale Erholung mit steigender Ischämiedauer. Bereits eine Verlängerung der ischämischen Phase auf 60 Minuten trotz zweimaliger Applikation von Cardioplexol zeigte eine deutliche Abnahme des LVDP, der Koronarperfusion und der Kontraktilität der Herzen. Nach 90-minütiger Ischämie waren die erreichten Leistungsparameter sogar signifikant geringer als in den übrigen Cardioplexol-Gruppen. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit früheren Erkenntnissen zum Verständnis von Ischämie-/ Reperfusions-assoziierten Schädigungen. Je länger eine Ischämie aufrechterhalten wird, desto deutlicher sind die zellulären und molekularen Veränderungen im Myokard (126). Die Ziele einer adäquaten Kardioprotektion liegen in der Induktion eines diastolischen Herzstillandes sowie der Reduktion des myokardialen Energiebedarfes. Demnach soll die Verabreichung von Kardioplegie in einer verlängerten Toleranz des Myokards gegenüber ischämischen Phasen resultieren (126). Die Beobachtungen unter experimentellen Bedingungen zeigen ähnlich wie die Studie von Matt und Kollegen eine Verschlechterung der myokardialen Erholung/ Protektion mit steigender Ischämiedauer unter Verwendung von Cardioplexol. Dennoch besteht ein nicht zu vernachlässigender Unterschied im

Kardioplegieprotokoll: Während die Operationen in der Studie von Matt und Kollegen unter einer moderaten systemischen Hypothermie (32 °C) durchgeführt wurden, herrschten während unseren experimentellen Untersuchungen normotherme Bedingungen (ca. 37 °C). Schon sehr lange ist bekannt, dass der Zustand der Hypothermie in der Lage ist, den Sauerstoffverbrauch einzelner Organe zu reduzieren und somit ein kardioprotektives Potential aufweist (126). Die Kombination von Hypothermie mit der Verwendung von Cardioplexol könnte die Toleranz gegenüber ischämischen Phasen verlängern und deshalb bessere Ergebnisse als unter normothermen Bedingungen liefern. Diese mögliche Verlängerung der Toleranz des Myokards gegenüber ischämischen Bedingungen unter Applikation von Cardioplexol in Kombination mit moderater Hypothermie liefert einen interessanten Ansatz für weitere Untersuchungen.

Die experimentellen Ergebnisse zeigten einen Einfluss der Verlängerung der Ischämiedauer unter Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten auf die Entwicklung des LVDP während der Reperfusion. Nach 60 und 90-minütiger Ischämie konnten signifikant niedrigere LVDP Werte gemessen werden als in der Gruppe, die einer 30-minütigen Ischämie ausgesetzt war (*vgl. Abb. 12*). Wie bereits erläutert deutet dieses auf eine Verschlechterung der kardialen Erholung hin. Ob diese Verschlechterung

auf einer systolischen oder diastolischen Dysfunktion basiert, soll im weiteren Verlauf der Diskussion geklärt werden.

Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit ( $dLVP/dt_{max}$ ) stellt in unserem Versuchsaufbau ein Maß der Inotropie und somit der systolischen Herzfunktion dar (203). Innerhalb der Cardioplexol-Gruppe, welche einer 90-minütigen Ischämie ausgesetzt war, konnte zum Ende der Reperfusion eine signifikant verminderte maximale Kontraktionsgeschwindigkeit detektiert werden (*vgl. Abb. 18*). Da die Auswurfleistung des Herzens maßgeblich durch die Inotropie beeinflusst wird (146), ist es essentiell die Kausalität der Einbußen zu klären. Im Zuge einer Hypoperfusion während ischämischer Phasen erfolgt die Energiegewinnung durch einen forcierten Fettsäurestoffwechsel. Es kommt zu einer Anreicherung von Laktat und Wasserstoff (236). Dies bedingt ein Absinken des vorliegenden pH-Wertes und führt somit zu azidotischen Verhältnissen (28). Kalzium wird von Troponin durch die vorherrschende Azidose verdrängt. Somit können keine Troponin-Myosin-Komplexe ausgebildet werden und es wird eine kontraktionshemmende Wirkung erzielt (252). Das Verständnis des myokardialen anaeroben Stoffwechsels verdeutlicht den engen Zusammenhang der Inotropie mit der Laktatkonzentration des Herzens und somit sekundär die Beeinflussung der Auswurfleistung. Diesbezüglich ist eine Besonderheit in den Ergebnissen unserer

Studie detektierbar. Bis zu einer Dauer der ischämischen Phase von 60 Minuten kann ein stetiger Anstieg der Laktatkonzentration innerhalb der Cardioplexol-Gruppen verzeichnet werden. Nach 90-minütiger Ischämie ist hingegen ein Abfall der Laktatproduktion auf Werte ähnlich dem Ausgangsniveau zu verzeichnen (vgl. Abb. 28). Weiss und Kollegen konnten bereits sehr früh zeigen, dass ATP, gewonnen durch oxidative Phosphorylierung, vorzugsweise für kardiale Kontraktilität verwendet wird (253) und somit ein eventueller Zusammenhang zwischen anhaltenden anaeroben Stoffwechselprozessen und einer reduzierten kardialen Erholung besteht. Grundsätzlich konnte später belegt werden, dass eine verzögerte Erholung des aeroben Stoffwechsels, repräsentiert durch anhaltende Laktatfreisetzung während der Reperfusion, hinweisend auf eine inadäquate Kardioprotektion während des kardioplegischen Herzstillstandes ist und somit in einer schlechteren kardialen Erholung resultiert (254). Da weitere Leistungsparameter, wie die Troponin I-Konzentrationen als auch die Resultate der elektronenmikroskopischen Auswertungen, eine deutliche Verschlechterung der Ergebnisse mit steigender Ischämiedauer zeigen, kann angenommen werden, dass die niedrigen Laktatwerte innerhalb der 90-minütigen Ischämie Gruppe nicht durch eine besonders gute Kardioprotektion erzielt werden können. Ferner ist davon auszugehen, dass aufgrund

## Diskussion

von irreversibler Zellschädigung der Metabolismus der Kardiomyozyten zum Erliegen kommt und somit eine verminderte Laktatfreisetzung detektiert werden kann. Auch wenn klinische Studien bislang keine verminderte Auswurfleistung und somit mögliche Hinweise auf eine Entgleisung des anaeroben Metabolismus unter Verwendung von Cardioplexol lieferten, so sollte dieser Aspekt bei längeren cross-clamping Zeiten (> 60 Minuten), welche bislang unter klinischen Bedingungen nicht eruiert wurden, bedacht werden. Die Hintergründe niedriger Laktatfreisetzung in Kombination mit schlechter kardialer Erholung gilt es in folgenden Studien genauer zu untersuchen. Als limitierender Faktor sei angemerkt, dass im Rahmen unserer experimentellen Untersuchungen keine Erfassung des ATP-Gehaltes der Herzmuskulatur zu verschiedenen Perfusionszeitpunkten durchgeführt wurde. Auskünfte über den Energiegehalt der Kardiomyozyten könnten speziell in Bezug auf das Auftreten zellulärer Ödeme und den anaeroben Metabolismus wertvolle Erkenntnisse liefern, um die ablaufenden Prozesse unter Verwendung von Cardioplexol besser zu verstehen. Die großen Standardfehler innerhalb des Laktatmetabolismus sind der Tatsache geschuldet, dass die Messungen des Perfusats, bestehend aus Rindererythrozytenkonzentrat, mit einem humanmedizinischen Gerät durchgeführt wurden, welches in unserem Fall vom Rattenherz metabolisiertes Laktat detektiert. Trotz dieser Variationen um den Mittelwert

## Diskussion

konnten in unserer Arbeitsgruppe mit der Verwendung dieser Methode die besten Ergebnisse erzielt werden. Zusätzlich zu den großen Standardfehlern traten besonders zum Zeitpunkt der Baseline negative Laktatproduktionswerte auf. Hier war somit der arterielle Laktatgehalt höher als der venöse. Auch wenn gerade zu Beginn nur niedrige Laktatwerte gemessen wurden, so liegen diese noch im zuverlässigen Messspektrum des verwendeten Gerätes. Eine Erklärung der negativen Werte durch Messungenauigkeiten erscheint deshalb nur bedingt sinnvoll. Grundsätzlich ist der Herzmuskel in der Lage Laktat als Energiequelle zu verwenden. Da unser Blut während des Schlachtprozesses von Rindern gewonnen wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, dass es tötungsassoziiert zu einer Laktatfreisetzung kam. Dieses Laktat könnte somit auch im weiteren Prozess der Verarbeitung als Energiequelle für die Rattenherzen dienen und somit zu geringeren venösen als arteriellen Laktatkonzentrationen führen.

Neben den zuvor aufgeführten Kausalitäten, das Kontraktionsverhalten des Herzens betreffend, führt das Auftreten myokardialer Ödeme zusätzlich zu einer allgemeinen Reduktion der systolischen Herzfunktion. So zeigten verschiedene Studien, dass bereits ein geringer Anstieg des zellulären Ödemgehalts in einer Beeinträchtigung der systolischen Herzfunktion resultiert (241,

255). Ebenso wie die systolische Myokardfunktion kann auch die diastolische Herzfunktion durch myokardiale Ödeme stark beeinträchtigt sein. Mit steigender Ischämiedauer konnte in unseren Untersuchungen eine signifikante Verlangsamung der Relaxationsgeschwindigkeit gemessen werden (vgl. Abb. 21). Die maximale Relaxationsgeschwindigkeit stellt, wie zuvor bereits beschrieben, ein Maß der Lusitropie und somit einen Parameter der diastolischen Herzfunktion dar. Frühere Studien konnten bereits zeigen, dass myokardiale Ödeme zum einen in einer gesteigerten Steifheit der Papillarmuskulatur (256) resultieren und sich zum anderen negativ auf die diastolische Herzfunktion auswirken (257-259). Wie zuvor bereits angemerkt stellt die diastolische Herzfunktion in klinischen Studien einen wichtigen prognostischen Marker dar. So kann davon ausgegangen werden, dass eine diastolische Dysfunktion mit einer höheren Sterberate, längeren Krankenhausaufenthalten und Problemen bei der Entwöhnung der extrakorporalen Zirkulation assoziiert ist (221, 222). Aufgrund der prognostischen Relevanz sollte bei einer Verlängerung der cross-clamping Zeiten unter Verwendung von Cardioplexol das Hauptaugenmerk auf der Auswurfleistung des Herzens liegen. Auch die Ergebnisse unserer Studie zeigen einen scheinbaren Zusammenhang des Grades der Ödematisierung mit der Verlängerung der maximalen Relaxationsgeschwindig-

keit und der systolischen Herzfunktion. Innerhalb der Cardioplexol-Gruppen, die einer 60- bzw. 90-minütigen Ischämie ausgesetzt waren, konnten höhere zelluläre Ödemindexe berechnet werden als innerhalb der CP-30'-Gruppe. Stringent zu den vorherigen Erläuterungen traten innerhalb der CP-90'-Gruppe, in welcher der höchste Ödemgehalt nachgewiesen wurde die geringste Kontraktionsgeschwindigkeit und die niedrigste Relaxationsgeschwindigkeit auf.

Da es innerhalb der systolischen und diastolischen myokardialen Funktion zu deutlichen Einbußen mit verlängerter Ischämiedauer kam, kann davon ausgegangen werden, dass eine globale Verminderung der Herzfähigkeit vorliegt, die sich in einem erniedrigten LVDP äußert und besonders bei einer Verlängerung der ischämischen Phasen manifestiert. Die Ursache der global verminderten Herzfähigkeit scheint in einer unzureichenden Kardioprotektion und dem dadurch bedingten Auftreten myokardialer Ödeme zu liegen.

In Übereinstimmung mit den vorherigen Ergebnissen kam es in den Gruppen, die einer längeren Ischämie ausgesetzt waren zu einer deutlichen Reduktion des Koronarflusses zum Ende der Reperfusion verglichen mit den Ausgangswerten. Hier scheint ebenfalls der Grad der Ödematisierung einen maßgeblichen Ein-



fluss auf die Entwicklung des Gefäßwiderstands zu nehmen. Limitierend sei an dieser Stelle erneut auf die fehlende Berücksichtigung mikrovaskulärer Funktionsstörungen hingewiesen.

Die Untersuchungen des venösen und arteriellen Perfusats auf den Gehalt an Troponin I stehen ebenfalls im Einklang mit den elektronenmikroskopischen Ergebnissen sowie der Verschlechterung der Leistungsparameter. Nach einer 90-minütigen Ischämie unter Verwendung von Cardioplexol konnten in der Frühphase der Reperfusion höhere Troponin I-Konzentrationen als in den übrigen Gruppen gemessen werden. Zum Ende der Reperfusion zeigte sich zwar ein signifikanter Einfluss der Ischämiedauer auf die Entwicklung der Troponin I-Werte, dennoch konnten lediglich insignifikante Unterschiede dargestellt werden (*vgl. Abb. 31*). An dieser Stelle sei limitierend erneut auf den geringen Stichprobenumfang verwiesen. Troponin I hat sich als diagnostischer Marker myokardialer Schädigung in experimentellen Studien an isolierten Rattenherzen bewährt (98, 99). Des Weiteren konnte in einer früheren Studie von Chocron und Kollegen dargelegt werden, dass Troponin I-Werte linear zur Ischämiedauer ansteigen. In ihren Untersuchungen stellte ein früher Anstieg der Konzentrationen ein größeres Maß myokardialer Schädigung dar (99). Auch in unseren Untersuchungen trat ein früher Anstieg der Troponin I-Werte innerhalb der Cardioplexol-

## Diskussion

Gruppe, welche einer längeren Ischämie ausgesetzt waren, auf. Im Einklang mit den elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten sich in diesen Gruppen ebenfalls stärkere myokardialer Nekroseanzeichen.

Auch wenn die Ergebnisse unserer experimentellen Studie stringente Resultate liefern, so ist ein Vergleich mit klinischen Erfahrungen diesbezüglich schwierig, da bislang keine Studien existieren, in denen die myokardprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol bei cross-clamping Zeiten bis 90 Minuten untersucht wurden. In klinischen Studien waren die untersuchten Klemmzeiten deutlich geringer und reichten von durchschnittlich ca. 25 min (17) über ca. 47 min (14) bis ca. 50 min (15). Bei längeren cross-clamping Zeiten empfehlen die Autoren weitere Applikationen von Cardioplexol (14, 15, 201). Auch die Ergebnisse unserer experimentellen Untersuchungen zeigen, dass bei kürzeren ischämischen Zeiten deutlich bessere Ergebnisse der kardialen Erholung, des Metabolismus, des Maßes der Ödembildung und der Freisetzung kardialer Biomarker erreicht werden können. Die Autoren klinischer Studien gehen von einer zuverlässigen Wirkung von Cardioplexol für Routineeingriffe mit kurzen cross-clamping Dauern aus. Allerdings wird angemerkt, dass der Einsatz von Cardioplexol für Interventionen an Hochrisikopatienten, für komplexere Eingriffe mit längerem cross-clamping (15) sowie

unterschiedlichen Koronargefäßpathologien (200) genauer beleuchtet werden sollte. Unsere experimentellen Untersuchungen beleuchten auch den Aspekt der längeren cross-clamping Zeiten und konnten belegen, dass unter Applikation von Cardioplexol alle 30 Minuten eine deutliche Ischämie-längen abhängige Verschlechterung der kardialen Erholung auftritt. Dieser Befund erlaubt den Rückschluss, dass die Verwendung von Cardioplexol bei längeren cross-clamping Zeiten keine ausreichende Verlängerung der Toleranz des Myokards gegenüber ischämischen Bedingungen bewirken kann. Zwar kommt es bei Verwendung der Langendorff-Apparatur, selbst unter optimalen Perfusionsbedingungen, zu einer Abnahme der Herzfunktion, diese umfasst jedoch regulär nur einen prozentualen Umfang von 5-10% pro Stunde der Perfusion (260). Die beobachtete Verschlechterung der Leistungsparameter ist nach Verwendung von Cardioplexol somit deutlich stärker ausgeprägt und kann nicht durch die regulären Verluste im Langendorff-Modell erklärt werden. Demnach kann davon ausgegangen werden, dass ein direkter Zusammenhang zu den kardioprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol besteht.

Die direkte Gegenüberstellung einer 90-minütigen Ischämie unter Verwendung von Calafiore und Cardioplexol zeigte, dass die Verwendung von Cardioplexol mit einer signifikant schlechteren

Erholung der Leistungsparameter zum Ende der Reperfusion einhergeht. Da die Toleranz des Myokards gegenüber ischämischen Phasen maßgeblich von der verwendeten Kardioplegie abhängig ist (126), kann davon ausgegangen werden, dass die kardioprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol denen von Calafiore deutlich unterlegen sind. Die Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchungen unterstützen diese Annahme und liefern einen möglichen, zuvor bereits angeführten Erklärungsansatz. So konnten innerhalb der CP-90'-Gruppe deskriptiv höhere CEI und V/S Ratios berechnet werden. Da wie zuvor beschrieben das Ausmaß zellulärer Ödeme und mitochondrialer Veränderungen maßgeblich von der verwendeten Kardioplegie abhängig ist (217), kann angenommen werden, dass die signifikant schlechtere kardiale Erholung durch die mangelnden kardioprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol begründet ist. Die Ergebnisse der Überlegenheit von Calafiore stehen im Einklang mit vorherigen experimentellen Untersuchungen der Arbeitsgruppe (198, 261). Auch der Grad mitochondrialer Veränderungen, welcher im Parameter V/S Ratio beschrieben ist, wird maßgeblich von der verwendeten Kardioplegiemethode beeinflusst (220, 247, 248). Auch wenn Cardioplexol bei Betrachtung der deskriptiven Werte Calafiore deutlich unterlegen ist, so konnten keine signifikanten Unterschiede den zellulären Ödemindex und die V/S Ratio betreffend berechnet werden. Um die

Aussagekraft dieser Berechnungen zu überprüfen, wurden zusätzlich post-hoc Power Berechnungen durchgeführt. Diese ergaben, dass die statistische Power deutlich unter dem gewünschten Wert von 0,9 liegt und ein größerer Stichprobenumfang nötig wäre, um Unterschiede verlässlich statistisch darzustellen. Demnach ist Vorsicht bei der Interpretation dieser statistischen Berechnungen geboten.

Die Auswirkungen und das Vorhandensein mikrozirkulatorischer Störungen sowie der Einfluss der kaliuminduzierten Vasokonstriktion auf die Koronarperfusion können innerhalb dieser Studie nicht hinreichend geklärt werden. Die signifikant schlechtere Kontraktionsleistung der Herzen unter Cardioplexol-Verwendung in der Frühphase und zum Ende der Reperfusion könnte durch eine ungenügende Reduktion des Energieverbrauches und zusätzlich durch eine schlechtere Pufferleistung und somit den mangelnden Schutz vor azidotischen Verhältnissen erklärt werden (262). Die Untersuchungen der Troponin I-Konzentrationen unterstützen die stringenten Ergebnisse des bisherigen Vergleiches. Zum Ende der Reperfusion werden innerhalb der Cardioplexol-Gruppe signifikant höhere Troponin I-Konzentrationen gemessen. Zusätzlich konnte bereits in der Frühphase der Reperfusion ein deutlicherer Anstieg der Troponin I-Werte innerhalb der Cardioplexol-Gruppe detektiert werden (*vgl. Abb. 32*). Dies

ist als Anzeichen einer stärkeren myokardialen Schädigung zu werten (99). Auch einige klinische Studien konnten bereits belegen, dass die Verwendung warmer Blutkardioplegie mit niedrigeren Troponin I-Werten als bei kalten Kardioplegien assoziiert sind (199). Der starke Anstieg der Troponin I-Konzentrationen innerhalb der Cardioplexol-Gruppe deckt sich mit den Erkenntnissen der klinischen Untersuchungen von Matt und Kollegen. So konnten diese, wie bereits zuvor beschrieben, einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer Verlängerung des cross-clampings und einem Anstieg der Troponin T-Konzentrationen beweisen (15).

Lediglich die Ergebnisse den Metabolismus betreffend liefern ambivalente Resultate. So konnte innerhalb der statistischen Berechnungen eine Unterlegenheit von Cardioplexol gegenüber Calafiore bezüglich des Sauerstoffverbrauchs detektiert werden, während der Laktatmetabolismus keine signifikanten Unterschiede innerhalb der beiden Gruppen aufwies (*vgl. Abb. 29*). Dennoch weist Cardioplexol zum Ende der Reperfusion deskriptiv die niedrigere Laktatproduktion auf. Im Einklang mit der allgemeinen Verschlechterung der Leistungsparameter unter Verwendung von Cardioplexol kann nicht davon ausgegangen werden, dass die niedrigen Laktatwerte zum Ende der Reperfusion

auf eine besonders gute myokardprotektive Wirkung zurückzuführen sind. Ferner ist davon auszugehen, dass es im Zuge irreversibler Zellschädigungen, wie zuvor bereits erläutert, zu einem Erliegen der Stoffwechsellistung kommt.

Schon seit vielen Jahren beschäftigt sich die kardiovaskuläre Forschung mit der Frage, ob Unterschiede innerhalb der kardioprotektiven Eigenschaften einer kristalloiden oder blutbasierten Kardioplegie bestehen (263-265). Lange Zeit wurde davon ausgegangen, dass die Blutkardioplegie eine bessere myokardiale Protektion gewährleisten kann. Dies geht auf folgende Annahme zurück: Bei der Verwendung von Blutkardioplegie kommt es zu einer intermittierenden Reoxygenierung bei jeder Kardioplegieverabreichung. Zusätzlich beinhaltet Blut onkotische Bestandteile, diese müssen sonst in Form von Plasmaproteinen, Mannitol oder Dextran ergänzt werden (142). Zusätzlich soll durch die Verwendung einer Blutkardioplegie eine geringere Hämodilution gewährleistet werden (264). Trotz aller Bemühungen verschiedener Forschungsgruppen, die Überlegenheit einer Kardioplegiemethode darzustellen, besteht weiterhin keine Einigkeit. So konnten Guru und Kollegen in einer Meta-Analyse mit 4316 Patientendaten zeigen, dass Blutkardioplegie in klinischen Studien eine bessere kardioprotektive Wirkung in Bezug auf die Häufigkeiten des Auftretens des „low-output-Syndroms“ und reduzierte

## Diskussion

CK-MB-Werte gewährleistet; Todesraten und das Auftreten myokardialer Infarkte zeigten in dieser Meta-Analyse keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich von Blut- zu kristalloider Kardioplegie (263). Auch innerhalb unserer Studie konnten nach der 90-minütigen Ischämie unter Verwendung von Cardioplexol signifikant niedrigere Kontraktionskräfte und zusätzlich eine geringere maximale Relaxationsgeschwindigkeit detektiert werden. Da Inotropie und Lusitropie einen beachtlichen Einfluss auf die Auswurfleistung des Herzens haben (146), kann davon ausgegangen werden, dass auch in unseren Versuchen ein low-output-Syndrom detektiert werden konnte. Jedoch wurden keine Messungen der Auswurfleistung durchgeführt. In einer klinischen Studie von Singh und Kollegen konnte gezeigt werden, dass die Verwendung kristalloider Kardioplegien mit einer stärkeren Zellschwellung und signifikanten mitochondrialen Veränderungen einhergehen (266). Auch unsere Ergebnisse repräsentieren einen scheinbaren Zusammenhang zwischen dem Grad des Auftretens zellulärer Ödeme und der Verwendung einer kristalloiden Kardioplegie. Dennoch stellt die Basislösung der Kardioplegien nicht das einzige Unterscheidungsmerkmal unserer Studie dar, weshalb Rückschlüsse auf einen isolierten Zusammenhang mit dem kristalloiden Medium nicht ausreichend erscheinen. Ovrum et al konnten in einer weiteren Studie mit 1440 Patienten hingen-



gen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der kardioprotektiven Kapazitäten von blutbasierter und kristalloider Kardioplegie detektieren (13). Auch bei Patienten mit einem höheren Operationsrisiko und längeren cross-clamping Zeiten konnten hier keine signifikanten Unterschiede erfasst werden (13). Dennoch wird ein finaler Vergleich all dieser Studien durch heterogene Verabreichungsformen und unterschiedliche Temperaturen der einzelnen Kardioplegien erschwert. Trotzdem zeigen die zuvor aufgeführten Studien, dass die Unterlegenheit von Cardioplexol im direkten Vergleich mit Calafiore nicht allein durch die Komposition einer kristalloiden Kardioplegielösung erklärt werden kann.

Die Zusammensetzung von Cardioplexol lässt grundsätzlich eine vielversprechende kardioprotektive Wirkung erhoffen. Die Kombination von Kalium, Magnesium und Procain ermöglicht die Beeinflussung der Ionenflüsse an verschiedenen zellulären Zielen. Durch die somit erzielte synergistische Blockade verschiedener Mechanismen soll eine bessere myokardiale Protektion erreicht werden. Zusätzlich soll dieses in einer Reduktion der benötigten Einzelkonzentrationen, einer geringeren Toxizität und einer schnelleren Reversibilität resultieren (126). Cardioplexol enthält, wie zuvor bereits beschrieben: Kaliumchlorid 10 mmol, Magnesium Heptahydrat 16,2 mmol und Procain 1,1 mmol. Eine Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration resultiert in einer

## Diskussion

Depolarisation des Membranpotentials (149). Eine Konzentration von 10 mmol/L ist bereits ausreichend um ein Membranpotential von -65 mV zu erreichen und somit die spannungsabhängigen Natrium-Kanäle zu inaktivieren (150). Bei Kaliumkonzentrationen bis 30 mmol/L kommt es zu einer weiteren Reduktion des Membranpotentials und somit zur Öffnung der L-Typ-Kalziumkanäle. Der daraus resultierende Kalziumeinstrom, mit einhergehenden Kontraktoren, limitiert die therapeutische Breite der Hyperkaliämie (9, 146). Während des unter Hyperkaliämie vorherrschenden Membranpotentials treten weiterhin Ionenströme auf. So kommt es zu einer intrazellulären Anreicherung von Natrium und schließlich durch die Arbeit des  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers zu einer Kalziumüberladung (154, 155). Die Kombination von Hyperkaliämie mit Lokalanästhetika wie im Falle von Cardioplexol führt zu einer zusätzlichen Blockade der Natriumkanäle. Durch eine Hypopolarisation wird das Membranpotential nahe dem Ruhemembranpotential eingestellt. Somit findet keine Aktivierung der Natrium- und Kalziumkanäle statt, was transmembrane Ionenflüsse während der Ischämie reduziert (9, 148). Durch die Inaktivierung dieser Ionenflüsse muss während ischämischer Phasen weniger Energie für die Aufrechterhaltung des Membranpotentials aufgewendet werden (9). Die Ergänzung durch Magnesium führt zu einer zusätzlichen Blockade der L-Typ-Kalziumka-

näle (183). Bereits Konzentrationen zwischen 10-20 mmol/L sollen in Kombination mit Hyperkaliämie ausreichen, um das Herz während der Ischämie und Reperfusion vor Kalziumüberladung zu schützen (185). Zusätzlich zu den Substanzen, die einen direkten Einfluss auf die Ionenströme haben, enthält Cardioplexol 29,6 mmol Xylitol. Xylitol soll als osmotisch wirksame Substanz eine Prävention vor zellulären Ödemen schaffen. Gemäß unseren Ergebnissen reicht diese Ödemprophylaxe nicht aus, um die kardioprotektiven Eigenschaften zu verbessern. Cardioplexol wird bei einem pH-Wert von ungefähr 6 verabreicht und ist somit eher azidotisch. Calafiore hingegen hat einen am Blutperfusat orientierten pH-Wert von ungefähr 7,3. Während in Cardioplexol keinerlei Substanzen mit einer puffernden Wirkung vorzufinden sind, so übernimmt das Hämoglobin (267) der im Erythrozytenkonzentrat enthaltenen Erythrozyten innerhalb der Calafiore-Kardioplegie diese Aufgabe. Frühere Studien zeigten, dass die Pufferkapazität bzw. der pH-Wert einer Kardioplegielösung einen Einfluss auf die kardiale Erholung haben kann (262, 268, 269). Der niedrige pH-Wert und die geringe Pufferkapazität von Cardioplexol könnten in einer Beschleunigung des Auftretens einer myokardialen Azidose resultieren und somit sowohl das Auftreten zellulärer Ödeme als auch die Reduktion der Kontraktilität begünstigen. Eine Studie von Portmann und Kollegen konnte zeigen, dass die Verwendung einer Kardioplegie mit einem pH-

## Diskussion

Wert von 6,8 mit höheren myokardialen  $H^+$ -Freisetzung assoziiert war als die Verwendung basischer Kardioplegien (262). Da keine Messungen des myokardialen pH-Wertes im Versuchsverlauf durchgeführt wurden, kann dieser Aspekt nicht ausreichend belegt werden. Dies gilt es in folgenden Studien zu beleuchten.

Zusätzlich könnte die niedrige Pufferkapazität bzw. der niedrige pH-Wert von Cardioplexol einen Einfluss auf die Wirksamkeit von Procain haben. Aufgrund des  $Pk_a$ -Werts von Lokalanästhetika liegen diese in azidotischer Umgebung hauptsächlich ionisiert vor. Dies resultiert in einer verminderten Wirksamkeit in Nervengewebe unter azidotischen Bedingungen (270). In Anbetracht der Vermutung einer deutlicheren Azidose unter Verwendung von Cardioplexol sei daher angemerkt, dass das enthaltene Procain unter Umständen nicht seine vollständige Wirkung entfalten kann. Zusätzlich könnte seine Zusammensetzung die Wirksamkeit von Cardioplexol einschränken. Da der  $Pk_a$ -Wert von Procain bei etwa 8 liegt und der pH-Wert von Cardioplexol mit ungefähr 6 angegeben ist, kann bei Annahme ähnlicher pharmakologischer Wechselwirkungen in der Herzmuskulatur wie im Nervengewebe eine reduzierte Wirksamkeit von Procain vermutet werden. Grant und Kollegen konnten in einer Studie aus dem Jahr 1980 bereits belegen, dass für Lidocain im Myokard von Meeresschweinchen eine pH-Wert-abhängige Wirksamkeit besteht

(271). Der Einfluss des pH-Werts auf die myokardiale Wirksamkeit von Procain liefert interessante Ausblicke für zukünftige Untersuchungen.

Auch wenn es sich um zwei hyperkaliämische Kardioplegien handelt, so unterscheiden sich diese beiden Lösungen maßgeblich im Verabreichungsschema und Dosierungsbezug. Bei Cardioplexol werden initial 100 ml verabreicht. Diese Dosis orientiert sich im Gegensatz zur Verabreichung von Calafiore nicht an der Koronarperfusion und erfolgt pauschalisiert. Die Erfahrungen vorheriger Untersuchungen der Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass die verwendeten Rattenherzen im Durchschnitt 1,5 g wiegen. Angenommen das Herzgewicht eines Erwachsenen beträgt 300 g, so ergibt sich durch eine Dreisatzberechnung eine initiale Verabreichungsmenge von 0,5 ml Cardioplexol. Diese Dosierung umfasst nur einen Bruchteil des unter Verwendung von Calafiore benötigten Volumens. Bei einem durchschnittlichen Koronarfluss von  $4 \text{ ml/min} \pm 1,28$ , ergab sich eine mittlere initial verabreichte Menge der Blutkardioplegie nach Calafiore von  $10,4 \pm 3,32 \text{ ml}$ . Zusätzlich benötigt die Verabreichung von Cardioplexol lediglich wenige Sekunden, während Calafiore über einen Zeitraum von 2 Minuten appliziert wird. In der Literatur existieren widersprüchliche Angaben bezüglich der Auswirkung des Perfusionsvolumens und der Perfusionsdauer auf die kardioprotektiven Kapazitäten.

DeWitt und Kollegen gingen ursprünglich davon aus, dass ein größeres Kardioplegievolumen zu einer Auswaschung von Nukleotidabbauprodukten führe und somit zu einer eingeschränkten Nukleotidresynthese, welche in einer Reduktion der postischämischen Erholung resultiere (272). Saydjari und Kollegen konnten hingegen zeigen, dass der Auswaschungsprozess vor allem in der Reperfusion und unabhängig vom verwendeten Kardioplegievolumen stattfindet. Laut ihnen resultiert die Verabreichung größerer Volumina nicht in einer schlechteren kardialen Erholung. Sie merken an, dass ein Volumen verwendet werden sollte, das in der Lage ist Hypothermie und einen vollständigen Herzstillstand zu induzieren (273). Catier und Kollegen fanden zudem heraus, dass die kardioprotektiven Eigenschaften neben dem Kaliumchloridgehalt einer Lösung zusätzlich durch den Perfusionsdruck und die Dauer der Perfusion beeinflusst werden (274). Für die St. Thomas Hospital-Kardioplegie konnte ebenso wie für die kristalloide Kardioplegie nach Bretschneider eine Volumen- und Perfusionszeit-abhängige kardioprotektive Wirkung detektiert werden (275, 276). Unter Einbezug dieser festgestellten Beziehungen sei das besonders niedrige Verabreichungsvolumen von Cardioplexol kritisch hinterfragt. Dennoch sei angemerkt, dass die Verabreichung innerhalb von Sekunden in einem vollständigen diastolischen Herzstillstand resultiert. Dieser Aspekt

## Diskussion

scheint im Einklang mit den Beobachtungen von Matt und Kollegen in einer guten Verteilung der Lösung begründet zu sein (15).

Wie oben aufgeführt unterscheiden sich die beiden verglichenen Kardioplegien deutlich in den Volumina, den pH-Werten und den Zusammensetzungen. Dennoch entschieden wir uns in dieser Studie für einen direkten Vergleich von Cardioplexol mit einer Blutkardioplegie (Calafiore). Diese Entscheidung ist darin begründet, dass die Zusammensetzungen beider Lösungen den hyperkaliämischen Kardioplegien zuzuordnen sind. Beide Lösungen induzieren demnach einen depolarisierten Herzstillstand. Zusätzlich konnte die effektive mokardprotektive Wirkung von Calafiore in einigen zuvor durchgeführten Studien der Arbeitsgruppe bereits unter Beweis gestellt werden (198, 261, 277) und dient somit als etablierter Standard. Um einen möglichen Nachteil der kristalloiden Kardioplegie durch die Anwendung im Blut-perfundierten Langendorff-Modell sowie den Vergleich mit einer Blutkardioplegie auszugleichen, sollen sich Folgestudien unserer Arbeitsgruppe auf den direkten Vergleich mit den kristalloiden Kardioplegien nach Bretschneider und der St. Thomas Hospital-Kardioplegie konzentrieren.

Abgesehen von der Gruppe, die einer 30-minütigen Ischämie unter Verwendung von Cardioplexol und von der Gruppe, die einer

90-minütigen Ischämie unter Applikation von Calafiore ausgesetzt waren, konnte in allen Gruppen ein Anstieg des LVDP während der Phase der Ischämie detektiert werden. In experimentellen Studien wird ein Anstieg der Ruhespannung in der Wand des linken Ventrikels bei konstantem Volumen als ischämische Kontraktur definiert (49). Kingsley und Kollegen legten zusätzlich in ihrer Studie fest, dass ein Anstieg des LVDP von  $> 2$  mmHg des ischämischen Ruhedrucks bzw. ein Anstieg von  $> 2$  mmHg pro min als sicheres Anzeichen für den Beginn ischämischer Kontrakturen gewertet werden kann (50). Die Mechanismen, welche zum Auftreten ischämischer Kontrakturen führen, sind bis heute nicht final geklärt. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass zum einen ein Absinken der intrazellulären ATP-Konzentration (46, 50) und zum anderen ein kalziumabhängiger ATP-hydrolysierender Kreuzbrückenzyklus (48, 49) mit dem Auftreten von ischämischen Kontrakturen in Verbindung stehen. Humphrey und Kollegen konnten zudem zeigen, dass eine Korrelation zwischen der maximalen Kontraktionskraft während ischämischer Kontrakturen und den entstehenden Reperfusionsdefekten besteht (49). Zusätzlich konnte belegt werden, dass sowohl der Beginn ischämischer Kontrakturen als auch der maximal entwickelte Druck maßgeblich vom gewählten Perfusionsmedium abhängig sind (46, 49). Beispielsweise sind Perfusionsmedien mit niedrigen Kalziumgehalten mit einem späteren Auftreten ischämischer



Kontrakturen (46) und niedrigeren Plateauwerten assoziiert (49). Die Tatsache, dass innerhalb der Calafiore-Gruppe keinerlei Druckveränderungen während der Ischämie beobachtet werden konnten, deutet auf eine adäquate kardioprotektive Wirkung dieser Blutkardioplegie hin. Die no-flow Gruppe zeigte zum frühestmöglichen Zeitpunkt Druckveränderungen innerhalb der Ischämie. Zusätzlich konnten hier die höchsten Plateauwerte gemessen werden. Die Verabreichung von Cardioplexol führte ab einer Ischämiedauer von 45 Minuten zu ischämischen Kontrakturen. Diese traten jedoch signifikant später auf und erreichten zusätzlich signifikant niedrigere Plateauwerte als unter den Bedingungen einer reinen Ischämie (vgl. Abb. 23). In diesem Aspekt ist Cardioplexol der no-flow Ischämie überlegen. Eine Korrelation zwischen den maximal erreichten Plateauwerten und dem Ausmaß des Reperfusion-assoziierten Schadens konnte in unseren Untersuchungen jedoch nicht dargestellt werden. Eine Verlängerung der Ischämiedauer mit Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten zeigte zwar eine leichte Verzögerung des Auftretens ischämischer Kontrakturen und zusätzlich insignifikant reduzierte Plateauwerte, aber dennoch eine deutlich schlechtere kardiale Erholung als ischämische Phasen bis 45 Minuten. Kardioplegiezeiten von > 45 Minuten unter Verwendung von Cardioplexol resultierten in maßgeblichen Nekroseanzeichen innerhalb der Elektronenmikroskopie. Da weder Bestimmungen des

## Diskussion

Kalziumgehaltes noch der ATP-Konzentrationen durchgeführt wurden, kann die Ursache für das Auftreten ischämischer Kontraktoren im Zusammenhang mit Cardioplexol in dieser Studie nicht hinreichend beantwortet werden.

Im Hinblick der Bedeutung der Ergebnisse dieser Studie für die klinische Anwendung sei angemerkt, dass eine Übertragung tierexperimenteller Daten auf den Menschen nur bedingt möglich ist. Dennoch hat sich die Langendorff-Perfusion über die letzten Jahrzehnte als effiziente Methode für die Untersuchung der kardioprotektiven Eigenschaften bestimmter Pharmaka vor Ischämie- und Reperfusions-assoziiertes Schädigung bewiesen (260). Durch die Verwendung der Langendorff-Methode können Umwelteinflüsse reduziert und die Auswirkungen von verschiedenen Kardioplegien auf die isolierte Herzfunktion, ohne Beeinträchtigung anderer Organsysteme und Hormonkaskaden, evaluiert werden (260). Die Wahl eines Perfusionsmediums bestehend aus Rinder-Erythrozytenkonzentrat in Kombination mit einem Krebs-Henseleit-Puffer bietet den Vorteil, physiologische Perfusionsbedingungen zu imitieren. So können eine geringere Inzidenz myokardialer Ödeme, eine näher an physiologischen Werten orientierte Koronarperfusion und geringere Einbußen der Herzfunktion durch unvermeidbare perfusionsbedingte Verluste

verzeichnet werden (204). Zusätzlich bietet die Wahl der druckkonstanten Perfusion den Vorteil, dass die autoregulatorische Anpassung der Koronarperfusion an wechselnde Gefäßwiderstände ermöglicht wird (260). All diese Aspekte ermöglichen eine bessere Übertragbarkeit in den klinischen Kontext.

Die Wahl der Ratte als Versuchstier für die Durchführung der zuvor beschriebenen Untersuchungen ist darin begründet, dass die Messung und Aufzeichnung von Druckverhältnissen aufgrund der Größe des Herzens im Vergleich zu bspw. Mäusen erheblich komplikationsloser ist (204). Zusätzlich fiel die Wahl auf Wistar-Ratten, da dieser Stamm sich besonders in Versuchen zu Ischämie und Reperfusion bewährt hat (278). Ein wesentlicher Unterschied des Rattenherzens zum humanen Herz besteht in der deutlich verkürzten Dauer der Aktionspotentiale. Dieser Unterschied erschwert die Übertragbarkeit in die Klinik, beeinflusst jedoch besonders Rhythmus- und Arrhythmie-assoziierte Studien (204). Das in dieser Arbeit verwendete Versuchsprotokoll orientiert sich zusätzlich an einer möglichst kliniknahen Umsetzung der herzchirurgischen Operationsbedingungen. Neben den zuvor bereits aufgeführten Aspekten gehört hierzu ebenfalls die Induktion einer globalen Ischämie durch Aortenklammung und deren Aufrechterhaltung von bis zu 90 Minuten. Zusätzlich basiert

die hier beschriebene Studie auf dem bereits durch mehrere Studien etablierten Protokoll der Arbeitsgruppe (198, 261, 277).

Ein Nachteil dieser Studie ist, dass die experimentellen Untersuchungen lediglich an männlichen Tieren durchgeführt wurden. Da der Einfluss des Geschlechts auf die Sensibilität gegenüber Ischämie bewiesen ist (279, 280), würden Untersuchungen an männlichen und weiblichen Tieren, unter Berücksichtigung der hormonellen Einflüsse, die klinischen Bedingungen im Alltag besser widerspiegeln. Zusätzlich wurden die Versuche lediglich an gesunden Herzen junger Ratten durchgeführt. Im klinischen Alltag sind die Patienten, welche einer Bypass-Operation unterzogen werden, immer häufiger fortgeschrittenen Alters (281). Einige Studien konnten altersabhängige Unterschiede bezüglich des Outcomes detektieren (282, 283). Zusätzlich sind die Herzen im klinischen Alltag zum Zeitpunkt der chirurgischen Intervention in vielen Fällen schon einer Minderperfusion, beispielsweise durch einen Infarkt, ausgesetzt. Aufgrund dieser Unterschiede innerhalb der täglichen Anwendung erscheint die Untersuchung der Auswirkungen des Alters und eines bereits vor der Operation bestehenden Infarkts auf die kardioprotektiven Eigenschaften von Cardioplexol zusätzlich von großer Bedeutung.

Schlussfolgernd sei zusammengefasst, dass Cardioplexol zwar eine myokardiale Protektion bei ischämischen Phasen bis 45

## Diskussion

Minuten liefern kann, längere ischämische Perioden jedoch keinen ausreichenden myokardialen Schutz erfahren. Zusätzlich erzielt Cardioplexol deutlich schlechtere Ergebnisse die kardiale Erholung nach 90-minütiger Ischämie betreffend als die etablierte Blutkardioplegie nach Calafiore. Die klinische Anwendung von Cardioplexol kann somit lediglich für kurze cross-clamping Zeiten in Betracht gezogen werden. Die pathophysiologischen Hintergründe, die einer Verschlechterung der kardialen Erholung bei verlängerten cross-clamping Zeiten, unter Verwendung von Cardioplexol, zu Grunde liegen gilt es in folgenden Studien genauer zu untersuchen.

## 6 Zusammenfassung

Cardioplexol ist eine kristalloide Kardioplegielösung, die sich besonders durch ihr geringes Verabreichungsvolumen, den schnellen Wirkungseintritt sowie eine verlängerte Wirkungsdauer bei single-shot Verabreichung auszeichnet. Auch wenn zum jetzigen Zeitpunkt keinerlei experimentelle Studien bezüglich Cardioplexol existieren, so liefern klinische Studien vielversprechende Ergebnisse.

In dieser Arbeit wurden die kardioprotektiven Kapazitäten von Cardioplexol an Rattenherzen mittels isolierter Organperfusion im Langendorff-Modell untersucht. Im Fokus dieser Studie standen die Evaluierung der kardioprotektiven Kapazitäten von Cardioplexol im direkten Vergleich zu einer 45-minütigen reinen no-flow Ischämie, die Auswirkungen einer Verlängerung der Ischämiedauer unter Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten sowie der direkte Vergleich zu der Blutkardioplegie nach Calafiore. Die kardioprotektiven Eigenschaften wurden über die Beurteilung der Leistungsparameter, des Metabolismus, der Troponin I-Konzentrationen sowie elektronenmikroskopischer Untersuchungen bewertet. Der direkte Vergleich einer 45-minütigen Ischämie unter Verwendung von Cardioplexol und reiner no-flow

## Zusammenfassung

Ischämie zeigt nur eine marginale Überlegenheit der Cardioplexol-Gruppe. Unter Verabreichung von Cardioplexol alle 30 Minuten konnte eine Ischämiedauer abhängige Verschlechterung der kardialen Erholung beobachtet werden. Die Verwendung von Cardioplexol resultierte in einer deutlich schlechteren myokardialen Protektion als die Verwendung von Calafiore bei einer Ischämiedauer von 90 Minuten.

Auch wenn sich die direkte Übertragung der Ergebnisse in den Praxisalltag schwierig gestaltet, so konnten klinische Studien bislang nicht klären, wie sich eine Verlängerung des cross-clampings auf die kardioprotektiven Kapazitäten von Cardioplexol auswirkt. Wir konnten zeigen, dass die Verwendung von Cardioplexol unter experimentellen Bedingungen keine adäquate kardioprotektive Wirkung bei längerem cross-clamping gewährleistet. Diese experimentellen Resultate sollten bei der zukünftigen klinischen Anwendung beachtet werden.

## 7 Summary

Cardioplexol is a crystalloid cardioplegic solution which is characterized by its reduced volume, induction of immediate cardiac arrest and prolonged duration of effect with single shot application. These aspects should simplify and speed up cardiac surgery and reduce the duration of required cross-clamping. While no experimental studies regarding Cardioplexol exist there is some clinical research, which indicates encouraging cardioprotective effects of Cardioplexol.

This experimental study deals with investigating cardioprotective capacities of Cardioplexol using isolated heart perfusion in a Langendorff apparatus. The aim of this study was to compare cardioprotective capacities of Cardioplexol to 45 minutes of pure ischemia, to investigate whether administration of Cardioplexol every 30 minutes can cause prolonged myocardial tolerance to ischemic conditions, and to compare cardioprotective capacities of Cardioplexol with blood based cardioplegia by Calafiore regarding 90 minutes of ischemia. Cardioprotective capacities were evaluated by measuring parameters of cardiac function, metabolism, troponin I values and electron-microscopical investigations. Comparing 45 minutes of ischemia with the use of Car-



dioplexol to no-flow ischemia showed only moderate cardioprotective advantages of Cardioplexol. Cardioplexol administered every 30 minutes was not able to protect myocardium sufficiently during extended periods of ischemia. During 90 minutes of ischemia Cardioplexol revealed significant inferiority compared to Calafiore.

Transferring these experimental results into clinical context is challenging. Nevertheless, clinical studies have not figured out the consequences of prolonged cross-clamping on cardiac recovery after surgical interventions under Cardioplexol. Therefore the results of our study indicate that Cardioplexol does not offer sufficient cardioprotective capacities for extended cross-clamping periods. These results need to be kept in mind, when using Cardioplexol in a clinical context.

## 9 Literaturverzeichnis

1. Claus J, Fechner C, Zimpfer A, Erbersdobler A. Blutgefäße und Herzinfarkt. In: Claus J, Fechner C, Zimpfer A, Erbersdobler A, editors. Kurs Allgemeine Pathologie: Mit AMBOSS-Verknüpfung. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019. p. 40-5.
2. Deutsch-österreichische S3-Leitlinie „Infarktbedingter kardiogener Schock – Diagnose, Monitoring und Therapie“. Intensivmedizin und Notfallmedizin. 2011;48(4):291-344. doi: 10.1007/s00390-011-0284-8.
3. Kolh P, Windecker S, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, et al. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: the Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). Eur J Cardiothorac Surg. 2014;46(4):517-92. Epub 2014/09/01. doi: 10.1093/ejcts/ezu366. PubMed PMID: 25173601.
4. Beckmann A, Funkat AK, Lewandowski J, Frie M, Ernst M, Hekmat K, et al. Cardiac Surgery in Germany during 2014: A Report on Behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. Thorac Cardiovasc Surg. 2015;63(4):e1. Epub 2015/11/26. doi: 10.1055/s-0035-1565257. PubMed PMID: 26595235.
5. Nicolini F. Myocardial protection in adult cardiac surgery: current options and future challenges. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. 2003;24(6):986-93. doi: 10.1016/s1010-7940(03)00475-5.

## Literaturverzeichnis

6. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 2011. 262., neu bearb. und erw. Aufl. ed. Berlin [u.a.]: de Gruyter; 2010.
7. Miller DR, Rasmussen P, Klionsky B, Cossman FP, Allbritten FF, Jr. Elective cardiac arrest: its effect on myocardial structure and function. *Ann Surg.* 1961;154:751-68. Epub 1961/11/01. PubMed PMID: 14473976; PubMed Central PMCID: PMCPMC1465959.
8. 26.1 Grundlagen. 2011. In: *Kinderkardiologie* [Internet]. Stuttgart: Georg Thieme Verlag. 2011. Available from: <http://www.thieme-connect.de/products/ebooks/lookinside/10.1055/b-0034-63390>.
9. Chambers DJ. Mechanisms and alternative methods of achieving cardiac arrest. *The Annals of Thoracic Surgery.* 2003;75(2):S661-S6. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(02\)04688-X](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(02)04688-X).
10. Buckberg GD. Cardioplegia solutions--unproven herbal approach versus tested scientific study. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2001;13(1):52-5. Epub 2001/04/20. doi: 10.1053/stcs.2001.22737. PubMed PMID: 11309727.
11. Calafiore AM, Teodori G, Mezzetti A, Bosco G, Verna AM, Di Giammarco G, et al. Intermittent antegrade warm blood cardioplegia. *Ann Thorac Surg.* 1995;59(2):398-402. Epub 1995/02/01. doi: 10.1016/0003-4975(94)00843-v. PubMed PMID: 7847955.
12. Calafiore AM, Teodori G, Bosco G, Di Giammarco G, Vitolla G, Fino C, et al. Intermittent antegrade warm blood cardioplegia in aortic valve replacement. *J Card Surg.* 1996;11(5):348-54. Epub 1996/09/01. doi: 10.1111/j.1540-8191.1996.tb00061.x. PubMed PMID: 8969380.

## Literaturverzeichnis

13. Ovrum E, Tangen G, Tollofsrud S, Oystese R, Ringdal MA, Istad R. Cold blood cardioplegia versus cold crystalloid cardioplegia: a prospective randomized study of 1440 patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;128(6):860-5. Epub 2004/12/02. doi: 10.1016/j.jtcvs.2004.03.032. PubMed PMID: 15573070.
14. Tevaeera Stahel H, Barandun S, Kaufmann E, Gahl B, Englberger L, Jenni H, et al. Single-center experience with the combination of Cardioplexol™ cardioplegia and MiECC for isolated coronary artery bypass graft procedures. *Journal of Thoracic Disease.* 2019;11(S10):S1471-S9. doi: 10.21037/jtd.2019.04.47.
15. Matt P, Arbeleaz E, Schwirtz G, Doebele T, Eckstein F. Low-volume, single-shot crystalloid cardioplegia is safe for isolated aortic valve replacement. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;60(5):360-2. Epub 2011/12/31. doi: 10.1055/s-0031-1295565. PubMed PMID: 22207363.
16. Koechlin L, Rrahmani B, Gahl B, Berdajs D, Grapow MTR, Eckstein FS, et al. Microplegia versus Cardioplexol® in Coronary Artery Bypass Surgery with Minimal Extracorporeal Circulation: Comparison of Two Cardioplegia Concepts. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2020;68(03):223-31. Epub 25.04.2019. doi: 10.1055/s-0039-1687843.
17. Kairet K, Deen J, Vernieuwe L, De Bruyn A, Kalantary S, Rodrigus I. Cardioplexol, a new cardioplegic solution for elective CABG. *Journal of Cardiothoracic Surgery.* 2013;8(S1):P120. doi: 10.1186/1749-8090-8-s1-p120.
18. Alpert JS, Antman E, Apple F, Armstrong P, Bassand J, De Luna A, et al. Myocardial infarction redefined-A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction.

## Literaturverzeichnis

Journal of the American College of Cardiology. 2000;36(3):959-69.  
doi: 10.1016/s0735-1097(00)00804-4.

19. Ibáñez B, Heusch G, Ovize M, Van De Werf F. Evolving Therapies for Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. Journal of the American College of Cardiology. 2015;65(14):1454-71. doi: 10.1016/j.jacc.2015.02.032.

20. Reimer KA, Jennings RB, Tatum AH. Pathobiology of acute myocardial ischemia: metabolic, functional and ultrastructural studies. The American journal of cardiology. 1983;52(2):72-81. doi: [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(83\)90180-7](https://doi.org/10.1016/0002-9149(83)90180-7).

21. Kloner RA, Rude RE, Carlson N, Maroko PR, DeBoer LW, Braunwald E. Ultrastructural evidence of microvascular damage and myocardial cell injury after coronary artery occlusion: which comes first? Circulation. 1980;62(5):945-52. doi: doi:10.1161/01.CIR.62.5.945.

22. Jennings R, Ganote CE. Structural changes in myocardium during acute ischemia. Circulation Research. 1974;35(3\_supplement):III-156-III-72.

23. Virmani R, Forman M, Kolodgie F. Myocardial reperfusion injury: Histopathological effects of perfluorochemical. Circulation. 1990;81(3).

24. Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of antemortem serum creatine kinase, creatine kinase-MB, troponin I, and troponin T with cardiac pathology. Clinical Chemistry. 2000;46(3):338-44. doi: <https://doi.org/10.1093/clinchem/46.3.338>.

25. Abozguia K, Shivu GN, Ahmed I, Phan T, Frenneaux M. The heart metabolism: pathophysiological aspects in ischaemia and heart

## Literaturverzeichnis

failure. *Current pharmaceutical design*. 2009;15(8):827-35. doi: <https://doi.org/10.2174/138161209787582101>.

26. Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial Substrate Metabolism in the Normal and Failing Heart. *Physiological Reviews*. 2005;85(3):1093-129. doi: 10.1152/physrev.00006.2004. PubMed PMID: 15987803.

27. van der Vusse GJ, Glatz JF, Stam HC, Reneman RS. Fatty acid homeostasis in the normoxic and ischemic heart. *Physiol Rev*. 1992;72(4):881-940. Epub 1992/10/01. doi: 10.1152/physrev.1992.72.4.881. PubMed PMID: 1438581.

28. HEUSCH G. Hibernating Myocardium. *Physiological Reviews*. 1998;78(4):1055-85. doi: 10.1152/physrev.1998.78.4.1055. PubMed PMID: 9790569.

29. Depre C, Vanoverschelde J-LJ, Taegtmeyer H. Glucose for the Heart. *Circulation*. 1999;99(4):578-88. doi: 10.1161/01.cir.99.4.578.

30. Stanley WC, Hall JL, Stone CK, Hacker TA. Acute myocardial ischemia causes a transmural gradient in glucose extraction but not glucose uptake. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1992;262(1):H91-H6. doi: 10.1152/ajpheart.1992.262.1.H91. PubMed PMID: 1733326.

31. Stanley WC, Lopaschuk GD, Hall JL, McCormack JG. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions. Potential for pharmacological interventions. *Cardiovasc Res*. 1997;33(2):243-57. Epub 1997/02/01. doi: 10.1016/s0008-6363(96)00245-3. PubMed PMID: 9074687.

32. Mueller HS, Ayres SM. Propranolol decreases sympathetic nervous activity reflected by plasma catecholamines during evolution

of myocardial infarction in man. *The Journal of Clinical Investigation*. 1980;65(2):338-46. doi: 10.1172/JCI109677.

33. Robertson RP, Porte D, Jr. Adrenergic modulation of basal insulin secretion in man. *Diabetes*. 1973;22(1):1-8. Epub 1973/01/01. doi: 10.2337/diab.22.1.1. PubMed PMID: 4683792.

34. Lerner RL, Porte D, Jr. Epinephrine: selective inhibition of the acute insulin response to glucose. *J Clin Invest*. 1971;50(11):2453-7. Epub 1971/11/01. doi: 10.1172/jci106744. PubMed PMID: 4938132; PubMed Central PMCID: PMCPMC292188.

35. Christensen NJ, Videbaek J. Plasma catecholamines and carbohydrate metabolism in patients with acute myocardial infarction. *J Clin Invest*. 1974;54(2):278-86. Epub 1974/08/01. doi: 10.1172/jci107763. PubMed PMID: 4847245; PubMed Central PMCID: PMCPMC301555.

36. Jaswal JS, Keung W, Wang W, Ussher JR, Lopaschuk GD. Targeting fatty acid and carbohydrate oxidation--a novel therapeutic intervention in the ischemic and failing heart. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1813(7):1333-50. Epub 2011/01/25. doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.01.015. PubMed PMID: 21256164.

37. Liedtke AJ, Nellis SH, Mjøs OD. Effects of reducing fatty acid metabolism on mechanical function in regionally ischemic hearts. *Am J Physiol*. 1984;247(3 Pt 2):H387-94. Epub 1984/09/01. doi: 10.1152/ajpheart.1984.247.3.H387. PubMed PMID: 6476133.

38. Whitmer JT, Idell-Wenger JA, Rovetto MJ, Neely JR. Control of fatty acid metabolism in ischemic and hypoxic hearts. *Journal of Biological Chemistry*. 1978;253(12):4305-9. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)34720-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)34720-8).

## Literaturverzeichnis

39. Folmes CD, Sowah D, Clanachan AS, Lopaschuk GD. High rates of residual fatty acid oxidation during mild ischemia decrease cardiac work and efficiency. *J Mol Cell Cardiol.* 2009;47(1):142-8. Epub 2009/03/24. doi: 10.1016/j.yjmcc.2009.03.005. PubMed PMID: 19303418.
40. Taniguchi M, Wilson C, Hunter CA, Pehowich DJ, Clanachan AS, Lopaschuk GD. Dichloroacetate improves cardiac efficiency after ischemia independent of changes in mitochondrial proton leak. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280(4):H1762-9. Epub 2001/03/15. doi: 10.1152/ajpheart.2001.280.4.H1762. PubMed PMID: 11247790.
41. Dennis SC, Gevers W, Opie LH. Protons in ischemia: where do they come from; where do they go to? *J Mol Cell Cardiol.* 1991;23(9):1077-86. Epub 1991/09/01. doi: 10.1016/0022-2828(91)91642-5. PubMed PMID: 1658348.
42. Liu Q, Docherty JC, Rendell JCT, Clanachan AS, Lopaschuk GD. High levels of fatty acids delay the recovery of intracellular pH and cardiac efficiency in post-ischemic hearts by inhibiting glucose oxidation. *Journal of the American College of Cardiology.* 2002;39(4):718-25. doi: [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01803-4](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01803-4).
43. Murnaghan MF. EFFECT OF FATTY ACIDS ON THE VENTRICULAR ARRHYTHMIA THRESHOLD IN THE ISOLATED HEART OF THE RABBIT. *British Journal of Pharmacology.* 1981;73(4):909-15. doi: 10.1111/j.1476-5381.1981.tb08745.x.
44. Baroldi G, Milam JD, Wukasch DC, Sandiford FM, Romagnoli A, Cooley DA. Myocardial cell damage in "stone hearts". *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 1974;6(4):395-9. doi: [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(74\)90080-7](https://doi.org/10.1016/0022-2828(74)90080-7).



## Literaturverzeichnis

45. Cooley DA, Reul GJ, Wukasch DC. Ischemic contracture of the heart: "Stone heart". *The American Journal of Cardiology*. 1972;29(4):575-7. doi: 10.1016/0002-9149(72)90454-7.
46. Hearse DJ, Garlick PB, Humphrey SM. Ischemic contracture of the myocardium: Mechanisms and prevention. *The American Journal of Cardiology*. 1977;39(7):986-93. doi: 10.1016/s0002-9149(77)80212-9.
47. Katz AM, Tada M. The stone heart: A challenge to the biochemist. *American Journal of Cardiology*. 1972;29(4):578-80. doi: 10.1016/0002-9149(72)90455-9.
48. Grossman W, Barry WH. Diastolic pressure-volume relations in the diseased heart. *Fed Proc*. 1980;39(2):148-55. Epub 1980/02/01. PubMed PMID: 6444388.
49. Humphrey S. The relationship of ischemic contracture to vascular reperfusion in the isolated rat heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 1980;12(12):1397-406. doi: 10.1016/0022-2828(80)90124-8.
50. Kingsley PB, Sako EY, Yang MQ, Zimmer SD, Ugurbil K, Foker JE, et al. Ischemic contracture begins when anaerobic glycolysis stops: a <sup>31</sup>P-NMR study of isolated rat hearts. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1991;261(2):H469-H78. doi: 10.1152/ajpheart.1991.261.2.H469. PubMed PMID: 1877673.
51. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *The Journal of clinical investigation*. 1985;76(5):1713-9.
52. Moens A, Claeys M, Timmermans J, Vrints C. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex

## Literaturverzeichnis

- pathophysiological process. International journal of cardiology. 2005;100(2):179-90. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2004.04.013>.
53. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. Circulation. 1982;66(6):1146-9. doi: 10.1161/01.cir.66.6.1146.
54. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. Journal of Clinical Investigation. 1975;56(4):978-85. doi: 10.1172/jci108178.
55. Kloner RA, Arimie RB, Kay GL, Cannom D, Matthews R, Bhandari A, et al. Evidence for stunned myocardium in humans: a 2001 update. Coronary artery disease. 2001;12(5):349-56.
56. Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion-induced arrhythmias: Mechanisms and prevention. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 1984;16(6):497-518. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-2828\(84\)80638-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2828(84)80638-0).
57. Goldberg S, Greenspon AJ, Urban PL, Muza B, Berger B, Walinsky P, et al. Reperfusion arrhythmia: A marker of restoration of antegrade flow during intracoronary thrombolysis for acute myocardial infarction. American Heart Journal. 1983;105(1):26-32. doi: [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(83\)90274-0](https://doi.org/10.1016/0002-8703(83)90274-0).
58. Tzivoni D, Keren A, Granot H, Gottlieb S, Benhorin J, Stern S. Ventricular fibrillation caused by myocardial reperfusion in Prinzmetal's angina. American heart journal. 1983;105(2):323-5. doi: [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(83\)90534-3](https://doi.org/10.1016/0002-8703(83)90534-3).

## Literaturverzeichnis

59. Meerson F, Belkina L, Sazontova T, Saltykova V, Arkhipenko YV. The role of lipid peroxidation in pathogenesis of arrhythmias and prevention of cardiac fibrillation with antioxidants. *Basic research in cardiology*. 1987;82(2):123-37.
60. Bernier M, Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion arrhythmias: dose-related protection by anti-free radical interventions. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1989;256(5):H1344-H52. doi: 10.1152/ajpheart.1989.256.5.H1344. PubMed PMID: 2719133.
61. Piper HM, Meuter K, Schäfer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *The Annals of thoracic surgery*. 2003;75(2):S644-S8. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(02\)04686-6](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(02)04686-6).
62. Xiao C-Y, Hara A, Yuhki K-I, Fujino T, Ma H, Okada Y, et al. Roles of Prostaglandin I<sub>2</sub> and Thromboxane A<sub>2</sub> in Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury. *Circulation*. 2001;104(18):2210-5. doi: 10.1161/hc4301.098058.
63. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovascular Research*. 1996;32(4):743-51. doi: 10.1016/s0008-6363(96)00073-9.
64. Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Lefer AM. Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium. *Circulation Research*. 1993;72(2):403-12. doi: 10.1161/01.res.72.2.403.
65. Darley-Usmar V, Wiseman H, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Letters*. 1995;369(2-3):131-5. doi: 10.1016/0014-5793(95)00764-z.

## Literaturverzeichnis

66. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *British Journal of Pharmacology*. 1987;92(3):639-46. doi: 10.1111/j.1476-5381.1987.tb11367.x.
67. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991;88(11):4651-5. doi: 10.1073/pnas.88.11.4651.
68. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1986;250(5):H822-H7. doi: 10.1152/ajpheart.1986.250.5.H822. PubMed PMID: 3010744.
69. Dreyer WJ, Michael LH, West MS, Smith CW, Rothlein R, Rossen RD, et al. Neutrophil accumulation in ischemic canine myocardium. Insights into time course, distribution, and mechanism of localization during early reperfusion. *Circulation*. 1991;84(1):400-11. doi: 10.1161/01.cir.84.1.400.
70. Zweier JL. Measurement of superoxide-derived free radicals in the reperfused heart. Evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury. *Journal of Biological Chemistry*. 1988;263(3):1353-7. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)57309-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)57309-4).
71. Brooks WW, Conrad CH, Morgan JP. Reperfusion induced arrhythmias following ischaemia in intact rat heart: role of intracellular calcium. *Cardiovascular Research*. 1995;29(4):536-42. doi: 10.1016/s0008-6363(96)88531-2.
72. Southorn PA, Powis G. Free Radicals in Medicine. I. Chemical Nature and Biologic Reactions. *Mayo Clinic Proceedings*. 1988;63(4):381-9. doi: 10.1016/s0025-6196(12)64861-7.

## Literaturverzeichnis

73. Halliwell B. The Role of Oxygen Radicals in Human Disease, with Particular Reference to the Vascular System. Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis. 1993;23(suppl 1)(Suppl. 1):118-26. doi: 10.1159/000216921.
74. Lazzarino G, Raatikainen P, Nuutinen M, Nissinen J, Tavazzi B, Di Pierro D, et al. Myocardial release of malondialdehyde and purine compounds during coronary bypass surgery. Circulation. 1994;90(1):291-7. doi: 10.1161/01.cir.90.1.291.
75. Becker LC, Ambrosio G. Myocardial consequences of reperfusion. Progress in Cardiovascular Diseases. 1987;30(1):23-44. doi: [https://doi.org/10.1016/0033-0620\(87\)90009-0](https://doi.org/10.1016/0033-0620(87)90009-0).
76. Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. The Annals of Thoracic Surgery. 1999;68(5):1898-904. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(99\)01035-8](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(99)01035-8).
77. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. European Heart Journal. 2010;31(18):2197-204. doi: 10.1093/eurheartj/ehq251.
78. Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, Mueller C, Lindahl B, Blankenberg S, et al. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. European Heart Journal. 2012;33(18):2252-7. doi: 10.1093/eurheartj/ehs154.
79. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons M, Chaitman B, White H, et al. Third universal definition of myocardial infarction. Circulation. 2012;126(16):2020-35.

## Literaturverzeichnis

80. Goodman SG, Steg PG, Eagle KA, Fox KAA, López-Sendón J, Montalescot G, et al. The diagnostic and prognostic impact of the redefinition of acute myocardial infarction: Lessons from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *American Heart Journal*. 2006;151(3):654-60. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2005.05.014>.
81. Parmacek MS, Solaro RJ. Biology of the troponin complex in cardiac myocytes. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 2004;47(3):159-76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2004.07.003>.
82. Wang W, Schulze CJ, Suarez-Pinzon WL, Dyck JRB, Sawicki G, Schulz R. Intracellular Action of Matrix Metalloproteinase-2 Accounts for Acute Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury. *Circulation*. 2002;106(12):1543-9. doi: 10.1161/01.cir.0000028818.33488.7b.
83. Di Lisa F, De Tullio R, Salamino F, Barbato R, Melloni E, Siliprandi N, et al. Specific degradation of troponin T and I by  $\mu$ -calpain and its modulation by substrate phosphorylation. *Biochemical Journal*. 1995;308(1):57-61. doi: 10.1042/bj3080057.
84. Wu AHB, Jaffe AS. The clinical need for high-sensitivity cardiac troponin assays for acute coronary syndromes and the role for serial testing. *American Heart Journal*. 2008;155(2):208-14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2007.10.016>.
85. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C, Hartwiger S, et al. Early Diagnosis of Myocardial Infarction with Sensitive Cardiac Troponin Assays. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(9):858-67. doi: 10.1056/nejmoa0900428.
86. Keller T, Zeller T, Peetz D, Tzikas S, Roth A, Czyn E, et al. Sensitive Troponin I Assay in Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(9):868-77. doi: 10.1056/nejmoa0903515.

## Literaturverzeichnis

87. Ottani F, Galvani M, Nicolini FA, Ferrini D, Pozzati A, Di Pasquale G, et al. Elevated cardiac troponin levels predict the risk of adverse outcome in patients with acute coronary syndromes. *American Heart Journal*. 2000;140(6):917-27. doi: <https://doi.org/10.1067/mhj.2000.111107>.
88. Heidenreich PA, Alloggiamento T, McDonald KM, Go AS, Hlatky MA, Melsop K. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndromes: a meta-analysis. 2001;38(2):478-85. doi: 10.1016/s0735-1097(01)01388-2.
89. Becattini C, Vedovati MC, Agnelli G. Prognostic value of troponins in acute pulmonary embolism. *Circulation*. 2007;116(4):427-33. doi: DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.680421427
90. Khan NA, Hemmelgarn BR, Tonelli M, Thompson CR, Levin A. Prognostic value of troponin T and I among asymptomatic patients with end-stage renal disease. *Circulation*. 2005;112:3088-96.
91. Collinson PO. Troponin T or troponin I or CK-MB (or none?). *European heart journal*. 1998;19 Suppl N:N16-24. PubMed PMID: 9857934.
92. Wu AH, Feng YJ. Biochemical differences between cTnT and cTnI and their significance for diagnosis of acute coronary syndromes. *Eur Heart J*. 1998;19 Suppl N:N25-9. Epub 1998/12/19. PubMed PMID: 9857935.
93. Maynard SJ. Troponin T or troponin I as cardiac markers in ischaemic heart disease. 2000;83(4):371-3. doi: 10.1136/heart.83.4.371.

## Literaturverzeichnis

94. Asayama J, Yamahara Y, Ohta B, Miyazaki H, Tatsumi T, Matsumoto T, et al. Release kinetics of cardiac troponin T in coronary effluent from isolated rat hearts during hypoxia and reoxygenation. *Basic research in cardiology*. 1992;87(5):428-36.
95. Yamahara Y, Asayama J, Ohta B, Matsumoto T, Miyazaki H, Tatsumi T, et al. Release kinetics and correlation with hemodynamic dysfunction of cardiac troponin T in coronary effluent from isolated rat hearts during reperfusion. *Basic research in cardiology*. 1993;88(4):307-13. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00800637>.
96. Remppis A. Intracellular compartmentation of troponin T: Release kinetics after global ischemia and calcium paradox in the isolated perfused rat heart. 1995;27(2):793-803. doi: 10.1016/0022-2828(95)90086-1.
97. Bertinchant JP, Robert E, Polge A, Marty-Double C, Fabbro-Peray P, Poirey S, et al. Comparison of the diagnostic value of cardiac troponin I and T determinations for detecting early myocardial damage and the relationship with histological findings after isoprenaline-induced cardiac injury in rats. *Clinica Chimica Acta*. 2000;298(1):13-28. doi: [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(00\)00223-0](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(00)00223-0).
98. Bertinchant J-P, Polge A, Robert E, Sabbah N, Fabbro-Peray P, Poirey S, et al. Time-course of cardiac troponin I release from isolated perfused rat hearts during hypoxia/reoxygenation and ischemia/reperfusion. *Clinica Chimica Acta*. 1999;283(1-2):43-56. doi: 10.1016/s0009-8981(99)00029-7.
99. Chocron S, Alwan K, Toubin G, Kantelip B, Clement F, Kantelip J-P, et al. Effects of myocardial ischemia on the release of cardiac troponin I in isolated rat hearts. 1996;112(2):508-13. doi: 10.1016/s0022-5223(96)70279-9.



## Literaturverzeichnis

100. Landesberg G, Shatz V, Akopnik I, Wolf YG, Mayer M, Berlatzky Y, et al. Association of cardiac troponin, CK-MB, and postoperative myocardial ischemia with long-term survival after major vascular surgery. 2003;42(9):1547-54. doi: 10.1016/j.jacc.2003.05.001.

101. Blomberg DJ, Kimber WD, Burke MD. Creatine kinase isoenzymes: Predictive value in the early diagnosis of acute myocardial infarction. The American Journal of Medicine. 1975;59(4):464-9. doi: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(75\)90253-3](https://doi.org/10.1016/0002-9343(75)90253-3).

102. Ishikawa Y, Saffitz JE, Mealman TL, Grace AM, Roberts R. Reversible myocardial ischemic injury is not associated with increased creatine kinase activity in plasma. Clinical Chemistry. 1997;43(3):467-75. doi: 10.1093/clinchem/43.3.467.

103. Rosenblat J, Zhang A, Fear T. Biomarkers of myocardial infarction: Past, present and future. University of Western Ontario Medical Journal. 2012;81(1):23-5.

104. Keller T, Tzikas S, Zeller T, Czyz E, Lillpopp L, Ojeda FM, et al. Copeptin Improves Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. Journal of the American College of Cardiology. 2010;55(19):2096-106. doi: 10.1016/j.jacc.2010.01.029.

105. Wang K-J, Zhao X, Liu Y-Z, Zeng Q-T, Mao X-B, Li S-N, et al. Circulating MiR-19b-3p, MiR-134-5p and MiR-186-5p are Promising Novel Biomarkers for Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. 2016;38(3):1015-29. doi: 10.1159/000443053.

106. Sørensen NA, Shah ASV, Ojeda FM, Peitsmeyer P, Zeller T, Keller T, et al. High-sensitivity troponin and novel biomarkers for the early diagnosis of non-ST-segment elevation myocardial infarction in patients with atrial fibrillation. European Heart Journal: Acute

## Literaturverzeichnis

Cardiovascular Care. 2015;5(6):419-27. doi:  
10.1177/2048872615611108.

107. Liebetrau C, Nef HM, Dörr O, Gaede L, Hoffmann J, Hahnel A, et al. Release kinetics of early ischaemic biomarkers in a clinical model of acute myocardial infarction. *Heart*. 2014;100(8):652-7. doi: 10.1136/heartjnl-2013-305253.

108. Head SJ, Milojevic M, Taggart DP, Puskas JD. Current Practice of State-of-the-Art Surgical Coronary Revascularization. *Circulation*. 2017;136(14):1331-45. doi: 10.1161/circulationaha.116.022572.

109. Spencer F, Galloway A, Colvin S. Surgical management of coronary artery disease. *Surgery of the chest 6th ed Philadelphia*. 1995:1884-5.

110. Weiland A, Walker W. Physiologic principles and clinical sequelae of cardiopulmonary bypass. *Heart & lung: the journal of critical care*. 1986;15(1):34.

111. Novitzky D, Shroyer AL, Collins JF, McDonald GO, Lucke J, Hattler B, et al. A study design to assess the safety and efficacy of on-pump versus off-pump coronary bypass grafting: the ROOBY trial. *Clinical Trials: Journal of the Society for Clinical Trials*. 2007;4(1):81-91. doi: 10.1177/1740774506075859.

112. Hoffman SN, TenBrook JA, Wolf MP, Wong JB, Pauker SG, Salem DN. A meta-analysis of randomized controlled trials comparing coronary artery bypass graft with percutaneous transluminal coronary angioplasty: one-to eight-year outcomes. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;41(8):1293-304. doi: 10.1016/S0735-1097(03)00157-8.

## Literaturverzeichnis

113. Ferguson Jr TB, Hammill BG, Peterson ED, DeLong ER, Grover FL, Committee SND. A decade of change—risk profiles and outcomes for isolated coronary artery bypass grafting procedures, 1990–1999: a report from the STS National Database Committee and the Duke Clinical Research Institute. *The Annals of thoracic surgery*. 2002;73(2):480-9. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(01\)03339-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(01)03339-2).
114. Grover FL, Shroyer ALW, Hammermeister K, Edwards FH, Ferguson Jr TB, Dziuban Jr SW, et al. A decade's experience with quality improvement in cardiac surgery using the Veterans Affairs and Society of Thoracic Surgeons national databases. *Annals of surgery*. 2001;234(4):464. doi: 10.1097/00000658-200110000-00006.
115. Levy JH, Tanaka KA. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2003;75(2):S715-S20. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(02\)04701-X](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(02)04701-X).
116. Smith PL. The cerebral complications of coronary artery bypass surgery. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*. 1988;70(4):212-6. PubMed PMID: 3261958.
117. Taylor KM. Brain Damage During Cardiopulmonary Bypass. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1998;65(4, Supplement 1):S20-S6. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(98\)00072-1](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(98)00072-1).
118. Picone AL, Lutz CJ, Finck C, Carney D, Gatto LA, Paskanik A, et al. Multiple sequential insults cause post-pump syndrome. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1999;67(4):978-85. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(99\)00093-4](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(99)00093-4).
119. Gill IS, Higginson LA, Maharajh GS, Keon WJ. Early and follow-up angiography in minimally invasive coronary bypass without

## Literaturverzeichnis

mechanical stabilization. The Annals of Thoracic Surgery. 2000;69(1):56-60. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(99\)00861-9](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(99)00861-9).

120. Sellke FW, Dimaio JM, Caplan LR, Ferguson TB, Gardner TJ, Hiratzka LF, et al. Comparing On-Pump and Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting. Circulation. 2005;111(21):2858-64. doi: 10.1161/circulationaha.105.165030.

121. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 266 ed. Berlin: De Gruyter; 2014.

122. Bretschneider H. Organübergreifende Prinzipien zur Verlängerung der Ischämietoleranz. Leopoldina. 1992;37(3):161-74.

123. Bretschneider H. Überlebenszeit und Wiederbelebungszeit des Herzens bei Normo- und Hypothermie. Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch. 1964;30(11).

124. Bretschneider HJ. Myocardial Protection. Thorac Cardiovasc Surg. 1980;28(05):295-302. doi: 10.1055/s-2007-1022099.

125. Bhakri KP, Mulholland J, Punjabi PP. Understanding innovations in the evolving practice of blood and crystalloid cardioplegia. Perfusion. 2014;29(6):505-10. doi: 10.1177/0267659114524977.

126. Chambers DJ, Fallouh HB. Cardioplegia and cardiac surgery: Pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion. Pharmacology & Therapeutics. 2010;127(1):41-52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.04.001>.

127. Bigelow WG, Lindsay WK, Greenwood WF. Hypothermia: Its Possible Role in Cardiac Surgery: An Investigation of Factors

## Literaturverzeichnis

- Governing Survival in Dogs at Low Body Temperatures. 1950;132(5):849-66. doi: 10.1097/00000658-195011000-00001.
128. Bigelow WG, Lindsay WK, Harrison RC, Gordon RA, Greenwood WF. OXYGEN TRANSPORT AND UTILIZATION IN DOGS AT LOW BODY TEMPERATURES. American Journal of Physiology-Legacy Content. 1949;160(1):125-37. doi: 10.1152/ajplegacy.1949.160.1.125.
129. Lewis FJ, Taufic M. Closure of atrial septal defects with the aid of hypothermia; experimental accomplishments and the report of one successful case. Surgery. 1953;33(1):52-9. doi: 10.5555/uri:pii:0039606053900579.
130. Melrose DG, Dreyer B, Bentall HH, Baker JBE. ELECTIVE CARDIAC ARREST. The Lancet. 1955;266(6879):21-3. doi: 10.1016/S0140-6736(55)93381-X.
131. Bretschneider HJ. SURVIVAL TIME AND RECUPERATIVE TIME OF THE HEART IN NORMOTHERMIA AND HYPOTHERMIA. Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch. 1964;30:11-34. Epub 1964/01/01. PubMed PMID: 14271639.
132. Preusse CJ. Cardioplegia with an intracellular formulation. In: Piper HM, Preusse CJ, editors. Ischemia-reperfusion in cardiac surgery. Dordrecht: Springer Netherlands; 1993. p. 107-34.
133. Bretschneider HJ, Hübner G, Knoll D, Lohr B, Nordbeck H, Spieckermann PG. Myocardial resistance and tolerance to ischemia: physiological and biochemical basis. The Journal of cardiovascular surgery. 1975;16(3):241-60. PubMed PMID: 239002.
134. Chambers DJ, Braimbridge MV. Cardioplegia with an extracellular formulation. In: Piper HM, Preusse CJ, editors. Ischemia-

## Literaturverzeichnis

reperfusion in cardiac surgery. Dordrecht: Springer Netherlands; 1993. p. 135-79.

135. Hearse DJ, Braimbridge MV, Jynge P. "Protection of the Ischemic Myocardium: Cardioplegia 1981. null p.

136. Tyers GFO, Todd GJ, Niebauer IM, Manley NJ, Waldhausen JA. The mechanism of myocardial damage following potassium citrate (Melrose) cardioplegia. *Surgery*. 1975;78(1):45-53. doi: 10.5555/uri:pii:0039606075901877.

137. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV. Cellular protection during myocardial ischemia: the development and characterization of a procedure for the induction of reversible ischemic arrest. *Circulation*. 1976;54(2):193-202. doi: 10.1161/01.cir.54.2.193.

138. Jynge P, Hearse DJ, Feuvray D, Mahalu W, Canković-Darracott S, O'Brien K, et al. The St. Thomas' hospital cardioplegic solution: a characterization in two species. *Scandinavian journal of thoracic and cardiovascular surgery Supplementum*. 1981;30:1-28. PubMed PMID: 6278581.

139. Braimbridge MV, Chayen J, Bitensky L, Hearse DJ, Jynge P, Canković-Darracott S. Cold cardioplegia or continuous coronary perfusion? *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1977;74(6):900-6. doi: 10.1016/s0022-5223(19)41188-4.

140. Robinson LA, Schwarz GD, Goddard DB, Fleming WH, Galbraith TA. Myocardial protection for acquired heart disease surgery: Results of a national survey. 1995;59(2):361-72. doi: 10.1016/0003-4975(94)00869-9.

141. Buckberg GD, Allen BS, Beyersdorf F. Blood cardioplegic strategies during adult cardiac operations. In: Piper HM, Preusse CJ,

## Literaturverzeichnis

editors. Ischemia-reperfusion in cardiac surgery. Dordrecht: Springer Netherlands; 1993. p. 181-227.

142. Follette DM, Mulder DG, Maloney JV, Buckberg GD. Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion or intermittent ischemia. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1978;76(5):604-19. doi: 10.1016/s0022-5223(19)41007-6.

143. Braathen B, Tønnessen T. Cold blood cardioplegia reduces the increase in cardiac enzyme levels compared with cold crystalloid cardioplegia in patients undergoing aortic valve replacement for isolated aortic stenosis. 2010;139(4):874-80. doi: 10.1016/j.jtcvs.2009.05.036.

144. Ovrum E, Tangen G, Tollofsrud S, Oystese R, Ringdal MA, Istad R. Cold blood versus cold crystalloid cardioplegia: a prospective randomised study of 345 aortic valve patients. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010;38(6):745-9. Epub 2010/05/11. doi: 10.1016/j.ejcts.2010.03.052. PubMed PMID: 20452234.

145. Hoyer A, Kiefer P, Borger M. Cardioplegia and myocardial protection: time for a reassessment? *Journal of Thoracic Disease*. 2019;11(5):E76-E8. doi: 10.21037/jtd.2019.05.08.

146. Klabunde RE. *Cardiovascular physiology concepts: Second edition*. Philadelphia, PA : Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer, [2012] ©2012; 2012.

147. Behrends JC. *Physiologie: 93 Tabellen*: Thieme; 2010.

148. Chambers DJ, Hearse DJ. Developments in cardioprotection: “polarized” arrest as an alternative to “depolarized” arrest. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1999;68(5):1960-6. doi: 10.1016/s0003-4975(99)01020-6.

## Literaturverzeichnis

149. Sperelakis N, Sunagawa M, Nakamura M. Electrogenesis of the resting potential. Heart physiology and pathophysiology: Academic Press San Diego; 2001. p. 175-98.

150. Opie LH. The heart: physiology and metabolism: Raven Press; 1991.

151. Opie LH. Heart physiology: from cell to circulation: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.

152. McAllister RE, Noble D, Tsien RW. Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres. 1975;251(1):1-59. doi: 10.1113/jphysiol.1975.sp011080.

153. Attwell D, Cohen I, Eisner D, Ohba M, Ojeda C. The steady state TTX-sensitive ("window") sodium current in cardiac Purkinje fibres. Pflügers Archiv. 1979;379(2):137-42. doi: 10.1007/BF00586939.

154. Satoh H, Hayashi H, Katoh H, Terada H, Kobayashi A. Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange in regulation of [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> and [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> during metabolic inhibition. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 1995;268(3):H1239-H48. doi: 10.1152/ajpheart.1995.268.3.H1239. PubMed PMID: 7900878.

155. Lahorra JA, Torchiana DF, Tolis G, Bashour CA, Hahn C, Titus JS, et al. Rapid cooling contracture with cold cardioplegia. The Annals of Thoracic Surgery. 1997;63(5):1353-60. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(97\)00087-8](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(97)00087-8).

156. Fallouh HB, Kentish JC, Chambers DJ. Targeting for cardioplegia: arresting agents and their safety. Current Opinion in Pharmacology. 2009;9(2):220-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.11.012>.



## Literaturverzeichnis

157. Ruel M. Vasomotor dysfunction after cardiac surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2004;26(5):1002-14. doi: 10.1016/j.ejcts.2004.07.040.
158. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of Endothelial Function for the Clinical Cardiologist. *Circulation*. 2002;105(5):546-9. doi: 10.1161/hc0502.104540.
159. Nilsson FN, Miller VM, Johnson CM, Tazelaar H, McGregor CGA. Cardioplegia Alters Porcine Coronary Endothelial Cell Growth and Responses to Aggregating Platelets. *Journal of Vascular Research*. 1993;30(1):43-52. doi: 10.1159/000158974.
160. Miller DR. local anesthetics. In: Katzung BG, editor. *Basic and clinical pharmacology* 7ed1998. p. PP. 425-33.
161. Hearse DJ, Braimbridge MV, Jynge P. *Protection of the ischemic myocardium: cardioplegia*: Raven Press; 1981.
162. WALLER ES. Pharmacokinetic Principles of Lidocaine Dosing in Relation to Disease State. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 1981;21(4):181-94. doi: 10.1002/j.1552-4604.1981.tb05698.x.
163. Yamaguchi S, Watanabe G, Tomita S, Tabata S. Lidocaine-magnesium blood cardioplegia was equivalent to potassium blood cardioplegia in left ventricular function of canine heart. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*. 2006;6(2):172-6. doi: 10.1510/icvts.2006.137240.
164. Foldes FF, Molloy R, McNall PG, Koukal LR. COMPARISON OF TOXICITY OF INTRAVENOUSLY GIVEN LOCAL ANESTHETIC AGENTS IN MAN. *Journal of the American Medical Association*. 1960;172(14):1493-8. doi: 10.1001/jama.1960.03020140029007.

## Literaturverzeichnis

165. Robertson DW, Steinberg MI. Potassium channel modulators: scientific applications and therapeutic promise. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1990;33(6):1529-41. doi: 10.1021/jm00168a001.
166. Escande D, Cavero I. K<sup>+</sup> channel openers and 'natural' cardioprotection. *Trends in Pharmacological Sciences*. 1992;13:269-72. doi: [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(92\)90083-l](https://doi.org/10.1016/0165-6147(92)90083-l).
167. Irie H. Experimental studies on ischemic injury and reperfusion injury to the cardiac sarcoplasmic reticulum. The myocardial protective effect of nicorandil. 1988;52(6):563-9. doi: 10.1253/jcj.52.563.
168. Hosoda H, Sunamori M, Suzuki A. Effect of pinacidil on rat hearts undergoing hypothermic cardioplegia. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1994;58(6):1631-6. doi: [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(94\)91649-7](https://doi.org/10.1016/0003-4975(94)91649-7).
169. Cohen NM, Wise RM, Wechsler AS, Damiano RJ. Elective cardiac arrest with a hyperpolarizing adenosine triphosphate-sensitive potassium channel opener. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1993;106(2):317-28. doi: 10.1016/s0022-5223(19)34131-5.
170. Chi L, Uprichard AC, Lucchesi BR. Profibrillatory actions of pinacidil in a conscious canine model of sudden coronary death. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1990;15(3):452-64. doi: 10.1097/00005344-199003000-00016. PubMed PMID: 1691370.
171. Ward JW, McBurney A, Farrow PR, Sharp P. Pharmacokinetics and hypotensive effect in healthy volunteers of pinacidil, a new potent vasodilator. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1984;26(5):603-8. doi: 10.1007/BF00543493.

## Literaturverzeichnis

172. Kowaltowski AJ, Seetharaman S, Paucek P, Garlid KD. Bioenergetic consequences of opening the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel of heart mitochondria. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2001;280(2):H649-H57. doi: 10.1152/ajpheart.2001.280.2.H649. PubMed PMID: 11158963.
173. Lawton JS, Sepic JD, Allen CT, Hsia P-W, Damiano RJ. Myocardial protection with potassium-channel openers is as effective as St. Thomas' solution in the rabbit heart. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1996;62(1):31-9. doi: [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(96\)00260-3](https://doi.org/10.1016/0003-4975(96)00260-3).
174. Belardinelli L, Linden J, Berne RM. The cardiac effects of adenosine. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 1989;32(1):73-97. doi: [https://doi.org/10.1016/0033-0620\(89\)90015-7](https://doi.org/10.1016/0033-0620(89)90015-7).
175. Belardinelli L, Giles WR, West A. Ionic mechanisms of adenosine actions in pacemaker cells from rabbit heart. *1988;405(1):615-33*. doi: 10.1113/jphysiol.1988.sp017352.
176. Schubert T, Vetter H, Owen P, Reichart B, Opie LH. Adenosine versus potassium cardioplegia: Effects on cardiac arrest and postischemic recovery in the isolated rat heart. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1989;98(6):1057-65. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)34319-3](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)34319-3).
177. De Jong JW, Der Meer PV, Loon HV, Owen P, Opie LH. Adenosine as adjunct to potassium cardioplegia: Effect on function, energy metabolism, and electrophysiology. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1990;100(3):445-54. doi: 10.1016/s0022-5223(19)35537-0.
178. Jovanović MDA, Alekseev PAE, López MDJR, Shen MDWK, Terzic MDA. Adenosine Prevents Hyperkalemia-Induced Calcium

## Literaturverzeichnis

Loading in Cardiac Cells: Relevance for Cardioplegia. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1997;63(1):153-61. doi:

[https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(96\)00769-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(96)00769-2).

179. Bers DM. Cardiac excitation–contraction coupling. *Nature*. 2002;415(6868):198-205. doi: 10.1038/415198a.

180. Chapman RA, Tunstall J. The calcium paradox of the heart. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 1987;50(2):67-96. doi:

[https://doi.org/10.1016/0079-6107\(87\)90004-6](https://doi.org/10.1016/0079-6107(87)90004-6).

181. Jynge P, Hearse DJ, Braimbridge MV. Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1977;73(6):848-55. doi: 10.1016/s0022-5223(19)41442-6.

182. Shattock MJ, Hearse DJ, Fry CH. The ionic basis of the anti-ischemic and anti-arrhythmic properties of magnesium in the heart. *Journal of the American College of Nutrition*. 1987;6(1):27-33. doi:

10.1080/07315724.1987.10720162.

183. Iseri LT, French JH. Magnesium: nature's physiologic calcium blocker. *The American heart journal*. 1984;108(1):188-93.

184. Noguchi T, Uzu A, Koyama K, Maruyama J, Nagashima Y, Hashimoto K. *Nippon Suis Gak*. 1983;49(null):1887.

185. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV. Myocardial protection during ischemic cardiac arrest: The importance of magnesium in cardioplegic infusates. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1978;75(6):877-85. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)39603-5)

[5223\(19\)39603-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)39603-5).

## Literaturverzeichnis

186. Tsukube T, McCully JD, Metz KR, Cook CU, Levitsky S. Amelioration of ischemic calcium overload correlates with high-energy phosphates in senescent myocardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1997;273(1):H418-H25. doi: 10.1152/ajpheart.1997.273.1.H418. PubMed PMID: 9249517.
187. Steenbergen C, Murphy E, Watts JA, London RE. Correlation between cytosolic free calcium, contracture, ATP, and irreversible ischemic injury in perfused rat heart. *Circulation Research*. 1990;66(1):135-46. doi: 10.1161/01.res.66.1.135.
188. Fleckenstein A, Fleckenstein-Grün G. Mechanism of action of calcium antagonists in heart and vascular smooth muscle. *European Heart Journal*. 1988;9(suppl\_H):95-9. doi: 10.1093/eurheartj/9.suppl\_H.95.
189. Vouhé PR, Hélias J, Grondin CM. Myocardial Protection Through Cold Cardioplegia Using Diltiazem, a Calcium Channel Blocker. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1980;30(4):342-8. doi: 10.1016/s0003-4975(10)61272-6.
190. Dillon JS, Nayler WG. [3H]-verapamil binding to rat cardiac sarcolemmal membrane fragments; an effect of ischaemia. *British Journal of Pharmacology*. 1987;90(1):99-109. doi: 10.1111/j.1476-5381.1987.tb16829.x.
191. Christakis GT, Fremes SE, Weisel RD, Tittley JG, G. Mickle DA, Ivanov J, et al. Diltiazem cardioplegia: A balance of risk and benefit. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1986;91(5):647-61. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)35984-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)35984-7).
192. Yamamoto F, Manning AS, Braimbridge MV, Hearse DJ. Calcium antagonists and myocardial protection during cardioplegic

## Literaturverzeichnis

arrest. *Advances in myocardiology*. 1985;6:545-62. PubMed PMID: 3992050.

193. Hombach V, Bartel T. *Interventionelle Kardiologie, Angiologie und Kardiovaskularchirurgie: Technik, Klinik, Therapie ; mit 194 Tabellen*: Schattauer; 2001.

194. Krukemeyer MG, Alldinger I. *Chirurgische Forschung*: Thieme; 2005.

195. Calafiore AM, Teodori G, Di Giammarco G, Bosco G, Mezzetti A, Lapenna D, et al. Intermittent antegrade cardioplegia: warm blood vs cold crystalloid. A clinical study. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1994;35(6 Suppl 1):179-84. Epub 1994/12/01. PubMed PMID: 7775536.

196. Caputo M. Intermittent antegrade hyperkalaemic warm blood cardioplegia supplemented with magnesium prevents myocardial substrate derangement in patients undergoing coronary artery bypass surgery. 1998;14(6):596-601. doi: 10.1016/s1010-7940(98)00247-4.

197. Franke UFW, Korsch S, Wittwer T, Albes JM, Wippermann J, Kaluza M, et al. Intermittent antegrade warm myocardial protection compared to intermittent cold blood cardioplegia in elective coronary surgery – do we have to change? *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2003;23(3):341-6. doi: 10.1016/s1010-7940(02)00828-x.

198. Boning A, Hagemüller S, Heep M, Rohrbach S, Niemann B, Mühlfeld C. Is warm or cold Calafiore blood cardioplegia better? Hemodynamic, metabolic, and electron microscopic differences. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;62(8):683-9. Epub 2014/07/30. doi: 10.1055/s-0034-1383722. PubMed PMID: 25068771.

## Literaturverzeichnis

199. Fan Y, Zhang A-M, Xiao Y-B, Weng Y-G, Hetzer R. Warm versus cold cardioplegia for heart surgery: a meta-analysis. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2010;37(4):912-9. doi: 10.1016/j.ejcts.2009.09.030.
200. Tschopp S, Eckstein F, Matt P. Low-Volume Cardioplegia and Myocardial Protection in Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2019;67(06):484-7. Epub 02.08.2018. doi: 10.1055/s-0038-1667322.
201. Koechlin L, Rrahmani B, Gahl B, Berdajs D, Grapow MTR, Eckstein FS, et al. Microplegia versus Cardioplexol(R) in Coronary Artery Bypass Surgery with Minimal Extracorporeal Circulation: Comparison of Two Cardioplegia Concepts. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2020;68(3):223-31. Epub 2019/04/26. doi: 10.1055/s-0039-1687843. PubMed PMID: 31022735.
202. Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen. 1895;61(6):291-332. doi: 10.1007/bf01812150.
203. Dhein S, Mohr FW, Delmar M. Practical methods in cardiovascular research: Springer; 2005.
204. Sutherland FJ, Hearse DJ. The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacological Research*. 2000;41(6):613-27. doi: <https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0653>.
205. Galiñanes M, Hearse DJ. Species differences in susceptibility to ischemic injury and responsiveness to myocardial protection. *Cardioscience*. 1990;1(2):127-43. PubMed PMID: 2102801.
206. Assayag P. Effects of sustained low-flow ischemia on myocardial function and calcium-regulating proteins in adult and

## Literaturverzeichnis

senescent rat hearts. 1998;38(1):169-80. doi: 10.1016/s0008-6363(97)00283-6.

207. Liao R, Podesser BK, Lim CC. The continuing evolution of the Langendorff and ejecting murine heart: new advances in cardiac phenotyping. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2012;303(2):H156-H67. doi: 10.1152/ajpheart.00333.2012. PubMed PMID: 22636675.

208. Krebs HA, Henseleit K. Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie*. 1932;210(1-2):33-66.

209. Roughton FJ, Severinghaus JW. Accurate determination of O<sub>2</sub> dissociation curve of human blood above 98.7 percent saturation with data on O<sub>2</sub> solubility in unmodified human blood from 0 degrees to 37 degrees C. *Journal of Applied Physiology*. 1973;35(6):861-9. doi: 10.1152/jappl.1973.35.6.861. PubMed PMID: 4765824.

210. Severinghaus JW. Simple, accurate equations for human blood O<sub>2</sub> dissociation computations. *Journal of Applied Physiology*. 1979;46(3):599-602. doi: 10.1152/jappl.1979.46.3.599. PubMed PMID: 35496.

211. Feinberg H, Katz LN, Boyd E. Determinants of coronary flow and myocardial oxygen consumption. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1962;202(1):45-52. doi: 10.1152/ajplegacy.1962.202.1.45. PubMed PMID: 13892045.

212. Opie LH. Coronary flow rate and perfusion pressure as determinants of mechanical function and oxidative metabolism of isolated perfused rat heart. *The Journal of physiology*.



## Literaturverzeichnis

1965;180(3):529-41. doi: 10.1113/jphysiol.1965.sp007715. PubMed PMID: 5846791.

213. Sonnenblick EH, John Ross J, Covell JW, Kaiser GA, Braunwald E. Velocity of contraction as a determinant of myocardial oxygen consumption. American Journal of Physiology-Legacy Content. 1965;209(5):919-27. doi: 10.1152/ajplegacy.1965.209.5.919. PubMed PMID: 5849492.

214. Gutierrez JA, Theodorou AA. Oxygen Delivery and Oxygen Consumption in Pediatric Critical Care. In: Lucking SE, Maffei FA, Tamburro RF, Thomas NJ, editors. Pediatric Critical Care Study Guide: Text and Review. London: Springer London; 2012. p. 19-38.

215. Mühlfeld C, Nyengaard JR, Mayhew TM. A review of state-of-the-art stereology for better quantitative 3D morphology in cardiac research. Cardiovascular Pathology. 2010;19(2):65-82. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2008.10.015>.

216. TSCHANZ SA, BURRI PH, WEIBEL ER. A simple tool for stereological assessment of digital images: the STEPanizer. Journal of Microscopy. 2011;243(1):47-59. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2010.03481.x>.

217. DiBona DR, Powell Jr W. Quantitative correlation between cell swelling and necrosis in myocardial ischemia in dogs. Circulation research. 1980;47(5):653-65.

218. Weibel E. Stereological methods. Practical methods for biological morphometry. Academic Press. 1979;1:9-62.

219. Mall G, Mattfeldt T, Möbius HJ, Leonhard R. Stereological study on the rat heart in chronic alimentary thiamine deficiency; Absence of myocardial changes despite

## Literaturverzeichnis

- starvation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 1986;18(6):635-43. doi: 10.1016/S0022-2828(86)80971-3.
220. Schmiedl A, Schnabel PA, Mall G, Gebhard MM, Hunneman DH, Richter J, et al. The surface to volume ratio of mitochondria, a suitable parameter for evaluating mitochondrial swelling. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histopathology*. 1990;416(4):305-15. doi: 10.1007/bf01605291.
221. Whalley G, Doughty R, Poppe K, Gamble G, Dini F, Moller J, et al. Independence of restrictive filling pattern and LV ejection fraction with mortality in heart failure: an individual patient meta-analysis. 2008.
222. Metkus TS, Suarez-Pierre A, Crawford TC, Lawton JS, Goeddel L, Dodd-o J, et al. Diastolic dysfunction is common and predicts outcome after cardiac surgery. *Journal of Cardiothoracic Surgery*. 2018;13(1):67. doi: 10.1186/s13019-018-0744-3.
223. KATZ LN, FEINBERG H. The Relation of Cardiac Effort to Myocardial Oxygen Consumption and Coronary Flow. *Circulation Research*. 1958;6(5):656-69. doi: doi:10.1161/01.RES.6.5.656.
224. Bache RJ, Dai XZ, Schwartz JS, Homans DC. Role of adenosine in coronary vasodilation during exercise. *Circulation Research*. 1988;62(4):846-53. doi: doi:10.1161/01.RES.62.4.846.
225. Altman JD, Kinn J, Duncker DJ, Bache RJ. Effect of inhibition of nitric oxide formation on coronary blood flow during exercise in the dog. *Cardiovascular Research*. 1994;28(1):119-24. doi: 10.1093/cvr/28.1.119.
226. Duncker DJ, Bache RJ. Regulation of coronary vasomotor tone under normal conditions and during acute myocardial hypoperfusion.

Pharmacology & Therapeutics. 2000;86(1):87-110. doi:  
[https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(99\)00074-1](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(99)00074-1).

227. Tune JD, Gorman MW, Feigl EO. Matching coronary blood flow to myocardial oxygen consumption. *Journal of Applied Physiology*. 2004;97(1):404-15. doi: 10.1152/jappphysiol.01345.2003. PubMed PMID: 15220323.

228. Yamabe H, Okumura K, Ishizaka H, Tsuchiya T, Yasue H. Role of endothelium-derived nitric oxide in myocardial reactive hyperemia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1992;263(1):H8-H14. doi: 10.1152/ajpheart.1992.263.1.H8. PubMed PMID: 1636774.

229. Dick GM, Bratz IN, Borbouse L, Payne GA, Dincer ÜD, Knudson JD, et al. Voltage-dependent K<sup>+</sup> channels regulate the duration of reactive hyperemia in the canine coronary circulation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2008;294(5):H2371-H81. doi: 10.1152/ajpheart.01279.2007. PubMed PMID: 18375717.

230. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332(6163):411-5. doi: 10.1038/332411a0.

231. Daut J, Maier-Rudolph W, von Beckerath N, Mehrke G, Gunther K, Goedel-Meinen L. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Science*. 1990;247(4948):1341-4. doi: 10.1126/science.2107575.

232. Bloor C, White F. Coronary artery reperfusion: effects of occlusion duration on reactive hyperemia responses. *Basic research in cardiology*. 1975;70(2):148-58.

## Literaturverzeichnis

233. Huang AL, Silver AE, Shvenke E, Schopfer DW, Jahangir E, Titas MA, et al. Predictive Value of Reactive Hyperemia for Cardiovascular Events in Patients With Peripheral Arterial Disease Undergoing Vascular Surgery. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2007;27(10):2113-9. doi: doi:10.1161/ATVBAHA.107.147322.
234. He G-W. Endothelial Function Related to Vascular Tone in Cardiac Surgery. *Heart, Lung and Circulation*. 2005;14(1):13-8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2004.11.003>.
235. Han J-G, Yang Q, Yao X-Q, Kwan Y-W, Shen B, He G-W. Role of Large-conductance Calcium-activated Potassium Channels of Coronary Arteries in Heart Preservation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2009;28(10):1094-101. doi: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2009.06.011>.
236. Opie L. Hypothesis: glycolytic rates control cell viability in ischemia. *Journal of applied cardiology*. 1988;3(6):407-14.
237. JENNINGS RB, SOMMERS HM, KALTENBACH JP, WEST JJ. Electrolyte Alterations in Acute Myocardial Ischemic Injury. *Circulation Research*. 1964;14(3):260-9. doi: doi:10.1161/01.RES.14.3.260.
238. Inserte J, Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Solares J, Soler J. The Role of Na<sup>+</sup>—H<sup>+</sup>Exchange Occurring During Hypoxia in the Genesis of Reoxygenation-induced Myocardial Oedema. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 1997;29(4):1167-75. doi: <https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0352>.
239. Vandenberg JI, Rees SA, Wright AR, Powell T. Cell swelling and ion transport pathways in cardiac myocytes. *Cardiovascular Research*. 1996;32(1):85-97. doi: 10.1016/s0008-6363(96)00048-x.

## Literaturverzeichnis

240. Garcia-Dorado D, Andres-Villarreal M, Ruiz-Meana M, Inserte J, Barba I. Myocardial edema: A translational view. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2012;52(5):931-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.01.010>.
241. Laine GA, Allen SJ. Left ventricular myocardial edema. Lymph flow, interstitial fibrosis, and cardiac function. *Circulation Research*. 1991;68(6):1713-21. doi: doi:10.1161/01.RES.68.6.1713.
242. Desai KV, Laine GA, Stewart RH, Charles S. Cox J, Quick CM, Allen SJ, et al. Mechanics of the left ventricular myocardial interstitium: effects of acute and chronic myocardial edema. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2008;294(6):H2428-H34. doi: 10.1152/ajpheart.00860.2007. PubMed PMID: 18375722.
243. Rubboli A, Sobotka PA, Euler DE. Effect of acute edema on left ventricular function and coronary vascular resistance in the isolated rat heart. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1994;267(3):H1054-H61. doi: 10.1152/ajpheart.1994.267.3.H1054. PubMed PMID: 8092270.
244. Leaf A. Regulation of intracellular fluid volume and disease. *The American journal of medicine*. 1970;49(3):291-5. doi: [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(70\)80019-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(70)80019-5).
245. Powell W, Flores J, DiBona D, Leaf A. The role of cell swelling in myocardial ischemia and the protective effect of hypertonic mannitol. *J Clin Invest*. 1973;52:66a.
246. Fernández-Jiménez R, García-Prieto J, Sánchez-González J, Agüero J, López-Martín GJ, Galán-Arriola C, et al. Pathophysiology Underlying the Bimodal Edema Phenomenon After Myocardial

## Literaturverzeichnis

Ischemia/Reperfusion. Journal of the American College of Cardiology. 2015;66(7):816-28. doi: doi:10.1016/j.jacc.2015.06.023.

247. Schnabel PA, Gebhard MM, Pomykaj T, Schmiel A, Preuße CJ, Richter J, et al. Myocardial Protection: Left Ventricular Ultrastructure after Different Forms of Cardiac Arrest. Thorac Cardiovasc Surg. 1987;35(03):148-56. doi: 10.1055/s-2007-1020219

248. Gebhard M-M, Bretschneider HJ. Myocardial protection. Current Opinion in Cardiology. 1989;4(6):803-6. PubMed PMID: 00001573-198912000-00008.

249. Méndez-Carmona N, Wyss RK, Arnold M, Joachimbauer A, Segiser A, Fiedler GM, et al. Differential effects of ischemia/reperfusion on endothelial function and contractility in donation after circulatory death. The Journal of Heart and Lung Transplantation. 2019;38(7):767-77. doi: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2019.03.004>.

250. Ziegler WH, Goresky CA. Transcapillary Exchange En the Working Left Ventricle of the Dog. Circulation Research. 1971;29(2):181-207. doi: doi:10.1161/01.RES.29.2.181.

251. Lurati Buse GA, Koller MT, Grapow M, Brüni CM, Kasper J, Seeberger MD, et al. 12-Month Outcome After Cardiac Surgery: Prediction by Troponin T in Combination With the European System for Cardiac Operative Risk Evaluation. The Annals of Thoracic Surgery. 2009;88(6):1806-12. doi: <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2009.07.080>.

## Literaturverzeichnis

252. Katz AM. Effects of ischemia on the contractile processes of heart muscle. *The American Journal of Cardiology*. 1973;32(4):456-60. doi: [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(73\)80036-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(73)80036-0).
253. Weiss J, Hiltbrand B. Functional compartmentation of glycolytic versus oxidative metabolism in isolated rabbit heart. *The Journal of Clinical Investigation*. 1985;75(2):436-47. doi: 10.1172/JCI111718.
254. Rao V, Ivanov J, Weisel RD, Cohen G, Borger MA, Mickle DAG. Lactate release during reperfusion predicts low cardiac output syndrome after coronary bypass surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2001;71(6):1925-30. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(01\)02634-0](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(01)02634-0).
255. Foglia R, Lazar H, Steed D, Follette D, Manganaro A, Deland E, et al., editors. Iatrogenic myocardial edema with crystalloid primes: effects on left ventricular compliance, performance, and perfusion. *Surg Forum*; 1978.
256. Detwiler PW, Nicolosi AC, Weng Z-C, Spotnitz HM. Effects of perfusion-induced edema on diastolic stress-strain relations in intact swine papillary muscle. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1994;108(3):467-76. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(94\)70256-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(94)70256-X).
257. Davis KL, Mehlhorn U, Laine GA, Allen SJ. Myocardial edema, left ventricular function, and pulmonary hypertension. *Journal of Applied Physiology*. 1995;78(1):132-7. doi: 10.1152/jappl.1995.78.1.132. PubMed PMID: 7713802.
258. Pratt JW, Schertel ER, Schaefer SL, Esham KE, McClure DE, Heck CF, et al. Acute transient coronary sinus hypertension impairs left ventricular function and induces myocardial edema. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*.

## Literaturverzeichnis

1996;271(3):H834-H41. doi: 10.1152/ajpheart.1996.271.3.H834.  
PubMed PMID: 8853315.

259. Fischer UM, Cox Jr CS, Stewart RH, Laine GA, Allen SJ. Impact of Acute Myocardial Edema on Left Ventricular Function. *Journal of Investigative Surgery*. 2006;19(1):31-8. doi: 10.1080/08941930500444438.

260. Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: The Langendorff technique of isolated heart perfusion. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2011;50(6):940-50. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.02.018.

261. Tolkmitt KJ, Simsekyilmaz S, Schipke J, Mühlfeld C, Preissner KT, Böning A. Influence of Medication-Induced Preconditioning or Remote Ischemic Preconditioning on the Intrinsic Vascular Extracellular RNA/Ribonuclease System in Cardioprotection. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*. 2019;67(06):494-501. doi: 10.1055/s-0038-1675398.

262. Portman MA, Panos AL, Xiao Y, Anderson DL, Alfieris GM, Ning X-H, et al. Influence of the pH of cardioplegic solutions on cellular energy metabolism and hydrogen ion flux during neonatal hypothermic circulatory arrest and reperfusion: A dynamic 31p nuclear magnetic resonance study in a pig model. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1997;114(4):601-8. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(97\)70050-3](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(97)70050-3).

263. Guru V. Is Blood Superior to Crystalloid Cardioplegia?: A Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. 2006;114(1\_suppl):I-331-I-8. doi: 10.1161/circulationaha.105.001644.

264. Barner HB. Blood cardioplegia: a review and comparison with crystalloid cardioplegia. *Ann Thorac Surg*. 1991;52(6):1354-67. Epub



## Literaturverzeichnis

1991/12/01. doi: 10.1016/0003-4975(91)90034-n. PubMed PMID: 1755697.

265. Feindel CM, Tait GA, Wilson GJ, Klement P, Macgregor DC. Multidose blood versus crystalloid cardioplegia. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1984;87(4):585-95. doi: 10.1016/s0022-5223(19)37362-3.

266. Singh AK, Farrugia R, Teplitz C, Karlson KE. Electrolyte versus Blood Cardioplegia: Randomized Clinical and Myocardial Ultrastructural Study. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1982;33(3):218-27. doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(10\)61915-7](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(10)61915-7).

267. Laiken N, Fanestil D. Acid-base balance and regulation of H<sup>+</sup> excretion. *Best and Taylor's physiologic bases of medical practice: Williams and Wilkins Baltimore*; 1985. p. 286.

268. Tait GA, Booker PD, Wilson GJ, Coles JG, Steward DJ, MacGregor DC. Effect of multidose cardioplegia and cardioplegic solution buffering on myocardial tissue acidosis. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1982;83(6):824-9. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)37177-6](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)37177-6).

269. von Oppell UO, King LM, Du Toit EF, Owen P, Reichart B, Opie LH. Effect of oxygenation and consequent pH changes on the efficacy of St. Thomas' Hospital cardioplegic solution. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1991;102(3):396-404. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)36522-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)36522-5).

270. Reuber M. Lokalanästhetika. In: Heck M, Fresenius M, Busch C, editors. *Repetitorium Anästhesiologie: Für die Facharztprüfung und das Europäische Diplom*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2017. p. 283-300.

## Literaturverzeichnis

271. Grant A, Strauss L, Wallace A, Strauss H. The influence of pH on the electrophysiological effects of lidocaine in guinea pig ventricular myocardium. *Circulation research*. 1980;47(4):542-50.
272. DeWitt DF, Jochim KE, Behrendt DM. Nucleotide degradation and functional impairment during cardioplegia: amelioration by inosine. *Circulation*. 1983;67(1):171-8. Epub 1983/01/01. doi: 10.1161/01.cir.67.1.171. PubMed PMID: 6847795.
273. Saydjari R, Asimakis G, Conti VR. Effect of increasing volume of cardioplegic solution on postischemic myocardial recovery. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1987;94(2):234-40. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)36286-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)36286-5).
274. Cartier R, Pellerin M, Hollmann C, Pelletier LC. Effects of pressure and duration of hyperkalemic infusions on endothelial function. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1993;55(3):700-5. doi: [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(93\)90278-P](https://doi.org/10.1016/0003-4975(93)90278-P).
275. Takahashi A, Chambers DJ, Braimbridge MV, Hearse DJ. Optimal myocardial protection during crystalloid cardioplegia: Interrelationship between volume and duration of infusion. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1988;96(5):730-40. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)35180-3](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)35180-3).
276. Zhidkov IL, Belianko IE, Sitnichenko NV, Paliulina MV, Laptiř AV. [Effect of perfusion volume of the Custodiol solution on the efficiency of cardioplegia in experiment]. *Anesteziologija i reanimatologija*. 2008(5):42-7. PubMed PMID: 19102231.
277. Boning A, Rohrbach S, Kohlhepp L, Heep M, Hagmuller S, Niemann B, et al. Differences in ischemic damage between young and old hearts--Effects of blood cardioplegia. *Exp Gerontol*.

## Literaturverzeichnis

2015;67:3-8. Epub 2015/04/29. doi: 10.1016/j.exger.2015.04.012. PubMed PMID: 25914110.

278. Baker JE, Konorev EA, Gross GJ, Chilian WM, Jacob HJ. Resistance to myocardial ischemia in five rat strains: is there a genetic component of cardioprotection? *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;278(4):H1395-400. Epub 2000/04/06. doi: 10.1152/ajpheart.2000.278.4.H1395. PubMed PMID: 10749737.

279. Blenck CL, Harvey PA, Reckelhoff JF, Leinwand LA. The Importance of Biological Sex and Estrogen in Rodent Models of Cardiovascular Health and Disease. *Circulation Research.* 2016;118(8):1294-312. doi: doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.307509.

280. Ostadal B, Ostadal P. Sex-based differences in cardiac ischaemic injury and protection: therapeutic implications. *British Journal of Pharmacology.* 2014;171(3):541-54. doi: <https://doi.org/10.1111/bph.12270>.

281. Funkat A-K, Lewandowski J, Frie M, Ernst M, Hekmat K, Schiller W, et al. Cardiac Surgery in Germany during 2014: A Report on Behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon.* 2015;63(04):258-69. doi: 10.1055/s-0035-1551676.

282. Böning A, Lutter G, Mrowczynski W, Attmann T, Bödeker RH, Scheibelhut C, et al. Octogenarians Undergoing Combined Aortic Valve Replacement and Myocardial Revascularization: Perioperative Mortality and Medium-Term Survival. 2010;58(03):159-63. doi: 10.1055/s-0029-1240832.

283. Sen B, Niemann B, Roth P, Aser R, Schönburg M, Böning A. Short- and long-term outcomes in octogenarians after coronary

## Literaturverzeichnis

artery bypass surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2012;42(5):e102-e7. doi: 10.1093/ejcts/ezs410.

## 10 Materialverzeichnis

73-3757 Fiberoxygenator D150	Hugo Sachs Elektronik - Harvard Apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Absaugpumpe egnell compact 25	Ameda B-1800 Vilvoorde Belgien
Advia Centauer XP	Siemens Healthcare GmbH D-91052 Erlangen
Aortenkanüle aus Edelstahl ID: 1,5 mm AD: 2,0 mm	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
BGA Gerät Rapidlab 348	Siemens, D-65760 Eschborn
Bicarbonate Buffer	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Bluttransfusionsfilter	Haemonetrics, D-80469 Mün- chen
Brückenverstärker	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
BSA (Bovine Serum Albumin) Fraction V pH 7,0	GE Healthcare Bio-Sciences Austria GmbH A-4061 Pasching
Calciumchlorid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Carbogen 5% CO2 95% O2	Praxair Deutschland GmbH D-40476
Cryo.s	Greiner Bio-One GmbH D-72636 Frickenhausen
Druckaufnehmer Braun Combif- rans	B. Braun, Melsungen AG D-34209 Melsungen

## Materialverzeichnis

EDTA- Dinatriumsalz Dihydrat (Titerkomplex III)	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Effluent Funnel	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Epon	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Ethanol	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Exsikkator (6L)	Carl Roth GmbH + Co. KG, D- 76185 Karlsruhe
Filter/-halter Swinnex	EMD Millipore Headquarters Billerica, MA 01821
Gentamicin-ratiopharm 160 mg/2 ml SF	Ratiopharm GmbH D-89079 Ulm
Glukose	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Glutaraldehyd 25%	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Heparin-Natrium-25000-rati- opharm	Ratiopharm GmbH D-89079 Ulm
HEPES buffer solution, 1 M in H <sub>2</sub> O	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Insuman Rapid 40 I.E./ml	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH D-65926 Frankfurt
Isofluran Baxter	Baxter Deutschland GmbH D-85716 Unterschleißheim
Isolated Heart ICH-SR Appartus Type: 844/1	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Kaliumchlorid	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe

## Materialverzeichnis

Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Lactat Photometer plus DP110	Diaglobal GmbH D-12555 Berlin
Latexballon Größe 5/6	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Magnesiumsulfat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Magnetic Stirrer HI 190M	Hanna instruments Deutschland GmbH D-77694 Kehl am Rhein
Magnetrührer yellow line yellow MAG HS 7	IKA-Werke GmbH & Co. KG D-79219 Staufen
Multiply®-Pro cup 0.5 ml, PP	Sarstedt AG & Co D-51588 Nümbrecht
Natriumchlorid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Natriumhydrogencarbonat ( $\text{NHCO}_3$ )	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Osmiumtetroxid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Pall Bluttransfusionsfilter SQ40SE	Pall GmbH D-63303 Dreieich
Paraformaldehyd	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Perfusatbehälter, doppelwan- dig, 1,0 l	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Perfusor 11 plus	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten

## Materialverzeichnis

Pipetten Eppendorf Research 10	Eppendorf AG D-22339 Hamburg Hummelsbü- ttel
Pipetten Eppendorf Research 100	Eppendorf AG D-22339 Hamburg Hummelsbü- ttel
Pipetten Eppendorf Research 1000	Eppendorf AG D-22339 Hamburg Hummelsbü- ttel
Präzisionswaage Kern EW	Kern & Sohn GmbH D-72336 Balingen
Propylenoxid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
RBS 35 Konzentrat (Reiniger)	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Reagiergefäß 0,5 ml	Sarstedt AG & Co D-51588 Nümbrecht
Reagiergefäß 1,5 ml	Sarstedt AG & Co D-51588 Nümbrecht
Salzsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Schlauchpumpe Ismatec Reglo digital ISM 834/230	Ismatec-Idex Health & Science GmbH D-97877 Wertheim
Software HSE Isoheart W	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Transmissionselektronenmikroskop Zeiss EM 902	3 - Carl Zeiss AG - VR One Plus, D-73447 Oberkochen
Tygon Pumpenschläuche (ID: 3,18 mm)	Ismatec-Idex Health & Science GmbH D-97877 Wertheim
Uranylacetat	Merck KGaA D-64293 Darmstadt



## Kongressbeiträge

Uranylacetat	Merck KGaA D-64293 Darmstadt
Veterinary Fluosorber	Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Waage EMB 2200-0	Kern & Sohn GmbH D-72336 Balingen
Wärmepumpe Ecoline Lauda E100	Lauda Dr. R Wobser GmbH & Co. KG D-97922 Königshofen
Zentrifuge 4-16-K	Sigma D-37520 Osterode am Harz

## 11 Kongressbeiträge

50. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thorax- Herz- und Gefäßchirurgie Herzmedizin 2021 -DIGITAL-, 27.02.2021

Basic science:

**C. Hemmerich, M. Heep, A. Böning**

**The ambivalent value of Cardioplexol**

**Objectives:** Cardioplexol as a crystalloid, low volume, single shot cardioplegic solution has been shown to be effective in clinical studies. To investigate its cardioprotective qualities experimentally, cardiac recovery in rat hearts with Cardioplexol cardioplegia was compared with 45 minutes of no flow ischemia.

**Methods:** The hearts of 15 rats were isolated and inserted into a blood perfused pressure controlled Langendorff apparatus. After a short period of stabilization, cardioplegic arrest was induced in six hearts by using Cardioplexol as a single dose. In the remaining hearts cardiac arrest was induced by no-flow ischemia without the application of cardioplegic solution. Ischemia was maintained for 45 minutes. During 90 minutes of reperfusion, parameters of cardiac function like left ventricular developed pressure (LVDP), coronary blood flow (CF), and contractile forces were measured and normalized to baseline values (%).

**Result:** Baseline values of LVPsys, heart rate (HR), and coronary blood flow were similar in both groups (cardioplexol group: LVPsys 94 mm Hg  $\pm$  10.84 SEM, HR 245/min  $\pm$  16.09 SEM, CF 3.63 mL/min  $\pm$  0.49 SEM versus control group: LVPsys 113 mm Hg  $\pm$  9.32 SEM, HR: 219/min  $\pm$  16.07 SEM, CF: 4.13 mL/min  $\pm$  0.26 SEM). Administration of cardioplexol resulted in immediate diastolic cardiac arrest within 1 to 3 seconds. During ischemia, a discernable upcreep of LVDP and contractile force was distinctly measured in the cardioplexol group (LVDP: 4%  $\pm$  1 SEM in cardioplexol group versus 1%  $\pm$  0.3 SEM in control group). Within the period of reperfusion, hearts after cardioplexol revealed better cardiac recovery in LVDP than hearts after

global ischemia ( $103\% \pm 29.2$  SEM in cardioplexol group versus  $73\% \pm 20$  SEM at the beginning of reperfusion: at the end of reperfusion  $76\% \pm 10.7$  SEM in the cardioplexol group versus  $47 \pm 13.9$  SEM in the control group). In early reperfusion, coronary blood flow was higher in the ischemia group than in the cardioplexol group (CF =  $119\% \pm 21$  SEM in the cardioplegia group versus  $167\% \pm 27.5$  SEM in the ischemia group), but at the end of reperfusion, coronary flow was lower in the ischemia group (CF =  $69\% \pm 15.7$  SEM in the cardioplegia group versus  $49\% \pm 9.6$  SEM in the ischemia group).

**Conclusion:** Inducing cardioplegic arrest by cardioplexol results in superior cardiac recovery compared with global no-flow ischemia and is therefore safe and effective. However, ischemic contracture 30 to 39 minutes after cardioplexol infusion warrants further investigation.

## 12 Danksagung

Ich bedanke mich von Herzen bei Herrn Prof. Böning für die Möglichkeit der Promotion in einem humanmedizinischen Thema. Vielen Dank für Ihr Vertrauen in meine Person, die exzellente Betreuung meines Promotionsvorhabens und die weitreichende Einarbeitung in die Grundlagen des wissenschaftlichen Arbeitens, die weit über meine Promotion hinausreichten.

Ein weiterer großer Dank gilt Tina. Danke, dass du mich bei der Versuchsdurchführung mit vollem Einsatz unterstützt hast und wir stets ein so herzliches Miteinander gepflegt haben.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Prof. Schneider bedanken. Vielen herzlichen Dank, dass Sie mich als externer Doktorand so unterstützt haben und mit Ihren Anmerkungen meine Dissertation maßgeblich aufgewertet haben.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für die mentale Unterstützung. Danke, dass ihr immer an mich geglaubt habt und mich in schwierigen Zeiten immer aufgebaut habt.

Johannes, Danke dass du zwischen Nacht- und Wochenenddiensten immer noch die Zeit gefunden hast mich zu unterstützen und stets verständnis- und liebevoll ein offenes Ohr für mich hattest.

## 13 Erklärung zur Dissertation

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.



*edition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978 3 8359 7167 7



9 783835 197167