Experimentelle Bewertung der Esmolol basierten, Kristalloiden Kardioplegia im Vergleich zur warmen Blutkardioplegie in Rattenherzen.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med.
beim Fachbereich der Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Balli Chapugi
aus Gießen

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Klinik für Herz-, Kinderherz und Gefäßchirurgie

Betreuer: Prof. Dr. Böning, Andreas

Gutachter: Prof. Dr. Dörr, Oliver

Tag der Disputation: 10.06.2026

Gewidmet meiner Mama und meinem Ehemann

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis 4

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis 10

Einleitung 12

Elektrophysiologie des Herzens 12

Historische Entwicklung der Herzchirurgie 16

Geschichtliche Aspekte der Myokardprotektion 18

Ischämie-Reperfusionsschaden 23

Myokardprotektion 26

Funktionsprinzipien der Myokardprotektion 27

Kardioplegie- Optionen 29

Fragestellung 33

Material und Methoden 34

Versuchsgruppen 35

Versuchstiere 36

Blutperfusat 36

ECCP-Vorbereitung 37

Calafiore- Kardioplegie- Vorbereitung 38

Langendorff-Apparatur 38

Datenerfassung 41

Protokoll der Versuche 43

Versuchsablauf 44

Metabolische Messparameter 45

Myokardialer Sauerstoffverbrauch (MVO2) *45*

Myokardiale Lactatproduktion (MLac) *46*

Elektronenmikroskopie des Myokards 47

Immersionsfixierung der Organe *47*

Auswertung der Elektronenmikroskopie *48*

Statistische Analyse *53*

Ergebnisse 53

Baseline-Parameter 54

Hämodynamische Parameter *56*

Koronarfluss (CF) *57*

Kontraktionsgeschwindigkeit (dLVP/dt$_{max.}$) *58*

Relaxationsgeschwindigkeit (dLVP/dt$_{min}$) *59*

Metabolische Parameter 60

Lactatproduktion (MLac) *60*

Sauerstoffverbrauch (MVO2) *61*

Biomarkern 62

Troponin I *62*

Elektronenmikroskopie 63

Zellulärer Ödemindex bzw. Cellular- öedema- index (CEI) *63*

Volumen-Oberflächen-Verhältnis bzw. Volume-Surface-Ration (V/S Ratio) *64*

Qualitative Auswertung Elektronenmikroskopie *65*

Diskussion 66

Zusammenfassung 71

Summary 72

Kongressbeitrage 74

Erklärung zur Dissertation 75

Danksagung 76

Publikationsverzeichnis 76

Literaturverzeichnis 77

Abkürzungsverzeichnis

+dp/dt, -dp/dt ---------- *maximale Kontraktions- und Relaxationsgeschwindigkeit*

A

ACB----------*Aorta-Coronary-Bypass*
ACS ---------- *Akutes Koronarsyndrom*
ADP ---------- *Adenosindiphosphat*
AF ---------- ----------*atrial Fibrillation*
ALS----------*Amyotropher Lateralsklerose*
AMI ----------*Akuter Miokardinfarkt*
AMP ---------- Adenosinmonophosphat
AP ----------*Aortendruck*
ARNi----------*Angiotensin-Rezeptor-Neprillysin-Hemmer*
ATP ----------*Adenosintriphosphat*
AVKA- ----------*AV-knotenarterie*

B

BL ---------- ----------*Baseline*
BV---------- --*Bildverstärker*

C

CABG ---------- *Coronary artery bypass grafting*
Cala v ---------- *Calafiore blood cardioplegia*
CaO2---------- *Arterielle Sauerstoffkonzentration*
CEI---------- ----------*zelluläre- Ödemindex*
CF---------- ---*Coronarer Fluß*
cHb----------*Hämoglobinkonzentration, Hämolglobinkonzentration*
CICR---------- *Kalziuminduzierte Kalziumfreisetzungssystem*
CK- ----------*Kreatinkinase*
CK- MiMi---------- *Creatinkinase Mitochondrien Type*
CK-BB.----------*Creatinkinase -Brain Type*
CK-MB----------*Creatinkinase Muscle-Brain Type*
CK-MM ----------*Creatinkinase Muscle- Type*

cLac a ---------- *arterielle Laktatkonzentration*

cLac ---------- *venöse Laktatkonzentration*

COPD, ---------- Chronic obstructive pulmonary disease

CT ----------*Computertomografie*

CvO2---------- *Venöse Sauerstoffkonzentration*

CxO2---------- *Venöse/ arterielle Sauerstoffkonzentration*

E

ECCP ----------*Esmolol crystalloid cardioplegia*

EF ---------- *Ejektionsfraktion*

EK----------*Kalium-Gleichgewichtspotenzial*

EKG----------*Elektrokardiogramm*

EKZ ---------- *extrakorporale Zirkulation*

ELAM-1----------*endotheliale Leukozyten-Adhäsionsmolekül-1*

EuroSCORE ----------European System for Cardiac Operative Risk Evaluation

---

G

GLP1-RA ----------*Glucagon-like-Peptide-1-Rezeptor-Agonisten*

GMP-140----------*Granulatmembranproteins-140*

H

h ----------*Stunde*

HKU ----------*Herzkatheteruntersuchung*

HLM ----------*Herz- lungen maschine*

hsTn---------- *hochsensitives Troponin*

HTK-Kardioplegielösung ---------- *Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Kardioplegielösung*

I

I ----------*Anzahl der Schnittpunkte mit Mitochondrien*

I.E. ---------- *Internationale Einheit pro Milliliter*

ICAM-1 ----------*interzelluläre Adhäsionsmolekül-1*

I_{Na} ---------- *schnelle Natriumkanal*

K

KA ---------- *Konusarterie, Sinusknotenarterie*
KHB ---------- *Krebs-Henseleit Puffers*
KKS ---------- *Chronosches Koronarsyndrom*
KM ---------- *Kontrastmittel*

L

l(p) ---------- *½ Lt,*
LA ---------- *Langedorf Apparatur*
LAD ---------- *left anterior descending*
LAO-Projektionen ---------- *Links-anterior-obliquer*
LBBB ---------- *Linksschenkelblock*
LCA ---------- *linke koronar arterie*
LIMA ---------- *Left internal mammary artery*
LM-Krankheit ---------- *Leftmain(Hauptstamm)*
LSB ---------- *Linksschenkelblock*
Lt ---------- *Länge einer Testlinie, 1/2PtxZ, Lange einer Testlinie*
LVDP ---------- *linksventrikulär entwickelte Druck*
LVEDP ---------- *linksventrikulär enddiastolische Druck*
LVEF ---------- *linksventrikulären Ejektionsfraktion*
LVP ---------- *left ventricular pressure*
LVSP ---------- *systolischer linkventriculäre-Druck*

M

MACE ---------- *major adverse cardiac and cerebral events*
ml ---------- *milliliter*
MLac ---------- *Myokardiale Lactatproduktion*
MRT ---------- *Magnetresonanztomographie*
MVLac ---------- *Laktatprotduktion*
MVO2 --- *myokardialer Sauerstoffverbrauch*, *myokardialer Sauerstoffverbrauch*, Myokardialer Sauerstoffverbrauch

N

NSTEMI ---------- *Nicht-ST-Hebungsinfarkt*

O

O_2 ---------- *Sauerstoff*

ONBHCAB ---------- *'on pump beating heart CABG'*

OPCAB ---------- *Off-Pump-CABG*

P

P(mf) ---------- *Punkte auf Myofibrillen, Anzahl der Punkte, welche auf Myofibrillen fallen,*

P(mito) ---------- *Punkte auf Mitochondrien, Punkte auf Mitochondrien*

P(nuc) ---------- *Punkte auf Nuclei, Punkte auf Nuclei*

P(Sp) ---------- *Punkte auf Sarkoplasma, Punkte auf Sarkoplasma*

PCI ---------- *perkutane Koronarintervention*

PLA ---------- *Ramiposterolateralis*

PO_2 ---------- *Sauerstoffpartialdruck*

Pt ---------- *Anzahl der Punktlinien*

PxO2 ---------- *Venöser/ arterieller Sauerstoffpartialdruck*

R

RA ---------- *Arteria radialis*

RAD ---------- *Ramus atrialis dexter*

RAS-Hemmer ---------- *Renin-Angiotensin-System-Hemmer*

RCA ---------- *rechte koronar arterie*

RCD ---------- *Ramus circumflexus dexter*

RCx ---------- *Ramus circumflexus*

RD ---------- *Diagonaläste*

RITA ---------- *right internal thoracic arterie*

RIVA ---------- *Ramus interventricularis anterior*

RIVP ---------- *Ramus interventricularis posterior*

RIVPD ---------- *Ramus interventricularis posterior dexter*

RMD ---------- *Ramus marginalis dexter*

RMS ---------- *Ramus marginalis sinistra*

RPLD ---------- *Ramus posterio-lateralis dexter*

RS ---------- *Septaläste*

RVD ---------- *Ramus ventricularis dexter*

RyR ---------- *Ryanodinrezeptoren*

S

SD ---------- *Standartabweichung*

SGLT2-Hemmer ---------- *Natriumglukose-Cotransporter-2-Hemmer*

SIRS ---------- *Sistemic inflammatory response syndrome*

SITA ---------- *Single internal thoracic artery*

SO_2 ---------- *Sauerstoffsättigung*

SR ---------- *sarkoplasmatisches Retikulum*

STEMI ---------- *ST-Hebungsinfarkt*

STS ---------- *Society of Thoracic Surgeons Score*

Sv ---------- *Oberflächendichte*

SxO2 ---------- *Venöse/ arterielle Sauerstoffsättigung*

SYNTAX Score ---------- *(SYNergy between PCI with TAXUS™ and Cardiac Surgery*

T

TTC ---------- *Triphenyltetrazoliumchlorid*

V

Vs ratio (mito). ---------- *das Verhältnis vom Volumen der Mitochondrien zu deren Oberfläche*

VSM ---------- *Vena saphena Magna*

Vv ---------- *Volumendichte*

Vv(mf) ---------- *Volumen Myofibrillen*

Vv(mito) ---------- Volumen der Mitochondrien

Vv(Sp) ---------- *Volumen Sarkoplasma*

W

WHS ---------- *Wundheilungsstörung*

Z

Z- ----------*Abstand zwischen Testlinien*

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1. Phasen des Aktionpotenzials 14

Abbildung 2.Das Foto von ersten HLM 19

*Abbildung 3.. Die zelluläre Zielstruktur für den kardioplegischen Stillstand und ihr Einfluss auf das Aktionspotenzial mit Beispielen pharmakologischer Wirkstoffe. (David J. Chambers *, 2010) 29*

Abbildung 4. Ziele zur Erreichung eines depolarisierten und polarisierten Stillstands. (J.Bradic 2023) 31

Abbildung 6. Langendorff Apparatur, Labor AG Böning Frontansicht. 41

Abbildung 7. Protokoll der Versuche 43

Abbildung 8. Startseite, Stepanizer Software. 49

Abbildung 9. Markierung der Punkte in ECCP 50

Abbildung 10. Markierung der Zellstrukturen mit Punkten Cala 51

*Abbildung 11. LVDP (%) der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD 56*

*Abbildung 12. . Koronarfluss (%) der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD 57*

*Abbildung 13. Kontraktionsgeschwindigkeit der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD 58*

*Abbildung 14. Relaxationsgeschwindigkeit der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD 59*

*Abbildung 15. . Laktatproduktion (mmol/ml) der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD 60*

*Abbildung 16. Sauerstoffverbrauch MVO2 (%) der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD 61*

*Abbildung 17. Troponin I (%) der isolierten Herzen im Langendorff- Modell, P-WERTE FÜR DEN VERGLEICH: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. DIE WERTE SIND MITTELWERTE ± SD..... 62*

*Abbildung 18. . Zellulärer Ödemindex der isolierten Herzen im Langendorff- Modell, P-WERTE FÜR DEN VERGLEICH: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. DIE WERTE SIND MITTELWERTE ± SD 63*

*Abbildung 19. Volumen-Oberflächen-Verhältnis der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-WERTE FÜR DEN VERGLEICH: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. DIE WERTE SIND MITTELWERTE ± SD..... 64*

Abbildung 20. Übersicht repräsentativer Aufnahmen, Ultrastruktur von Kardiomyozyten, die mit zwei verschiedenen Kardioplegielösungen behandelt wurden. 65

***Tabelle 1**: Darstellung der absoluten Baselinwerte……56-57*

Einleitung

Elektrophysiologie des Herzens

Das Herz ist seit Jahren ein zentrales Symbol in vielen Kulturen. Oft wird es als Sitz der Seele oder als Quelle der Gefühle verstanden. Auch wenn die moderne Wissenschaft dieses Bild entzaubert hat: Das Herz ist und bleibt eines der faszinierendsten und komplexesten Organe des menschlichen Körpers. Es ist nicht nur der Motor unseres Kreislaufsystems, sondern auch der Schlüssel zu unserer Gesundheit und unserem Wohlbefinden. Ferner ist es heute unstrittig, dass das Herz das lebenswichtigste Organ unseres Körpers ist. Für den Kardiomyozyt ist es sehr wichtig, dass ein physiologischer Prozess, als *Aktionspotentiale* bezeichnet aufrechterhalten bleibt, um einen Prozess zu starten, der Erregungs-*Kontraktions-Kopplung* genannt wird. Zum Verständnis dieses sehr wichtigen Vorgangs müssen wir zunächst einen Blick auf die Strukturen der Herzzellen und die Veränderungen werfen, die für das Aktionspotenzial verantwortlich sind.

Die Oberflächenmembranen (oder Plasmamembranen) der Herzzellen sind von membranösen Kanalöffnungen (Quertubuli) durchquert, die mit extrazellulärer Flüssigkeit gefüllt sind. Diese Quertubuli werden als *T-Tubuli* bezeichnet und verbinden sich beim Durchqueren der Zellverzweigungen mit anderen transversalen Tubularkanälen. Die bilden ein retikuläres Netzwerk und kreisen die internen kontraktilen Strukturen (*Myofibrillen*) um. Die Herzmuskelzellen sind in der Lage, über die Zellmembran ein elektrisches Potential zu errichten. Die Erregbarkeit der Herzzellen beruht auf dieser Fähigkeit. Es handelt sich dabei um die selektive Transmission durch die Zellmembran für die einzelnen Ionen. Im Ruhezustand wird es als *Ruhepotential* bezeichnet. Es liegt bei ca. -90 mV (intrazellulär/extrazellulär) Wenn sich das Ruhepotenzial zu positiveren intrazellulären Werten verschiebt, spricht man von *Depolarisation*. Die Rückkehr in die Richtung des negativen intrazellulären Ausgangsniveaus von - 90 mV wird als *Repolarisation* bezeichnet. Das Ruhemembranpotential ist die Potentialdifferenz zwischen der Innen- und der Außenseite einer Zelle, wenn sie sich im Ruhezustand befindet. Diese Potentialdifferenz entsteht durch unterschiedliche Ionenkonzentrationen beiderseits der Zellmembran. Die Aufrechterhaltung der Konzentrationsunterschiede ist das Ergebnis von Energie verbrauchenden Transportprozessen[1].

Die etwa 4-5 nm dicke Phospholipid-Doppelschicht bildet die Membran jeder Körperzelle. [2]

Die Ionenkonzentration innerhalb und außerhalb der Zellmembran ist unterschiedlich, so dass die K-Ionenkonzentration innerhalb der Zelle höher ist als außerhalb, während die Na-Ionenkonzentration innerhalb der Zelle etwa 12-mal niedriger ist als außerhalb der Zelle. Wenn die Ionen in der Lage wären, frei zu diffundieren, könnte dieser Unterschied mit der Zeit ausgeglichen werden. Die Ionen können die Membran jedoch nur mithilfe von speziellen Transportmechanismen durchqueren. Auf diese Weise verhindert die Membran den freien Fluss der Ionen durch die Membran. Zwei Mechanismen sind dafür verantwortlich, dass das Ruhepotenzial aufrecht zu erhalten.

1) **Ionenpumpen-** Ihre Aufgabe ist es, mithilfe von ATP einen aktiven Ionentransport gegen den Konzentrationsgradienten zu gewährleisten, d. h. die Ionen zu transportieren.

2) **Ionenkanäle-** Ihre Aufgabe ist es, die leichte oder erzwungene Diffusion von Ionen zu ermöglichen.

Die hauptsächliche Ionenpumpe ist die Na^+- K^+ ATPase. Sie sorgt für den Transport von Na nach außen und von K nach innen durch die Membran im Verhältnis 2:3.

Der Aufbau und die Besonderheiten des Herzmuskels sorgen für einen physiologischen Erregungsablauf. Spezialisierte Zellen dienen der Erregungsbildung (Sinusknoten im Vorhof) und der Erregungsleitung (AV-Knoten und His'sches Bündel an der Grenze zu den Kammern, Kammerschenkel und Purkinje-Fasern in den Kammern)

An dieser Stelle wäre es sinnvoll eine Analyse der 4 verschiedenen Phasen des Aktionspotenzials durchführen, die im Folgenden dargestellt wird.

Bei der Depolarisation handelt es sich um die Anfangsphase des Aktionspotentials. Ausgehend von einem negativen Ruhepotential von - 90 mV wird dabei ein positives Spitzenpotential von + 30 mV erreicht. Es zeichnet sich durch eine erhöhte Permeabilität der Zellmembran für Na^+ -Ionen aus. Mit steigender Depolarisation stellt sich in Bezug auf die Na^+-Ionen schnell ein neues Gleichgewicht ein, sodass sich der Einstrom von Na verringert. Eine Eigenheit der Herzmuskelzelle ist jedoch, dass auf den anfänglichen schnellen Na^+ -Einstrom ein ebenfalls depolarisierender langsamer Ca^{2+} -Einstrom in das Zytosol folgt. Für die positive Plateau-Phase des Aktionspotentials von Herzmuskelzellen ist der verzögerte Einstrom von Ca-Ionen verantwortlich. Das Schließen der Ca-Kanäle, während die K-Kanäle noch Strom nach

außen leiten, bewirkt die Repolarisation (Phase 3) und die Rückkehr zum Ruhemembranpotential (Phase 4).
Der initiale Übergang vom Ruhemembranpotenzial zur Depolarisation (Phase 0) ist bei atrialen und ventrikulären Herzmuskelzellen extrem schnell. Es kann mit in Phase 0 geöffneter Na-Kanäle und entstandener Na-Ströme, mit großer Amplitude und kurzer Dauer erklärt werden. Durch die verlängerte Plateauphase beträgt die Aktionspotenzialdauer der Herzmuskelzelle 200 bis 400 ms. Es übertrifft damit die Aktionspotentiale von Skelettmuskel und Nervenzellen. [5]

Aus urheberrechtlichen Gründen wurde die Abbildung in der digitalen Version entfernt.

Abbildung 1. Phasen des Aktionpotenzials

Wie von Tortora GJ, Grabowski SR (eds) in Principles of Anatomy and Physiology beschrieben, beträgt das Ruhemembranpotenzial beträgt etwa -90mV (Phase 4). Die schnelle Depolarisation ist in erster Linie auf den spannungsabhängigen Na-Strom (Phase 0) zurückzuführen, der zu einer relativ scharfen Spitze (Phase 1) führt und bis zur Repolarisation (Phase 3) in das Plateau (Phase 2) übergeht. Außerdem werden in

Phase 2 spannungsabhängige langsame Ca^{2+} Kanäle geöffnet, während K^+ Kanäle noch geschlossen bleiben. Im Gegensatz dazu werden in Phase 3 K^+ Kanäle geöffnet und Ca^{2+} Kanäle geschlossen.

Die Systole, die sogenannte Erregungs-Kontraktions-Kopplung beginnt mit der Membran Depolarisation. Es werden zuerst spannungsabhängige Na^+ Kanäle geöffnet und daraufhin beginnt der Einstrom an Na^+ Ionen. Diese weitere Depolarisation hat die Öffnung von Ca-Kanälen des L-Typs (Langzeitöffnung) und den Einstrom von Kalzium in die Zelle zur Folge. Dadurch wird auch die Freisetzung von Kalzium aus Ca-Kanälen im sarkoplasmatischen Retikulum durch Ryanodin-Rezeptoren in den T-Tubuli ausgelöst. Dadurch wird das Plateau des kardialen Aktionspotenzials eingeleitet. Der Anstieg der intrazellulären Kalzium- Konzentration löst über die Ca-Kanäle eine zusätzliche Freisetzung von Kalzium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum aus. Die Bindung des Kalziums an das Troponin auf den dünnen Filamenten ist der Auslöser für die Bewegung des Tropomyosins. Der Crossbridge-Zyklus beginnt und erzeugt Herzmuskelzellspannung [7].

Die Relaxation von Herzmuskeln (Diastole) beginnt mit der Öffnung der K^+ Kanäle. Die Kalium- Ionen strömen aus der Zelle aus und mit Schließung der sarkolemmalen Ca-Kanäle beginnt sich die Zelle zu repolarisieren. Kalzium wird durch ATP-aktivierte Pumpproteine im sarkoplasmatischen Retikulum und im Sarkolemm aus dem Zytoplasma gepumpt. Über das Na/Ca-Austauschprotein wird auch Kalzium aus der Zelle ausgeschleust. Um dem dadurch verursachten Anstieg des intrazellulären Na entgegenzuwirken, pumpt die Na/K/ATP ase Kalium in die Zelle hinein und Na aus der Zelle heraus und trägt so zur Wiederherstellung des Ruhepotentials und des Ionenmilieus bei, das vor der Aktivierung der Zelle bestand.

Hervorzuheben ist, dass diese physiologischen Eigenschaften der Herzmuskelzellen in der Kardiochirurgie die Grundlage für die Entwicklung von Lösungen zur Kardioplegie waren. In den folgenden Abschnitten werden wir noch einmal auf dieses Thema zurückkommen. Die hierfür eingesetzten Kardioplegie- Lösungen sind meistens K-reich und Na-arm. Eine vorübergehende Depolarisation mit Inaktivierung des Na-Systems wird durch die hohe K-Konzentration verursacht. Außerdem stehen dem schnellen Na-System aufgrund des geringen Na-Ionen-Gehalts nicht genügend freie Ladungseinheiten zur Verfügung. Beide Mechanismen verhindern, dass um das

Aktionspotenzial auszulösen benötigte Na-Ionen die Zellmembran passieren und in die Zelle eindringen können. ((Berne RM, 1998)

Historische Entwicklung der Herzchirurgie

Seit der Antike gilt das Herz als, *noli me tangere (berühre mich nicht)* Deswegen wurde lange Zeit geglaubt, dass das Herz das letzte Organ des menschlichen Körpers ist, welches in die Hände eines Chirurgen fallen sollte.

Herzchirurgie ist ein junger Bereich in der Medizin. Historisch gesehen beginnt ihre Geschichte mit der ersten Naht von Herzverletzungen am Ende des neunzehnten Jahrhunderts. [6] Im Jahr 1868 hat Georg Fischer aus Hannover 452 Fälle von Herzverletzungen gesammelt und eine erste Statistik publiziert. Laut dieser wurden nur 15,9 % dieser Fälle geheilt. Natürlich wurden damals konservative Maßnahmen als Heilmethoden genutzt. [8]

Für einige Wissenschaftler*innen gilt Romero aus Barcelona als erster Herzchirurg, dessen seine erfolgreiche offene Drainageanlage im Perikard im Jahr 1815 dokumentiert wurde. Im Jahr 1831 führte Dominique Jean Larrey, ein Chirurg und Chef der napoleonischen Armeen, eine erfolgreiche Perikardpunktion bei einer Stichverletzung des Herzens durch. Der Patient verstarb nach 22 Tagen, aber Larrey hat seine Experimente an Leichen weitergeführt und neue Techniken für Pericardiotomy beschrieben. [9]

Im Jahr 1881 wurde von John Bingham Roberts in Brooklyn in Form eines Artikels vorgestellt, dass das Nähen von Wunden am Herzen möglich sein könnte. Ein Jahr später hat Block aus Danzig seine Experimente an Kaninchen Herzen beschrieben und zeigte zum ersten Mal, dass das Nähen von Herzwunden zu einer ähnlichen Heilung führen würde wie bei allen anderen genähten Wunden. Ähnliche Experimente wurden im Jahr 1895 von Simplicio Del Vecchio in Italien an Hundeherzen durchgeführt. Damals glaubten die berühmtesten und prominentesten Wissenschaftler, dass es unmöglich sei, eine Art von Operation am Herzen durchzuführen. Der Begründer der modernen Bauchchirurgie sowie Pionier der Kehlkopfchirurgie, der pathologischen Anatomie und der Bakteriologie Theodor Billroth, ein deutsch- österreichischer Mediziner, war Gegner des Nähens des Herzmuskels. Er verteidigte die Auffassung, dass ein Chirurg, der solche Behandlungsmaßnahmen ergreifen würde, den Respekt seiner Kollegen verlieren solle. [8] Allerdings verlief die Entwicklung nicht so extrem,

wie es angesichts der Vorgeschichte und des beschriebenen Umfeldes vielleicht zu erwarten gewesen wäre. Die weiteren Operationen, die uneingeschränkt als Pionierleistungen zu bezeichnen sind, stellten aus unterschiedlichen Gründen entweder Einzeleingriffe verschiedener Operateure dar oder waren auf kleine Serien begrenzt [10]. Der Norweger Axel Hermansen Cappelen (1858–1919) wagte am 4. September 1895 im Krankenhaus Rikshospitalet in Kristiania, dem heutigen Oslo, die erste Herznaht bei einem Menschen. Am ersten postoperativen Tag konnte der Patient bereits wieder essen. Nachdem jedoch Fieber aufgetreten war, verstarb er am Morgen des 7. September. Die Autopsie ergab, dass eine Mediastinitis die Ursache war. Es wurde außerdem festgestellt, dass die Ventrikelwand nicht vollständig durchdrungen und die Ursache der Butung in der Verletzung der Koronararterie lag.Der zweite Chirurg, der Herznähte durchführte, war Guido Farina (1868-1939). Er behandelte in Rom eine 7 mm große Stichwunde der linken Herzkammer. Die Wunde heilte ohne Komplikationen, es entwickelte sich jedoch eine schwere Bronchialpneumonie, und der Patient verstarb drei Tage später. Die Autopsie ergab eine perfekt verheilte Wunde. Farina bat die Justizbehörden, ihm das Herz für weitere Untersuchungen zu überlassen, was jedoch abgelehnt wurde. Seine Verärgerung darüber nannte er als Grund dafür, dass er damals nicht ausführlich über diesen interessanten Fall berichten wollte.
Die Geschichte wurde als Geburtsdatum der Herzchirurgie am 9. September 1896 geschrieben.
Der erste Herzchirurg, der die rechte Herzkammer von einem 22- jährigen Patienten zugenäht hat war Ludwig Rehn von Frankfurt am Main. Danach hat Ludwig Rehn in seinen Publikationen über die Operation berichtet, welche für diese Zeiten eine schwere Entscheidung gewesen ist, operieren ohne Information jeglicher Art über den Stichkanal vom Messer zu haben. Während dieses Eingriffs wurde eine ungefähr 1,5 cm lange Stichverletzung am rechten Ventrikel in der Diastole erfolgreich zugenäht. Informationen über die ersten Nähte am linken Ventrikel nach einer Dolch-Verletzung wurden von Antonio Parrozzani im Jahr 1897 in Rome veröffentlicht. Laut einer Publikation aus dem Jahr 2006 zweier Kollegen aus Berlin, V. Alexi- Meskishvili und W. Böttcher, wurden bis Ende des 19. Jahrhunderts 22 Berichte über Herzoperationen gefunden. 11 der betroffenen Wunden waren am linken Ventrikel und 9 am rechten. Es gilt heute ohne Zweifel als unumstritten, dass die

Rahmenbedingungen, unter denen diese Operationen durchgeführt wurden, sehr weit vom Ideal entfernt sind.
Mediane Sternotomie als Zugang zum Mediastinum und zum Herz wurde zunächst von Herbert Nelson Milton im Jahr 1897 vorgeschlagen.
An dieser Stelle möchte ich das Zitat von Leitz aufgreifen: Bis zum Beginn des Zweiten Weltkrieges war nur noch durch einzelne Persönlichkeiten, wie Ludwig Rehn, Volker Schmieden, Martin Kirschner und Ferdinand Sauerbruch ein Wissenstransfer aus Deutschland in europäische Länder und besonders auch in transatlantische Richtung zu beobachten. Letztlich „habe die deutsche Thoraxchirurgie durch den Zweiten Weltkrieg ihren finalen Todesstoß“ erhalten. [11]
Zwei Chirurgen stehen stellvertretend für die Geburt der modernen Herzchirurgie in Deutschland: Ernst Derra (1901–1979) und Rudolf Zenker (1903–1984) ab 1950. Bis dahin Im Jahre 1900 entdeckte Karl Landsteiner bereits das AB0-Blutgruppensystem, das als Grundlage für die perioperative Volumentherapie mit Bluttransfusion nach großem Blutverlust von Bedeutung war.
Im Jahr 1929 wurde von Flemming Penicillin entdeckt und von Florey, Heatley und Chains entsprechend klinisch angewendet. [12] Die preoperative Anwendung von Antibiotika hat die perioperative- Sterblichkeit bei dem Patienten deutlich gesenkt. Im Jahr 1918 hatte der erste Präsident der Fachgesellschaft AATS (*American Association for Thoracic Surgery)* Samuel Meltzer, bedeutsame Erkenntnisse veröffentlicht und die intratracheale Intubation als Standard für Allgemeinchirurgie und Thoraxchirurgie empfohlen.

Geschichtliche Aspekte der Myokardprotektion

Trotz aller Bemühungen schien etwas Wichtiges zu fehlen, das den Patienten das Leben kostete. Viele Patienten starben nach der Operation aus Gründen, die die Chirurgen damals nicht vollständig erklären konnten. Mit Beginn der 1950er-Jahre wurden erstmals operative Maßnahmen am geöffneten Herzen zur Korrektur von intrakardialer Herzfehlern durchgeführt. [13]
Lewis und Taufic aus Minneapolis sowie Swan aus Denver hatten 1952 bzw. 1953 Verfahren zur Behandlung angeborener Herzfehler und Klappenvitien während kurzer Unterbrechungen des Blutkreislaufes unter Hypothermiebedingungen entwickelt. Zum ersten Mal wurde einen Vorhofseptumdefekt unter direkter Sicht im Kreislaufstillstand

mithilfe der Oberflächenhypothermie am 09.02.1955 von Ernst Derra in Düsseldorf verschlossen. [14]
Schon Anfang der 1950er Jahre war für Bigelow klar, dass der Schaden für das Herz während des chirurgischen Eingriffs unbedingt minimiert werden sollte. Bigelow berichtete 1950 bereits über den gezielten Einsatz der Hypothermie zur Verlängerung der Ischämie-Dauer bei herzchirurgischen Eingriffen [15]
Natürlich waren die Operationen am offenen Herzen unter Hypothermie v. a. in der Anfangsphase eine große Herausforderung. Die Unterkühlungsanästhesie erlaubte einen nur sehr kurzen Kreislaufstillstand, sodass die Ischämietoleranz des Gehirns auf zehn Minuten begrenzt war. In dieser kurzen Zeit sollten die Operateure einen Zugang zum Herzen haben, das Herz öffnen, den Defekt finden und beseitigen. Die weiteren Absenkungen der Temperatur hatten die Ischämietoleranz erhöht aber zum gefürchteten Einsetzen von Kammerflimmern geführt. [16] Parallel zu den ersten herzchirurgischen Operationen mithilfe der Oberflächenhypothermie wurde auch in Deutschland die Entwicklung der HLM weitervorangetrieben. [11]

Aus urheberrechtlichen Gründen wurde die Abbildung in der digitalen Version entfernt.

Abbildung 2.Das Foto von ersten HLM

Im Jahr 1953 wurde die HLM von John Heysham Gibbon und seiner Frau Mary entwickelt und hat die vom Herzschlag und dem Gasaustausch der Lungen unabhängige Perfusion des menschlichen Körpers ermöglicht. Diese Art von EKZ (extrakorporale Zirkulation) half, einen aus dem Kreislauf ausgeschalteten Herz Vorhofseptumdefekt zu schließen. Diesen Erfolg konnte aber John Heysham Gibbon nicht wiederholen. Die Verwendung der HLM wurde von John Webster Kirklin an der Mayo Klinik weiterentwickelt, wodurch sie routinemäßig bei Herzoperationen verwendet werden konnte. Am 19.02.1958 operierte Rudolf Zenker schließlich erstmals in Deutschland, in Marburg erfolgreich einen Patienten mit einem Vorhofseptumdefekt und einer Pulmonalstenose unter Einsatz der EKZ mithilfe einer HLM.
Voraussetzungen für die HLM sind ein ausreichendes Herzzeitvolumen, eine optimale Sauerstoffsättigung und keine größeren Schädigungen des Blutes. Rudolf Zenker wurde zusammen mit Kirklin nach zwei Jahren experimenteller Untersuchungen bei einem mittleren Blutdruck von mindestens 70 mm Hg, der durch die HLM aufrechterhalten wurde, von einer adäquaten Perfusion überzeugt. [17]
Er hatte in seiner Publikation über zwei Fälle berichtet, wovon einer erfolgreich war. Mit der Verwendung des EKZ bei Herzoperationen wurde das Problem, den Kreislauf zum Gehirn und den anderen Organen aufrechtzuerhalten, scheinbar gelöst.
Der Wunsch jedes Herzchirurgen ist ein technisch perfektes Ergebniss, das in einem blutleeren und ruhiggestellten Operationsgebiet erreicht werden kann [18].
Damals war vielen Herzchirurgen nicht bekannt, dass der Grund für den Mißerfolg und die postoperative Sterblichkeit der Patienten durch inadäquate intraoperative Myocardprotektionen bedingt sein konnte. [19]
Außerdem erfuhren die Chirurgen bald, dass das Öffnen einer Kammer in einem Schlagenden Herzen schnell zu einer tödlichen Luftembolie führt, was nur durch einen Herzstillstand erfolgreich verhindert werden kann. Ein weiteres Problem für die Chirurgen war die schlechte Sicht im blutgefüllten Operationsfeld, was diese langwierigen Operationen noch schwieriger machte. Daher kommt die Myokardprotektion zu Hilfe, denn sie übernimmt die wichtigste Aufgabe. Es müssen optimale Bedingungen gewährleisten werden, ohne eine postoperative Beeinträchtigung der Myokardfunktion zu verursachen. Das wichtigste Ziel der Myokardprotektion muss dabei sein, irreversible Schäden am Myokard zu vermeiden und eine möglichst gute

initiale Myokardfunktion nach Beendigung des kardioplegischen Stillstands zu erzielen. [18]

Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Maßnahmen zur Myokardprotektion entwickelt und getestet.

Bis in die frühen 1950er Jahre wurden intrakardiale Reparaturen ohne myokardprotektive Maßnahmen durch Klemmung der Aorta in Kombination mit Hypothermie durchgeführt. Durch das Abklemmen der Aorta konnte damals ein Herzstillstand erzielt werden. Zur Reperfusion öffneten sie die Aortenklemme, was jedoch manchmal irreversible schwere Myokardschäden verursachte, das sogenannte `*stone heart*`.[20]

Verschiedene Arbeitsgruppen hatten medikamentöse Alternativen für einen elektiven Herzstillstand gesucht. Cordell berichtete in seiner Publikation, dass in den 50er Jahren in Durham (eine Stadt im Nordosten Englands), eine kalium und magnesiumreiche Lösung entwickelt wurde, die mit Neostigmin angereichert war, wodurch erstmals der Begriff der `*Kardioplegie*`genutzt wurde. [19] Im Jahr 1955 berichteten Melrose et al. von einem schnelleren chemischen Herzstillstand durch globale myokardiale Ischämie mit Kaliumcitrat in der Konzentration von 25 bis 100 mg [21].

Leider hatte die hohe Konzentration von Kaliumzitrat lokale Nekrosen im Myokard verursacht, weshalb das Vertrauen der Kollegen für ein Jahrzehnt verloren ging für Kaliumzitrat.. Shumway und seine Arbeitsgruppe aus California hatten die lokale Hypothermie gleichzeitig mit der Abklemmung der Aorta und einer kaltem Kochsalzlösung Zirkulation durch den Herzbeutel als Myokardprotektion genutzt. [19]

Von 1961 bis 1972 wurden in deutschen Herzzentren intensive Studien durchgeführt, Holscher und seine Mitarbeiter, Bretschneider sowie Kirsch und Kollegen arbeiteten mit verschiedenen chemischen Zusätzen zu kardioplegischen Lösungen, um den Herzstillstand sicherer zu machen. Die daraus resultierende Multikomponenten-Kardioplegielösung, die sogenannte Bretschneider-Lösung, wurde in vielen Zentren zum Standard. Diese Lösung (unter dem Markennamen Custodiol) gehört zu den intrazelülären Lösungen und wurde allmählich bei Herztransplantationen eingesetzt.

Die HTK-Kardioplegielösung (Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Kardioplegielösung) ist eine Art der "intrazellulären" Kardioplegielösung; diese Bezeichnung bezieht sich auf die Konzentration von Na+ in der Lösung und im Zytoplasma des Myokards. Ihr Ziel ist es, das Herz in der Diastole zu stoppen. Dies geschieht durch Verarmung des

extrazellulären Raums an Na+. Dies führt zu einer Hyperpolarisation der Membran und hemmt die schnelle Depolarisationsphase. Mit anderen Worten: Die HTK führt zu einem Entzug von Na+-Ionen aus den Kardiomyozyten und damit zu einem Ausbleiben des Austausches über die Ionenkanäle und zu einem Ausbleiben der Bildung eines Aktionspotentials. Dieser Mechanismus zur Herbeiführung des Herzstillstands unterscheidet sich von dem Verfahren, das bei der Anwendung von "*extrazellulären"* Kardioplegien mit einer hohen Menge an Kaliumchlorid zur Herbeiführung des Herzstillstands durch Membrandepolarisation verwendet wird. [22]
Es gibt auch Berichte über einen Zusammenhang zwischen sekundärer systemischer Vasodilatation (durch hyperkaliämische Substanzen während eines kardiopulmonalen Bypass) und der Anwendung von Vasopressoren mit nachfolgenden unerwünschten Wirkungen. Bei der Bretschneider-Kardioplegie wird zusätzlich Histidin als Puffer eingesetzt, welches die Zellintegrität während der anaeroben Glykolyse verbessert und als Radikalfänger wirkt. Mannitol (ein osmotisches Diuretikum) wird zusammen mit HTK in der Zusammensetzung eingesetzt. [23]
Im Jahr 1973 führten Forscher in New York eine Reihe von Experimenten durch, in denen sie die Hypothese aufstellten, dass eine chemische Substanz in Kombination mit Hypothermie eine schnelle und sichere Methode zur Herbeiführung eines elektiven Herzstillstands sein könne. Die Ergebnisse dieses Experiments wurden in einer Publikation beschrieben. Darin wurden die funktionellen, metabolischen und morphologischen Auswirkungen der kaliuminduzierten Kardioplegie erläutert. Es war ein langwieriger Prozess, die Chirurgen davon zu überzeugen, dass Kalium ein Mittel ist, um einen Herzstillstand herbeizuführen, insbesondere zu einer Zeit, als die kontinuierliche Koronarperfusion und die Anwendung von Kammerflimmern hoch im Kurs standen. Die Erkenntnis hat sich jedoch allmählich etabliert, dass die Kaliumkardioplegie sowohl wirksam als auch sicher ist. [24]
Ulrich Kirsch entwickelte die als Hamburg-Eppendorf-Kardioplegie benannte Lösung. Magnesiumionen wirken wie ein Bestandteil der kardioplegischen Methode. Procain hat eine stabilisierende Wirkung auf die Membran und blockiert die Leitung eines axialen Ionenstroms. Die intrazelluläre physiologische Natriumspiegel beeinflusst die Funktion der Kalium-Natrium-Pumpe kardioplegisch [25]. Im Jahre 1976 wurden die kardioplegischen Lösungen von Hearse und seinen Kollegen beschrieben, die aus der Kirsch-Lösung weiterentwickelt wurde. Hearse traf Mark Braimbridge, einen Pionier

der modernen Herzchirurgie, und benannte seine neue Lösung nach dem Krankenhaus St. Thomas, in dem sie zusammenarbeiteten. [26] Im Jahr 1978 berichteten Gerald Buckberg und seine Gruppe in Los Angeles über eine Verringerung der postischämischen Schädigung des Myokards durch die Veränderung des Kalzium- und Kaliumgehalts, des pH-Werts und der Osmolalität in einer kardioplegischen Blutmischung. Ihre Studien, die die Bedeutung des Blutes als kardioplegisches Vehikel unterstrichen, zeigten wichtige myokarderhaltende Maßnahmen, einschließlich der Zugabe von Glutamat, Aspartat und anderen myokardanreichernden Zusätzen. Im Jahr 1995 veröffentlichten Calafiore et al. das Verfahren zur myokardialen Protektion durch antegrade, intermittierende, warme Blut-Kardioplegie auf der Basis von Kalium.

Ischämie-Reperfusionsschaden

Die Zahl der Patienten, die sich einer chirurgischen Behandlung unterziehen müssen, steigt trotz der jüngsten Fortschritte in der medizinischen Behandlung von Herzerkrankungen, insbesondere bei älteren Menschen. Dadurch wird sich die Lebenserwartung in der Zukunft verlängern. Das heißt die Prävelenz altersbedingter Krankheiten wie z. B. Kardiomyopathien wird auch zunehmen. Herzchirurgische Eingriffe gehen mit einer Reihe von Stressfaktoren für das Myokard einher, wie Ischämie-Reperfusionschaden, Herzstillstand, oxidative Substanzen, Entzündungsmediatoren und chirurgisches Trauma, die den Mechanismus des myokardialen Zelltods auslösen können. [27] Zahlreiche Studien und Beobachtungen haben gezeigt, dass die endogenen Schutzmechanismen der Kardiomyozyten in der alternden Bevölkerung als Reaktion auf oxidative Stressreize verringert werden, was auf eine Verbindung zwischen der adaptiven Autophagie-Dysregulation der Zellen, dem Verlust der Homöostase der Kardiomyozyten und der postoperativen myokardialen Dysfunktion hindeutet. Das Wissen um die Beeinträchtigung der adaptiven Autophagie der Kardiomyozyten bei älteren, adipösen Patienten, Patienten mit metabolischem Syndrom und Patienten mit niedriger linksventrikulärer Ejektionsfraktion könnte darauf hinweisen, dass diese Personen nur eine begrenzte Toleranz gegenüber myokardialen Reperfusionsschäden besitzen, die bei herzchirurgischen Eingriffen auftreten. [28] Die Kenntnis der grundlegenden physiologischen und biochemischen Zusammenhänge, die der Ischämie-Reperfusionsschädigung zugrunde liegen, ist für die rationale Diskussion und Verbesserung aktueller Strategien zum Myokardschutz entscheidend. Deshalb ist es

wichtig, einen Blick auf die Veränderungen auf molekularer Ebene zu werfen, um das Hauptproblem zu verstehen. Da es ohne Ischämie keine Reperfusionsschäden gibt, muss das Hauptaugenmerk auf der Reduktion der Ischämie liegen. Das Thema ist in der modernen Transplantologie auch aktuell [29].

In den 1960er und 1970er Jahren wurden schon über die durch Ischämie verursachte Schädigung berichtet, welche nach Reperfusion des ischämischen Herzgewebes verschlimmert wurde. [30] Ein Reperfusionsschaden wird als eine Schädigung des Myokards definiert, die nur bei Reperfusion (Wiederherstellung des Blutflusses) auftritt und fasst die Veränderungen zusammen, die bereits in der Phase der Ischämie begonnen haben. Wie schon J. Vaage und seine Kollegen festgestellten, existiert Ischämie nicht ohne Reperfusionsschäden. [31]

Eine Anfangswirkung der Ischämie ist die Erschöpfung der myocardialen ATP. Der Grund für diese Erschöpfung ist der Mangel an molekularem Sauerstoff. Infolgedessen wird die Atmungskette von der oxidativen Phosphorylierung entkoppelt und die ATP-Synthese gehemmt. Gleichzeitig steigt der Energieverbrauch zur Aufrechterhaltung der mechanischen Funktion der Myokardzellen und der Membranhomöostase. Es ist zu beachten, dass die gesamte metabolische und mechanische Arbeit in den Herzzellen durch ATP geleistet wird und dass mit der Schädigung der ATP-Synthese Veränderungen ausgelöst werden, die zum Untergang der Herzzelle führen können. Durch die Ischämie ist nun das Gleichgewicht zwischen der Synthese und der Verwendung von ATP gestört, sodass anstatt dessen ADP und AMP in der Zelle gespeichert werden. [32] Außerdem sind die Rezeptoren der Herzzellen, die als Membranstabilitäts- und Ionenschleusen fungieren, ATP-abhängig, so dass die Schleusenfunktion bei ATP-Mangel beeinträchtigt ist und die Zellen zur Ionenüberladung neigen. Die intrazelluläre Homöostase ist vollständig gestört, und selbst das sarkoplasmatische Retikulum, das nur eine begrenzte Kapazität hat, Ca-Ionen zu akkumulieren, kann diese nicht zurückhalten, wodurch es zu einem Ca-Überschuss in der Zelle kommt. [33]

Veränderungen zum Zeitpunkt der Reperfusion können mit der Entzündungsreaktion verglichen werden. Weiterhin kommt es durch die Störung des Ionenhaushaltes in der Zelle zu molekularen und biochemischen Veränderungen im Endothel, wodurch vermehrt freie Radikale gebildet und Mediatoren freigesetzt werden, die nicht nur lokal, sondern auch in anderen Organen Entzündungen hervorrufen (im Sinne einer

systemischen Entzündungsreaktion - SIRS). Das Endothel besitzt mehrere Leukozyten-Adhäsionsmoleküle. Die Aktivierung von Endothelzellen durch Entzündungsmediatoren und Ischämie-Reperfusion führt zur Expression des Granulatmembranproteins-140 (GMP-140) auf der Endotheloberfläche, was die Neutrophilenadhäsion unabhängig von der Neutrophilenaktivierung induziert. Andere Moleküle, die die Leukozyten-Endothel-Interaktion beeinflussen, sind das endotheliale Leukozyten-Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1) und das interzelluläre Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1). ELAM-1 und ICAM-1 sind im ruhenden Endothel nur in äußerst geringen Mengen vorhanden, aber Synthese und Expression sind nach Stimulation gesteigert [34] Außerdem wurde gezeigt, dass Anoxie-Reoxygenierung die Haftung von Neutrophilen an kultivierten Endothelzellen durch einen ICAM-1-abhängigen Mechanismus induziert, der durch den plättchenaktivierendene Faktoren und Wasserstoffperoxid vermittelt wird. [35]

Klinisch erkennen praktizierende Herzchirurgen und medizinisches Personal, das postoperative Patienten betreut, Ischämie-Reperfusionschaden an verschiedenen Arrhythmien, systolische und diastolische Dysfunktion (als *myokardial stunning* bezeichnet), niedrigen Rückfluss und mikrozirkuläre Störungen, die in allen Organsystemen auftreten können [36]. Es ist anzumerken, dass die moderne Herzchirurgie mit verbesserter HLM und myokardioprotektiver Kardioplegie im Einsatz ist. Trotz aller Vorsichtsmaßnahmen kann es durch eine gestörte Homeostase der Kardiomyozyten zu ischämischen Reperfusionsschädigungen kommen. Vor allem stark hypertrophierte Herzen haben eine eingeschränkte metabolische und kontraktile Reserve, was sie anfälliger für Schäden durch Ischämie und Reperfusion macht. [3] Die molekularen und zellulären Vorgänge nach einer Ischämie sind hochkomplex und stellen ein Zusammentreffen verschiedener biologischer Prozese dar. In zahlreichen Studien wurde gezeigt, dass die Homöostase von Herzmuskelzellen nach herzchirurgischen Eingriffen durch eine Abfolge von molekular miteinander verknüpften und sich überlappenden Mechanismen in Form von Apoptose, Autophagie und Nekrose erfolgt, die durch eine Vielzahl induzierter Entzündungsmediatoren und genassoziierter Signalwege aktiviert werden. [4] Ferner führen HLM und ein kardioplegischer Stillstand zu einer Reihe von Veränderungen in den molekularen Signalübertragungswegen zum Herzmuskel, einschließlich der Hochregulation von Entzündungsaktivatoren, der Aktivierung von Apoptose- und Stressgenen und der

Herunterregulation von Immunglobulingenen, die die postoperative Homöostase der Herzmuskelzellen und das Outcome herzchirurgischer Patienten beeinflussen. [39]

Myokardprotektion

Um ein blutfreies Operationsfeld zu gewährleisten, befinden sich das Herz des Patienten idealerweise in einem entspannten und ruhigen Zustand bei herzchirurgischen Eingriffen. Um dies zu erreichen, wird häufig eine globale Ischämie des Herzens herbeigeführt, indem die Aorta abgeklemmt wird, um den Blutfluss zu den Koronararterien zu unterbrechen, während der systemische Blutfluss auf eine HLM umgeleitet wird. Obwohl dies für den Chirurgen unkompliziert ist, ist die globale Ischämie des Herzens schädlich, und es wurde viel Forschung betrieben, um die schädlichen Auswirkungen der chirurgisch induzierten Ischämie zu reduzieren. Mit zunehmender Dauer der Ischämie nehmen die zellulären und molekularen Veränderungen zu und führen ohne rechtzeitige Reperfusion schließlich zum Zelltod. Über kurze Zeiträume (Sekunden bis wenige Minuten) der Ischämie treten reversible Veränderungen auf, welche jedoch auch von der Reperfusion profitieren und zu einer vollständigen (wenn auch möglicherweise verlängerten) Erholung führen können. Bei einer längeren Ischämie-Dauer kann es jedoch zu einem unbekannten Zeitpunkt zu einer irreversiblen Schädigung kommen, welche von der Reperfusion nicht mehr behoben werden kann. Stattdessen kann ein "*Reperfusionsschaden*" auftreten, der den Ischämie schaden sogar noch verstärken kann. Während einer Herzoperation ist es von großer Bedeutung, kardioprotektive Maßnahmen zu treffen, um die ischämische Schädigung zu minimieren, um die Dauer der reversiblen Schädigung zu verlängern und das Auftreten einer irreversiblen Schädigung so lange wie möglich hinauszuzögern. [36]
Im Laufe der Zeit wurden diese Methoden in Bezug auf Zusammensetzung, Dosierung, Temperatur und den geeigneten Verabreichungsweg perfektioniert; heute können Chirurgen die optimale kardioprotektive Strategie für jede Pathologie verwenden [37].
In moderner Herzchirurgie zuständige Ärzte müssen in Bezug auf die Operationstechniken und -Fertigkeiten berücksichtigen, dass eine Standardisierung der Kardioprotektionsverfahren in den verschiedenen Zentren fehlt. Dies ist noch wichtiger als die natürlichen Unterschiede zwischen den Patienten (d. h. Komorbiditäten, biologisches Alter, ethnische Zugehörigkeit). So ergeben sich selbst bei sorgfältiger

Randomisierung aufgrund einer Vielzahl von Störfaktoren unterschiedliche Ergebnisse aus bestimmten Diskursen. [38]
Jene und viele andere Ursachen erfordern die Durchführung zahlreicher Experimente, um die ideale Kardioplegie- Lösung zu finden. Bei kardioplegischen Lösungen handelt es sich grundlegend um kardioprotektive pharmakologische Wirkstoffe, die eingesetzt werden, um zwei sekundäre Bedingungen für die Herzchirurgie zu erreichen: den elektromechanischen Stillstand und die Kardioprotektion. [44]
Einige Medikamente können einen Herzstillstand auszulösen. Eine optimale Kardioplegie-Lösung sollte jedoch die folgenden vier Kriterien aufweisen:
I. Rasche und wirksame Induktion der diastolischen Relaxation und zur Minimierung des zellulären ATP-Verbrauchs.
II. Myokardprotektion zur Verzögerung irreversibler Schädigung durch globale Ischämie und zur Minimierung von Reperfusionsschäden.
III. Reversibilität der kardioplegischen Effekte: schnelle Wiederherstellung der Herzfunktion nach koronarer Perfusion.
IV. Vermeidung systemischer Nebenwirkungen durch kurze Halbwertszeiten der pharmakologischen Wirkstoffe. [36]

Funktionsprinzipien der Myokardprotektion

Das Thema der Myokardprotektion hat auch mehr als 50 Jahre nach der Erstapplikation einer kardioplegischen Lösung durch Melrose et al. (1955) nicht an Aktualität verloren. Um verstehen zu können, wie die Kardioplegie wirkt, muss zunächst die normale Physiologie berücksichtigt werden. In Abbildung 3 wird die zelluläre Zielstruktur für den kardioplegischen Stillstand und ihr Einfluss auf das Aktionspotenzial dargestellt. Das Ruhepotential der Membran (Em) wird durch eine selektive Permeabilitätsverteilung der Ionen in der Membran erhalten, hauptsächlich durch den Kaliumgradienten. Im Myozyten Em liegt bei etwa 85mV und damit in der unmittelbaren Nähe des Kalium-Gleichgewichtspotenzials (EK). Bei Erregung, sei es durch äußere Stimulation (benachbarte Zellen, äußere Stimulation oder mechanische Erregung) oder durch spontane Depolarisation über die inneren Schrittmacherzellen (Purkinje-Zellen), kommt es zu einer schnellen Depolarisation des Membranpotentials, wodurch das Aktionspotenzial ausgelöst wird. Dieses Ergebnis ist auf eine Reihe von

Ionenströmen zurückzuführen, die durch die Aktivierung verschiedener Ionenkanäle und -pumpen in der Membran erzeugt werden. Dazu gehören insbesondere der schnelle Natriumkanal (I_{Na}), der L-Typ Kalziumkanal ($I_{Ca,\ L}$) und verschiedene Kaliumkanäle. Alle diese Kanäle sind spannungsgesteuert. Sie sind von besonderem Interesse, da sie pharmakologisch beeinflusst werden können, um einen Herzstillstand auszulösen. Bei der Entstehung des Aktionspotenzials durch die Stimulation der Zelle wird eine schnelle Depolarisation des Membranpotenzials (auf ca. +20 mV) durch die Öffnung der Natriumkanäle ausgelöst, und zwar durch die Öffnung der Natriumkanäle. (Lang, 2005) Bei einer Depolarisation des Membranpotentials auf etwa "40 bis "35 mV werden die Kalziumkanäle vom L-Typ aktiviert, so dass Kalzium in die Zelle einströmen kann, wodurch das depolarisierte Membranpotential während der Plateauphase des Aktionspotentials aufrechterhalten wird. Während der Plateauphase des Aktionspotentials ist auch die Durchlässigkeit der Membran für Kalium nach außen vermindert, jedoch ist durch die Aktivierung der Kaliumkanäle ist ein ausreichender Kaliumstrom nach außen zum Ausgleich des Natrium- und Kalziumeinstroms vorhanden. Durch den leichten Anstieg des intrazellulären Kalziumspiegels während der Plateauphase, der durch die Aktivierung der Kalziumkanäle vom Typ L verursacht wird, werden intrazelluläre Kalziumkanäle (oder Kalziumfreisetzungskanäle) aktiviert. Einige intrazelluläre Rezeptoren werden als Ryanodinrezeptoren (RyR) bezeichnet. Dazu gehören komplexe Strukturen des sarkoplasmatischen Retikulums (SR). Die Aktivierung des RyR führt zu einer erheblichen Freisetzung von Kalzium aus den Kalziumspeichern des SR in das Cytosol. Diese steigt typischerweise von ca. 200 nmol/L auf ca. 1000 nmol/L an und bewirkt eine Kontraktion der Myofilamente als Reaktion auf den Erregungsreiz. Die zytoplasmatische Kalziumfreisetzung durch das sogenannte Kalziuminduzierte Kalziumfreisetzungssystem (CICR) führt zu einem Anstieg der zytoplasmatischen Kalziukonzentration, wobei die L-Typ Kalziumkanäle durch die depolarisierten Membranpotentiale und den schnellen Anstieg der zytoplasmatischen Kalziumkonzentration inaktiviert werden. Das Membranpotential wird durch Aktivierung verschiedener Kaliumkanäle repolarisiert und kehrt zum Ruhewert zurück. [78]

Aus urheberrechtlichen Gründen wurde die Abbildung in der digitalen Version entfernt.

*Abbildung 3.. Die zelluläre Zielstruktur für den kardioplegischen Stillstand und ihr Einfluss auf das Aktionspotenzial mit Beispielen pharmakologischer Wirkstoffe. (David J. Chambers *, 2010)*

Derzeit sind verschiedenen Funktionsprinzipien zur Induktion von Herzstillstand bei Wissenschaftlern und anderen Forschenden bekannt. Die Wichtigsten sind im Folgenden aufgeführt, nachdem sie im Jahr 2020 aktualisiert und veröffentlicht wurden:
– Myokardstillstand durch Erhöhung des extrazellulären Kaliums und Entzug von intrazellulärem Kalzium
– intrazellulärer Entzug von Natrium im Myokard
– Erhöhung des extrazellulären Magnesiums
– Infusion von Anästhetika
– Hyperpolarisation

Kardioplegie- Optionen

Kardioplegische Lösungen werden in Abhängigkeit von ihrer Elektrolyt-zusammensetzung als intrazelluläre oder extrazelluläre Kardioplegie-Lösung eingeteilt. [72] Die intrazelluläre Funktionsweise besagt, dass der Gehalt an Na+ außerhalb der

Zelle auf den intrazellulären Na+-Gehalt reduziert wird. Dadurch wird keine Erregung ausgelöst. Das extrazelluläre Funktionsprinzip hingegen beruht darauf, dass eine Erhöhung der Konzentration von Kaliumionen zu einer dauerhaften Depolarisation der Zellmembran führt. Nicht nur in ihrer Zusammensetzung, sondern auch in der Art ihrer Applikation unterscheiden sich die Kardioplegien. In der Regel werden sie antegrad verabreicht. Die Verabreichung kann sowohl über die Aortenwurzel oder direkt in die Ostien als auch retrograd über den Koronarsinus oder kombiniert erfolgen. Die Applikationstemperatur sowie die Verabreichungsform sollten den individuellen Erfordernissen angepasst werden. Die Verabreichung in Einzeldosen (intermittierend oder kontinuierlich) variiert bei den verschiedenen Kardioplegieverfahren. Durch die Kombination der verschiedenen Möglichkeiten kann die myokardialen Protektion gesichert werden. Die Anwendung und Mischung sollten je nach normothermen-, lauwarmen („tepid“) oder hypothermen Temperaturen angepasst werden. [77]
Der depolarisierte Herzstillstand, induziert durch hyperkaliämische Kardioplegie (mäßig erhöhte extrazelluläre Kaliumkonzentration, typischerweise im Bereich von 15-40 mmol/L), ist der Goldstandard für einen elektiven temporären Herzstillstand in der Herzchirurgie. Diese Technik hat jedoch nachteilige Auswirkungen auf das Ionengleichgewicht, führt auch zu einem erhöhten Energieverbrauch und einer Schädigung durch Ischämie und Reperfusion.
Ein Anstieg des extrazellulären Kaliums auf etwa 10 mmolL verschiebt das Ruhemembranpotential der Myozyten von -85 mV auf -65 mV. Bei diesem Wert wird der spannungsabhängige Natriumkanal deaktiviert und damit die Leitung des myokardialen Aktionspotenzials blockiert, was zu einem „depolarisierten Stillstand“ führt. Ein weiterer Anstieg des extrazellulären Kaliums führt zu einer weiteren Depolarisation des Membranpotentials. Wenn das Ruhemembranpotential ca. -40 mV erreicht (bei einem extrazellulären Kaliumgehalt von ca. 30 mmolL), wird der L-Typ Kalziumkanal aktiviert und führt zu einem Kalziumeinstrom in den Myozyten und fördert die Kalziumüberladung. Die hyperkaliämische Kardioplegie ist nach wie vor die am weitesten verbreitete Technik, allerdings gibt es durchaus auch einige zu berücksichtigende Nachteile, was es nicht in allen Fällen zur optimalen Schutzmaßnahme macht.

Das hat die Forscher dazu angeregt, nach weiteren Strategien zum Schutz des Herzmuskels zu suchen. In diesem Zuge wurde Hoffnung auf die Hyperpolarisation als potenziell vielversprechende Alternative zur depolarisierten Kardioplegie gesetzt.

Aus urheberrechtlichen Gründen wurde die Abbildung in der digitalen Version entfernt.

Abbildung 4. Ziele zur Erreichung eines depolarisierten und polarisierten Stillstands. [77]

Die Strategie des „polarisierten Arrests“ basiert auf dem Einsatz pharmakologischer Wirkstoffe, die die Polarität der Membran in der Nähe des Ruhepotentials hält. Diese Wirkstoffe verringern den Energieverbrauch und den Stoffwechselbedarf des Herzens, da die Kalziumkanäle bei diesen Werten der Membranpolarität nicht aktiviert werden. Die am häufigsten verwendeten polarisierten Wirkstoffe sind Na+-Kanalblocker, ATP-sensitive K+ (K-ATP) Kanalöffner, Kalziumantagonisten und Esmolol, Na+-Kanalblocker, wie z. B. Lidocain, Procain und Tetrodotoxin (TTX). Sie blockieren die spannungsabhängigen schnellen Natriumkanäle, wodurch die 0-Phase verhindert wird, d. h. die schnelle Depolarisation im Herzzyklus. Die Aktivierung der K-ATP-Kanäle durch Nicorandil, Diazoxid und Adenosin bei verminderter Blut- und Sauerstoffversorgung des Herzens führt zu einer Verkürzung der Dauer des Aktionspotenzials. Dadurch werden die schädlichen Auswirkungen der Ischämie auf das Myokard verringert. Eine Verkürzung der Dauer des Aktionspotenzials könnte den Zufluss von Ca2+ über L-Typ-Kanäle

verringern und aus dem sarkoplasmatischen Retikulum freisetzen, was die kardiale Kontraktilität stark beeinflusst.
Esmolol könnte sich als eine klinisch sinnvolle Alternative zur Kardioplegie darstellen. Ein Nachteil der in den Studien beschriebenen Anwendung von Esmolol ist, dass es keinen Herzstillstand (HF = 30 /min) herbeiführen und somit die Sicht auf das Operationsfeld durch den kontinuierlichen Blutfluss beeinträchtigt wird.
Die rasche Hydrolyse von Esmolol durch die Esterasen der roten Blutkörperchen wird jede negative inotrope Wirkung des zirkulierenden Esmolols, die zum Zeitpunkt der Reperfusion und der Beendigung des kardiopulmonalen Bypasses bestehen bleiben könnte, in kurzer Zeit. Des Weiteren wird Esmolol durch die roten Blutkörperchen metabolisiert, was bedeutet, dass seine Clearance- im Gegensatz zu vielen anderen Arzneimitteln- unabhängig von der Funktion der Nieren oder der Leber ist. Dies ist besonders relevant, da diese Organsysteme bei Patienten nach Herzoperationen beeinträchtigt sein können. Diese einzigartige Eigenschaft von Esmolol könnte daher einen zusätzlichen therapeutischen Vorteil darstellen. Beim normothermen Menschen wurde eine Eliminationshalbwertszeit von 9 Minuten beschrieben. Die Gesamtclearance von Esmolol wurde mit 285 ml/min/kg gemessen, was auf ein signifikant nicht-hepatische Clearance hinweist. J.A. Melendez und seine Kollegen haben bereits am Ende des letzten Jahrhunderts bewiesen, dass Hypothermie Esmololhydrolyse im Vollblut signifikant verringert. Die beobachteten Veränderungen entsprechen ungefähr einer 50-prozentigen Abnahme der enzymatischen Aktivität die mit einem Temperaturabfall von 10 ^{0}C einhergeht. Die Autoren vermuteten jedoch, dass der Metabolismus von Esmolol nach einem hypothermischen Herzstillstand aufgrund der verminderten Aktivität der roten Blutkörperchen verlangsamt ist, und in diesem Fall während der gesamten Bypassphase hohe Esmololspiegel aufrechterhalten werden könnten, was möglicherweise den Schutz vor ischämischem Myokardschaden verbessert. [39]
Die Stoffwechselrate der Esteraseaktivität ist bei Ratten deutlich höher als beim Menschen. Dies deutet darauf hin, dass das Intervall zwischen den intermittierenden Infusionen in einer klinischen Situation verlängert werden könnte. [40] Ein weiterer potenzieller Vorteil von Esmolol liegt in seiner Wirkung als Kalzium- und Natriumblocker, was vermutlich einen Stillstand induziert, während das Membranpotential erhalten bleibt. [41]

Es ist bekannt, dass ß-Blocker einen negativen inotropen Effekt haben, möglicherweise weil sie intrazelluläres Natrium reduzieren und dadurch den Kalziumausstrom aus der Zelle durch Na^{+}/Ca^{2+}-Austausch erhöhen. Dies würde dazu führen, dass weniger freisetzbares Ca^{2+} im SR gespeichert wird. Darüber hinaus haben zahlreiche Studien gezeigt, dass Esmolol-Konzentrationen von 1 mmol/l und mehr die ventrikuläre Kontraktilität stoppen können, weil in dieser Dosierung L Typ Ca2+-Kanäle blockiert werden und der Kalziumtransport auf der Ebene einzelner Kardiomyozyten gehemmt wird. Zusätzlich werden auch die schnellen Na + Kanäle gehemmt [41]. Für den Wirkungseintritt sind L-Typ Ca 2+ Kanäle das Ziel.
M. Scorsin und Kollegen haben in einer Studie gezeigt, dass Esmolol als kontinuierlicher Schutz des hypertrophen Herzens eingesetzt werden kann. Darüber hinaus reduziert es den myokardialen Sauerstoffverbrauch signifikant im Vergleich zu kaliumreichen Lösungen. [42]
Biomarker können helfen, das Ausmaß der Herzschädigung nach einem STEMI zu bestimmen. Es konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Esmolol in der Akutphase ventrikuläre Tachyarrhythmien verhindert und den Anstieg der Biomarker Troponin, CK und CK-MB reduziert. [43]

Fragestellung

Wie bereits vorgestellt, gilt die Kardioplegie heutzutage aufgrund zahlreicher durchgeführter Studien als sichere myokardprotektive Strategie während Herzoperationen. Kardioplegische Lösungen sind grundlegende kardioprotektive pharmakologische Wirkstoffe, die zur Erreichung von zwei Wirkungen in der Herzchirurgie eingesetzt werden: elektromechanischer Stillstand und Kardioprotektion. Die Wissenschafft benötigt aber bestimmt noch Jahren und eine Vielzahl an weiteren Experimenten, um Frage nach der idealen : Kardioplegie-Lösung zu beantworten. Unabhängig von der bevorzugten kardioplegischen Lösung müssen alle Arten von Mitteln bestimmte Bedingungen erfüllen, die im Folgenden aufgeführt sind:
1. Das Auffüllen der Energiedepots ist erforderlich, um den Stoffwechselbedarf des Herzens während des Aorten-Cross-Clampings zu decken.
2. Schneller diastolischer Herzstillstand.
3. Rheologische Eigenschaften für eine gute Verteilung im gesamten Myokard.

4. Erhöhte Osmolarität, um einem Myokardödem infolge einer Ischämie entgegenzuwirken.
5. Zur Verhinderung einer sekundären Azidose wird ein Puffereffekt genutzt.
6. Umkehrbarkeit ist gegeben.
7. Es treten keine oder weniger unerwünschte Wirkungen auf.
8. Ein hypothermischer Zustand wird zur Erzielung spezifischer kardioprotektiver Lösungen herbeigeführt. [44]

Von allen Herzchirurgen gewünschte Kardioplegie-Lösungen müssen eine wichtige Voraussetzung erfüllen: Myokardprotektion. Um die Rolle der kardioprotektiven Maßnahmen zu verstehen, muss man bedenken, dass die Kardioplegie das Myokard vor den nachteiligen Auswirkungen des ischämischen Ereignis (anaerober Zustand) und vor dem anschließenden Reperfusionsphänomen schützen muss. Ziel der Myokardprotektion muss dabei sein, irreversible Schäden am Myokard zu vermeiden und eine möglichst gute initiale Myokardfunktion nach Beendigung des kardioplegischen Stillstands zu erzielen.

Das Ziel dieser experimentellen Arbeit ist es, kardioprotektive Besonderheiten von ECCP und Cala zu vergleichen.

Im Einzelnen werden die folgenden Fragen Gegenstand der Arbeit sein:

Welche von diesen Lösungen bietet eine bessere hämodynamische Erholung nach 120 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion Zeit an?

Kann ECCP oder Cala die Myokard-Zellen besser vor Ischämie/Reperfusion bedingten Schäden schützen?

Kann die Verabreichung dieser Lösungen dazu beitragen, die mitochondriale Schädigung zu reduzieren?

Material und Methoden

Dazu wurden zwei Gruppen gebildet, jeweils bestehend aus 9 Wistar-Ratten. Die Herzen wurden nach Explantation in die Langendorff-Apparatur inseriert, auf dessen Grundlage eine Ischämie- Reperfusion simuliert wurde.

Zunächst wurde mit einer Stabilisierungsphase von circa 15 Min angefangen. Dann wurde eine 120-minütige Ischämie entweder mit Cala oder ECCP indiziert. Im Anschluss erfolgte eine 90 Minuten lange Reperfusionsphase. Funktionsparameter des

linken Ventrikels LVDP, Kontraktionsgeschwindigkeit und Coronarer Fluß wurden erfasst. Biochemische Parameter wie myokardialer Sauerstoffverbrauch, und Troponin I wurden gemessen und später ausgewertet. Am Ende wurden die perfusionsfixierten Herzen mittels Transmisssionselektronenmikroskopie morphometrisch auf zelülläre Ödeme und ischämiebedingte mitochondriale Schäden untersucht und mithilfe der Software Stepanizer ausgewertet.
Im Folgenden werden der Versuchsaufbau, die Langendorf-Apparatur, die Datenerhebung, das Messverfahren, die Elektronenmikroskopie sowie die statistischen Auswertigung vorgestellt.

Versuchsgruppen.

Das Ziel dieser Studie ist es, kardioprotektive Besonderheiten einer Esmolol- Kristalloid Kardioplegie mit der Blutkardioplegie nach Calafiore zu vergleichen. Deswegen wurden die Versuchstiere nach dem Zufallsprinzip in zwei Gruppen aufgeteilt und erhielten alle 20 Minuten der 120-minutigen Ischämiezeit entweder ECCP oder Cala.
Die Gruppe ECCP- die isolierte Herzen, die Esmolol- Kristalloid Kardioplegia bekommen haben.
Die Gruppe Cala- die isolierte Herzen, die Blutkardioplegia Calafiore bekommen haben.

Versuchstiere

Das Experiment wurde unter Einhaltung der Standards des Deutschen Tierschutzgesetztes und der Tierschutzversuchstierverordnung durchgeführt. Die untersuchten 18 Versuchstiere waren etwa 3- 4 Monate alt. Es handelte sich um männliche Wistar Ratten. Diese wurden von der Firma Janvier aus St. Berthevin in France bezogen. Zum Versuchszeitpunkt wogen die Tiere 482.8 ± 29.6 g. Das Gewicht der Herzen betrug zwischen 2.4 ± 0.280.2 g. Die Ratten wurden in der Versuchstierhaltung des Physiologischen Instituts der Justus-Liebig-Universität Gießen FB 11 Medizin gehalten. Es handelte sich um eine konventionelle Haltung bei Raumtemperaturen von 22 ± 2 °C, mit 55 ± 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.

Blutperfusat

Ein frisch angesetztes heparinisiertes Rindererythrozytenkonzentrat auf der Basis eines modifizierten Krebs-Henseleit-Puffers wurde in einen Langendorff-Apparat der Firma Hugo Sachs (Grünstraße 1, 79232 Hustetten) eingefüllt. Das Perfusat aus der Versuchsanordnung ist wie folgt zu gewinnen: Während des Ausblutens bei der Schlachtung von Rindern zur Fleischgewinnung wird das austretende Rinderblut in heparinisierten Gefäßen aufgefangen (1,5 ml Heparin-Natrium-25000 pro 1 l Blut.) Das aufgefangene Blut wird bei 1 500 G für 5 Minuten und einer Temperatur von 4 °C ohne Unterbrechung zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wird der Überstand verworfen und dreimal mit einer 0,9-prozentigen NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wird das Blut mit 0,9 % NaCl im Verhältnis 1:1 gemischt und dem Rindererythrozytenkonzentrat 15 mg Gentamycin pro 500 ml Konzentrat zugesetzt, um eine bessere Stabilität und Haltbarkeit zu erreichen. Das fertige Erythrozytenkonzentrat wird durch einen Transfusionsfilter mit 40 µm Porengröße in Glasflaschen abgefüllt und bei 8°C gelagert. Das Konzentrat hat eine Haltbarkeit von maximal 1,5 Wochen. Der modifizierte *Krebs-Henseleit'sche Buffer*, auch Langendorff'scher Buffer genannt, enthält folgende Bestandteile: 2,5 L Aqua dest, 20,25 g NaCl und 8,1 g Glucose werden miteinander

vermischt und mit Karbamid begast. Danach wird 505 ml dest. Wasser mit 6,8 g NaHCO3 versetzt und zu der oben genannten Mischung gegeben. Anschließend werden jeweils 50 ml CaCl mit 21,96 g/l, KCL mit 17,25 g/l, MgSO4 mit 19,1 g/l, KH2PO4 mit 10,7 g/l und NaEDTA mit 12,21 g/l dazugegeben. Das Erythrozyten-NaCl-Gemisch wird erneut bei 1500 G für 5 Minuten bei 4 °C ohne Bremse zentrifugiert, um das endgültige Blutperfusat zu erhalten. Der Überstand wird verworfen und die Erythrozytenmischung dreimal mit LangendorffPuffer gewaschen. 250 ml Langendorff-Puffer werden mit 5 g Rinderserumamyloid und einem Tropfen Insulin (entsprechend etwa 1 I.E.) unter Verwendung eines Magnetrührers gemischt. Das gewaschene Erythrozytenkonzentrat ist im Verhältnis 1:1 mit dem zuvor hergestellten Langendorff-BSA-Puffer zu mischen. Zur Korrektur des pH-Wertes werden 10-15 ml Bicarbonatlösung hinzugegeben. Vor Versuchsbeginn wird das fertige Perfusat mit Carbogen begast, bis ein pH-Wert von 7,33 erreicht ist. [45]

ECCP-Vorbereitung

Um das Perfusat herzustellen und eine Hämoglobinkonzentration von 6,3 ± 0,4 g/l zu erreichen, wurden 250 ml KHB (R C Cork, 1995) mit 5 g Rinderserumalbumin, 1 I.E. Insulin und 250 ml Rindererythrozytenkonzentrat gemischt. Die kristalloide Kardioplegie (ECCP) mit Esmolol (Brevibloc; Baxter, Unterschleißheim, Deutschland) wurde mit KHB verdünnt, um eine Endkonzentration von 1,0 mmol/l Esmolol zu erhalten. Diese Lösung war Gegenstand einer Infusion bei 32°C für 3 Minuten. Esmolol gehört zur Gruppe der kurzwirksamen Betablocker und Antiarrhythmika der Klasse II. Es wird bei verschiedenen Herz-Kreislauf-Erkrankungen indiziert. Überdies konnte in zahlreichen Studien gezeigt werden, dass die intravenöse Gabe von Esmolol zur Frequenzkontrolle bei STEMI-Patienten mit einem geringeren Anstieg prognostisch relevanter Infarktmarker einhergeht [43].
Im Vergleich zu anderen Betablockern hat Esmolol durch die Esterase- Hydrolyse eine Halbwertzeit von ungefähr 9 Minuten. Diese Besonderheit macht Esmolol in verschiedenen akuten Situationen der Herzchirurgie nutzen. [46] Es ist die Esterbindung, die Esmolol von anderen ß-Blockern (z. B. Metoprolol, dem es sehr ähnlich ist) unterscheidet und seine schnelle Inaktivierung durch Hydrolyse bewirkt. Diese Esterbindung trägt auch zur Kardioselektivität von Esmolol bei. [47]

Calafiore- Kardioplegie- Vorbereitung

Die Blutkardioplegie nach Calafiore wird in unserer Einrichtung gemäß nachfolgenden Angaben verwendet. Die initiale hyperkaliämische Blutkardioplegie wurde mit 14 ml Blut und 150 µl Calafiore-Blutkardioplegielösung (2,9 x 10-3 mol Kaliumchlorid und 1,3 x 10-3 mol Magnesiumsulfat; Cala) zusammen mit einem Bolus von 150 µl Cala für 2 Minuten bei 36 °C eingeleitet. Die nachfolgenden Dosen bestanden aus 10 ml Blut und 225 µl Cala für 2 Minuten. Mit einem Gasgemisch aus 5 % CO2 und 95 % O2 wurde jede Kardioplegie- Lösung bis zur Applikation oxygeniert. Nach der CF-Messung unter BL-Bedingungen wurde die Flussrate der Kardioplegielösung an den BL-Blutfluss mit einer Sicherheitsspanne von 30 % angepasst und die Kardioplegie-Lösungen wie oben beschrieben für 2 oder 3 Minuten verabreicht (Gesamtvolumen = x min × [BL CF + 30 %]

Die Versuchsprotokolle basierten auf etablierten Methoden und Erfahrungen der Arbeitsgruppe unter Leitung Prof. Dr. med. Böning im Jahr 2014 und 2015. [49], [48]

Langendorff-Apparatur

Die ersten Untersuchungen an isolierten Herzen wurden von Carl Ludwig und Elias Cyon im Institut für Physiologie an der Universität von Leipzig durchgeführt. Diese Versuche erfolgten an isolierten Froschherzen. Im Vergleich zu Säugetierherzen haben Froschherzen zwei Vorhöfe und nur einen Ventrikel. Da diese auch nicht über ein Koronarsystem verfügen, erfolgt der Austausch von Gasen und Metaboliten über Diffusion. Durch die Untersuchungen am isolierten Froschherzen konnten einerseits grundlegende Erkenntnisse über die kardiale Funktion gemacht werden. Unter anderem konnte der negativ chronotrope Effekt bedingt der vagalen Stimulation, der Einfluss von Kalziumionen, Kaliumchlorid. [50] Erzielt werden, Sauerstoff und die Temperatur auf die Kontraktilität des Herzens, das Alles-oder-nichts Prinzip am Herzen, die absolute Refraktärzeit und die Lokalisation der Automatiezentren am Atrium und Atrioventrikularknoten erforscht werden [51].

Die Untersuchungen an isolierten Froschherzen und das Herz-Lungen Modell dienten schließlich als Grundlage für die Entwicklung des von Langendorff im Jahre 1895 entworfenen Modells an isoliert perfundierten Säugetierherzen. Dabei verwendete Langendorff das Prinzip der retrograden Perfusion. Bei diesem Verfahren wird die Aorta ascendens über eine Metallkanüle retrograd, also entgegen der physiologischen

Flussrichtung, mit Blut oder kristalloider Lösung perfundiert. Durch den Perfusionsdruck schließt sich die Semilunarklappe der Aorta vollständig. Dadurch verläuft das Perfusat über die Koronarostien oberhalb des Aortenstumpfes in die Koronararterien und fließt über den Koronarsinus in den rechten Vorhof wieder ab. Da das Perfusat vom Herzen abfließt, ist es möglich das Effluat einzufangen und für weitere Messungen zu untersuchen. Über das gesammelte Effluat, welches vom isoliert schlagenden Herzen abtropft, ermittelte Langendorff den Koronarfluss. Durch einen Faden, der zwischen Herzspitze und Aufnahmegerät angebracht wurde, konnte die isometrische Kontraktion entlang der Längsachse ermittelt werden Das Besondere an dem Langendorff-Modell ist die Möglichkeit der isolierten Betrachtung des Herzens. Da das schlagende Herz weder von anderen Organen noch von neurohumoralen oder systemischen. [52] Faktoren beeinflusst wird, lassen sich die externen Störfaktoren weitestgehend ausblenden. Somit ist es möglich einzig die intrinsischen Vorgänge des Herzens zu untersuchen Als Nachteil ist zu betonen, dass die Wirkung von Metaboliten und biotransformierten Endprodukten, die in anderen Organen entstehen, dabei nicht ermittelt werden kann. Die LD-Methode ist vor allem für die Untersuchung von akut toxischen Prozessen am isolierten Herzen geeignet. Hierbei ist auch der Aspekt zu betonen, dass die Versuchstiere durch die LD-Methode nichts von der Intervention, welche am schlagenden Herzen stattfindet, mitbekommen. So lassen sich weitere Störfaktoren, wie die Freisetzung stressinduzierter Faktoren, beheben.
Mithilfe dieses Modells können verschiedene funktionelle Parameter des Ventrikelmyokards gemessen werden, wie der linksventrikulär enddiastolische Druck (LVEDP), der linksventrikulär entwickelte Druck (LVDP), die maximale Kontraktions- und Relaxationsgeschwindigkeit (+dp/dt, -dp/dt) und die funktionelle Refraktärzeit. Zudem ist es möglich, zu verschiedenen Zeitpunkten Probebiopsien des Myokards, beispielsweise für morphologische Untersuchungen, zu entnehmen. Mittels 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) ist es möglich, die Infarktgröße zu bestimmen.
Diese Langendorff- Apparatur verfügt über ein Reservoir für das Perfusat mit Wasserbad, einer Rollerpumpe, einer beheizten Herzkammer, einen Oxygenator, einen Transfusionsfilter, und einen Aortenblock.
Das isolierte Rattenherz wird als erstes kanuliert und danach in die Langendorff-Apparatur eingebracht. Die eingeführte Kanüle wird mit einer Fadenligatur an der Aorta befestigt. Das oben beschriebene Blutperfusat wird über diese Perfusionskanüle

während des Versuchs mit konstantem 70 mmHg Druck perfundiert. Der Druck kann manuell über eine Druckpumpe reguliert werden. Das Reservoir für das Blutperfusat wird in einem Wasserbad mit einer Temperatur von 36 °C eingebettet. Das Perfusatreservoir besitzt zwei Schlauchsystemen. Einer davon ermöglicht eine Begasung des Perfusates mit Unterstützung von Membranoxygenators, währendessen der zweite die Perfusion des Herzens sicherstellt. Die Begasung erfolgt mit Carbogen bestehend aus 95 % O_2 und 5 % CO_2. Ohne die Begasung mit Carbogen kann Erythrozyten durch Aufschäumung geschädigt werden. Der Bluttransfusionsfilter ist einer der wichtigsten Bestandteile dieser Apparatur, da er Mikroaggregate mithilfe von 40 µm großen Poren abfangen kann. Nach der Begasung und Filterung wird das Perfusat wieder dem Perfusatreservoir zugefügt.

Die Langendorff-Apparatur beinhaltet auch eine Rollerpumpe. Mit der Unterstützung dieser Pumpe wird das Blutperfusat dank eines zweiten Schlauchsystems zum Herzen gepumpt. Danach wird das Blutperfusat über die kanulierte Aorta zum Herz und Koronargefäße perfundiert. Die Compliance-Kammer dient als Luftblasenfalle und wird bereits vor Versuchsbeginn mit Blutperfusat gefüllt. Es befindet sich oberhalb der Aortenkanüle im Aortenblock. Außerdem verfügt der Aortenblock über einen Absperrhahn zur Regulation des Perfusionsflusses, Zugänge zum Zuführen der Kardioplegielösung bzw. zur Entnahme arterieller Perfusatsproben sowie einen verstellbaren Widerstand. Zur Einstellung des konstanten Perfusionsdrucks sind Manometer und Druckspitze miteinander verbunden. Der zugedrehte Absperrhahn ermöglicht einen Rückführ-Bypass im Aortenblock. Oberhalb der Compliance-Kammer befindet sich ein Zugang, über den Substanzen, besonders mit einem sehr geringen Volumen, direkt ins Herz appliziert werden.

Im rechten Vorhof, wo sich das Blutperfusat durch die Perfusion der Koronararterien sammelt, wird während der Preparation eine Öffnung geschaffen. An dieser Stelle wird auch die Entnahme von venösen Proben für weitere Messungen ermöglicht.

Einer der wichtigsten Bestandteile der LA ist die Herzkammer. Die Herzkammer funktioniert als Behälter für das isolierte Herz und schützt es vor dem Auskühlen. Zudem hat es hat noch zwei Funktionen. Einerseits fängt es das aus dem Sinus coronarius austretende Blutperfusat auf und transportiert es über das verbundene Schlauchsystem ins Vorratsgefäß. Ein doppelwandiges Plexiglas ermöglicht physiologische Bedingungen für das isolierte Herz bei einer Temperatur von 36 Grad, weil durch den Zwischenraum kontinuierlich 38 Grad warmes Wasser gepumpt wird.

Es geht bei dieser Methode um einen rezirkulierenden Zyklus, denn das Blutperfusat wird aus der Kammer erneut zurück zum Perfusatreservoir zurück zirkulieren.

Aus urheberrechtlichen Gründen wurde die Abbildung in der digitalen Version entfernt.

Abbildung 5. Langendorff Apparatur, Labor AG Böning Frontansicht. [53]

Datenerfassung

LA ermöglicht es, verschiedene physiologischer Parameter während eines Versuchs zu erheben. Wir haben für dieses Experiment die Herzfrequenz, den linksventrikulären Druck während der Systole sowie während der Diastole, ebenso wie die minimale sowie maximale Kontraktionskraft gemessen, so dass wir mit konstanter Flüssigkeit gefüllter Latexbaloon durch die Mitralklappe in den linken Ventrikel gebracht. Eine optimale Passform des Latexballons war für akkurate Messungen wichtig, weil es das Volumen des linken Ventrikels möglichst vollständig aussfüllen sollte. Die aufgezeichneten Daten wurden von der Software *Isoheart* digital (Hugo Sachs Elektronik GmbH 79232 Hugstetten) gespeichert und grafisch angezeigt. Die Herzfrequenz, LVDP, dLVP/dtmin, dLVP/dtmax, AP und Temperatur werden grafisch angezeigt. Zusätzlich wurde der Koronarfluss (CF) vor Beginn des Experiments und in

der 10., 30., 60. und 90. Minute der Reperfusion gemessen. Der CF wird vor Versuchsbeginn durch die Entnahme von Perfusattropfen aus dem Herzen bestimmt. Diese wurden während eines Zeitraums von 30 Sekunden gezählt und in einem Messzylinder gesammelt. Anschließend wurden die Tropfen in der 10., 30., 60. und 90. Minute gezählt und der Koronarfluss berechnet. Die oben genannten Parameter wurden während des Experiments kontinuierlich gemessen und aufgezeichnet. Zusätzlich wurden venöse und arterielle Blutproben kurz vor Beginn des Experiments, 10 Minuten nach Beginn der Reperfusion und in der 90. Minute entnommen. Vor der Herzreperfusion aus dem Aortenblock wurden arterielle und venöse Proben entweder direkt aus dem Ventrikel oder aus dem Sinus coronarius entnommen. Aus diesen Proben wurden der pH-Wert, der Sauerstoffpartialdruck, die Sauerstoffsättigung, die Hämoglobinkonzentration sowie verschiedene Elektrolytwerte und der Laktatgehalt bestimmt. Jeweils 5 ml der arteriellen und venösen Probe wurden zu jedem Messzeitpunkt bei 3000 G für 20 Minuten bei 4 °C zentrifugiert, 900 µl Überstand abpipettiert und für die Troponin I-Messungen bei -80 °C aufbewahrt. Die Analyse wurde von Biocontrol (Bioscientia Healthcare GmbH, 55128 Ingelheim) durchgeführt. Dabei wurde die CLIA-Methode verwendet. Der Troponin I-Test ist ein hochsensitiver Test (TNI-UltraTM), der mit dem Advia Centaur XP 1520 System (Siemens Healthcare Diagnositcs Inc. Tarrytown, NY, USA) durchgeführt wird.

Protokoll der Versuche

Aus urheberrechtlichen Gründen wurde die Abbildung in der digitalen Version entfernt.

Abbildung 6. Protokoll der Versuche

Versuchsablauf

Wir verwendeten ein Versuchsmodell, das die klinische Situation eines Patienten simuliert, der sich einer Herzoperation mit extrakorporaler Zirkulation unterzieht. Nach der Exzision wurden die Herzen auf den Langendorff-Apparat montiert und die Perfusion initiiert. Nachdem bestätigt worden war, dass die Herzen bis zu 30 Minuten lang hämodynamisch stabil waren, wurde die Aorta der Herzen in der Gruppe mit kardioplegischem Stillstand (9 Herzen, Abb. 2A) „abgeklemmt". Dazu wurde der arterielle Blutfluss zum Herzen mit einem Drei-Wege-Hahn im Aortenblock blockiert. Über den Seitenarm dieses Hahns wurde dann in jeder Gruppe entweder ECCP oder Cala über die Aortenwurzel antegrad in die Koronararterien verabreicht. Die Kardioplegie wurde alle 20 Minuten für zwei oder drei Minuten wiederholt, bis eine Aortenklemmzeit von 120 Minuten erreicht war. Nach 120 Minuten Ischämie erfolgte die Wiederherstellung des Perfusatflusses zum Aortenblock. Für weitere 90 Minuten wurden die Herzen mit dem gleichen Perfusat wie vor der Ischämie reperfundiert. Nach einer kurzen Stabilisierungsphase begann der Versuch mit der Verabreichung der Kardioplegie Lösungen. Nach Aufhängen des Herzens im Langendorff-Apparat erfolgte eine individuelle Stabilisierungsphase von maximal 30 min. Bei konstantem LVP und normofrequenter Herzfrequenz galt das Herz als stabil. Vor Beginn der nächsten Phase wurde der Ausgangswert (Baseline) des Koronarflusses bestimmt. Durch Tropfenzählen und Auffangen in einem Volumenmessgefäß wurde das Blutperfusionsvolumen pro Minute bestimmt. Zusätzlich wurde eine arterielle und eine venöse Probe des Blutperfusats zur Bestimmung des Ausgangswertes (Baseline) der Sauerstoff- und Laktatkonzentration entnommen. Die Ischämiezeit betrug 120 Minuten, während der Ischämie erhielten die Herzen alle 20 Minuten entweder die Esmolol-Crystalloid-Kardioplegie (mehr als 3 Minuten) oder die Calafiore-BlutKardioplegie (mehr als 2 Minuten). Auf die Zeit der Ischämie folgten 90 Minuten Reperfusion. Während des gesamten Versuchs wurden LVDP (left ventrikular developed pressure), dLVP/dtmax (maximale Kontraktionsgeschwindigkeit) und dLVP/dtmin (minimale Kontraktionsgeschwindigkeit) gemessen. Die isovolumetrische Messung der linksventrikulären (LV) Leistung wurde mit einem flexiblen Latexballon durchgeführt. Der mit einer Kochsalzlösung gefüllte Ballon war mit einem Druckwandler verbunden, der durch die Mitralklappe in den LV eingeführt wurde. Der enddiastolische Druck wurde während der Stabilisierungsphase durch Volumenzugabe oder -entnahme auf 10-

12 mmHg eingestellt. Zu Beginn der Studie gab es in beiden Gruppen keinen Unterschied hinsichtlich der hämodynamischen Leistung und des koronaren Flusses in den Herzen, die keinen Infarkt erlitten hatten. Das Ballonvolumen wurde konstant gehalten, nachdem das Experiment durch Abklemmen der Aorta begonnen hatte. Die LV-Leistung wurde durch eine Messung des systolischen LV-Drucks (LVSP) und des enddiastolischen LV-Drucks (LVEDP, LVpdP = LVSP - LVEDP) bestimmt. Dieser diente dazu, die Herzkraft zu messen. Die ersten positiven und negativen Ableitungen des LVSP (dLVP/dtmax und dLVP/dtmin, mmHg/s) wurden mit einem Transducer-Amplifier-Modul (TAM-A, Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA) aufgezeichnet und mit der Software *Isoheart* berechnet.

Metabolische Messparameter

Myokardialer Sauerstoffverbrauch (MVO2)

Zu Versuchsbeginn, in der 10. Minute der Reperfusion sowie in der 90. Minute der Reperfusion wurden arterielle und venöse Proben entnommen. Daraufhin wurden diese auf ihren pH-Wert, den PO_2, die SO_2 sowie die Hämoglobinkonzentration (cHb) untersucht. Die daraus resultierten Daten brauchten wir, um den myokardialen Sauerstoffverbrauch (MVO2) zu berechnen. Die Messung des Sauerstoffverbrauchs ist eine leistungsstarke und einzigartig informative experimentelle Technik. Es kann dabei helfen, mitochondriale Wirkmechanismen nach pharmakologischen und genetischen Eingriffen zu identifizieren und den Energiestoffwechsel in Physiologie und Krankheit zu charakterisieren. [54] Nach einer latenten, aeroben Phase versuchen die Herzzellen, die Energieproduktion durch anaeroben Stoffwechsel und die Extraktion von Sauerstoff aus der gegebenen kardioplegischen Lösung aufrechtzuerhalten. Der myokardiale Sauerstoffverbrauch (MVO2) änderte sich allmählich während der Verabreichung der Kardioplegie. [55] Für die Berechnung wurde die folgende Formel verwendet, die in Anlehnung an die von Fick definierte Gleichung angepasst wurde [56].

$$\mathrm{MVO2} = (\mathrm{XaO2} - \mathrm{XvO2}) * \mathrm{CF}$$

MVO_2 = myokardialer Sauerstoffverbrauch, XaO2= arterielle O2 Gehalt, XvO2= venöser Sauerstoffgehalt, CF= Koronarfluss

Der Sauerstoffpartialdruck des venösen und arteriellen Blutes wurde mit einem BGA-Gerät gemessen. Aus diesen Werten wurde danach der arterielle und venöse Sauerstoffgehalt mit folgender Formel berechnet.

$$\mathrm{XxO2}\left[\frac{\mathrm{mlO2}}{\mathrm{dl}}\right] =$$

$$\mathrm{SxO2}\,[\%] * 1{,}34\left[\frac{\mathrm{mlO2}}{\mathrm{g}}\right] * \mathrm{cHb}\left[\frac{\mathrm{g}}{\mathrm{dl}}\right] + \mathrm{PxO2[mmHg]} * 0{,}0031[\frac{\mathrm{mlO2}}{\mathrm{dl} * \mathrm{mmHg}}]$$

XxO2= Der Sauerstoffgehalt im venösen/ arteriellen Perfusat, SxO2= die Sauerstoffsättigung, cHb= Hämoglobinkonzentration, PxO2= der Sauerstoffpartialdruck.

Wir sehen in dieser Formel zwei Konstanten. Die erste Konstante 1,34 wird auch als Hüfner-Zahl bezeichnet und gibt den in 1 g Hämoglobin gebundenen Sauerstoff an. Die zweite Konstante 0,0031 gibt die Löslichkeit von Sauerstoff in Blut bei 37°C an. Allerdings erfordert diese Formel eine Einheitenkorrektur. Mit dieser Formel berechnen wir den Sauerstoffgehalt in Milliliter pro Deziliter Blutvolumen. Wir benötigen aber den Sauerstoffgehalt in Milliliter pro Milliliter, um eine korrekte Messung durchführen zu können. Hierfür wird folgende, abgewandelte Formel verwendet

$$\mathrm{CxO2}\left[\frac{\mathrm{mlO2}}{\mathrm{ml}}\right] = \frac{\left(\mathrm{SxO2}\,[\%] * 1{,}34\left[\frac{\mathrm{mlO2}}{\mathrm{g}}\right] * \mathrm{cHb}\left[\frac{\mathrm{g}}{\mathrm{dl}}\right] + \mathrm{PxO2[mmHg]} * 0{,}0031\left[\frac{\mathrm{mlO2}}{\mathrm{dl} * \mathrm{mmHg}}\right]\right)}{100}$$

Myokardiale Lactatproduktion (MLac)

Der zweite biochemischer Parameter, den wir berechnet haben, ist die Laktatproduktion. Für die Berechnung haben wir arterielle und venöse Proben, vor Versuchsbeginn, in der 10 und der 90. Minute der Reperfusion, abgenommen. Für die arteriellen Proben wurde der Aortenblock genutzt., wohingegen für die venösen Proben die schon vor der Preparation vorbereitete Öffnung im rechten Vorhoff genutzt wurde.

Alle Organe sind in der Lage, Laktat freizusetzen. Die Organe, die in pathophysiologischen Zuständen die größten Laktatmengen produzieren, sind die Haut, Erythrozyten, Skelettmuskeln, und Leukozyten. [57] Außerdem ist Laktat ein Parameter für den anaeroben Metobalismus. [58]

Der Laktatspiegel ist einer der Parameter, die die Gewebeminderdurchblutung nachweisen kann. Unter normalen Bedingungen wird Laktat von der Leber schnell abgebaut, geringe zusätzliche Clearance durch die Nieren stattfinden. Unter aeroben Bedingungen wird Pyruvat durch die Glykolyse produziert und tritt dann in den Citratzyklus (Krebszyklus) ein, wobei die Laktatproduktion weitgehend vermieden wird. Unter anaeroben Bedingungen hingegen ist Laktat ein Endprodukt der Glykolyse und wird im Cori-Zyklus dem Körper als Substrat für die Gluconeogenese zugeführt. Ferner erfolgt die Bewertung der Laktatclearance durch serielle Untersuchungen. Diese Messungen haben sich als nützliche Prädiktoren für Morbidität und Mortalität erwiesen. [59]

Damit wir die Laktatproduktion berechnen konnten, wurde die nachfolgende Formel genutzt:

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

MVLac= Laktatproduktion; cLac v = venöse Laktatkonzentration; *cLac a = arterielle Laktatkonzentration [60]*

Elektronenmikroskopie des Myokards

Immersionsfixierung der Organe

Nach Versuchende wurden die Herzen zunächst mit einer isotonischen Lösung von ca. 8 Grad im Langendorff-Gerät gewaschen. Anschließend wurden die gewaschenen Herzen bis zur elektronenmikroskopischen Auswertung in einem Fixiergemisch auf der Basis von Hepespuffer bei 8 °C aufbewahrt. Das Fixiergemisch hat eine Endkonzentration von 1,5% Glutardialdehyd und 1,5% Paraformaldehyd. Das Schneiden und Einbetten der Herzen erfolgt im Anatomischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen, Abteilung Elektronenmikroskopie (Aulweg 123, 35392 Gießen).

Zuerst wurde der linke Ventrikel ausgewählt. Dieser wurde von der Basis bis zur Spitze aufgeschnitten. Um den linken Ventrikel zu isolieren, wurde die Muskelmasse der beiden Ventrikel miteinander verglichen, da sich bei den meisten Säugetieren - auch bei den Herzen von Ratten - anatomisch bedingt mehr Muskelmasse im linken Ventrikel ansammelt. Aus sieben verschiedenen Bereichen des linken Ventrikels wurde ein Stück nach dem Zufallsprinzip entnommen, zerschnitten, in jeweils in 1 mm dicke Scheiben geschnitten und in Mikroreaktionsgefäße eingebettet.

Auswertung der Elektronenmikroskopie

Pro Herz wurden 150 Bilder unter Verwendung eines Transmissionselektronenmikroskops Zeiss EM 902 ausgewertet.
Für die stereologische Auswertigung wurde die *STEPanizer* Software genutzt. Sie erlaubt es, die Bilder mithilfe verschiedener Testsysteme, points, lines, grids und cycloids auszuwerten. Nur MAC-Benutzer brauchen Standard PC Tastaturen, denn nur so es funktioniert nur mit seiten Zahlen. [61]
Die Software steht unter www.stepanizer.com kostenlos zum Download zur Verfügung. Für unsere Bilder wurde das Test-System mit Points genutzt, sodass die Punkte, die Mitochondrien, Myofibrillen, Sarkoplasma oder Nuklei zeigten, gezählt wurden, damit wir mithilfe folgender Formel den zellulären- Ödemindex (CEI) berechnen konnten. Als Standard für jedes Bild haben wir 16 Points gewählt.

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

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. [62]

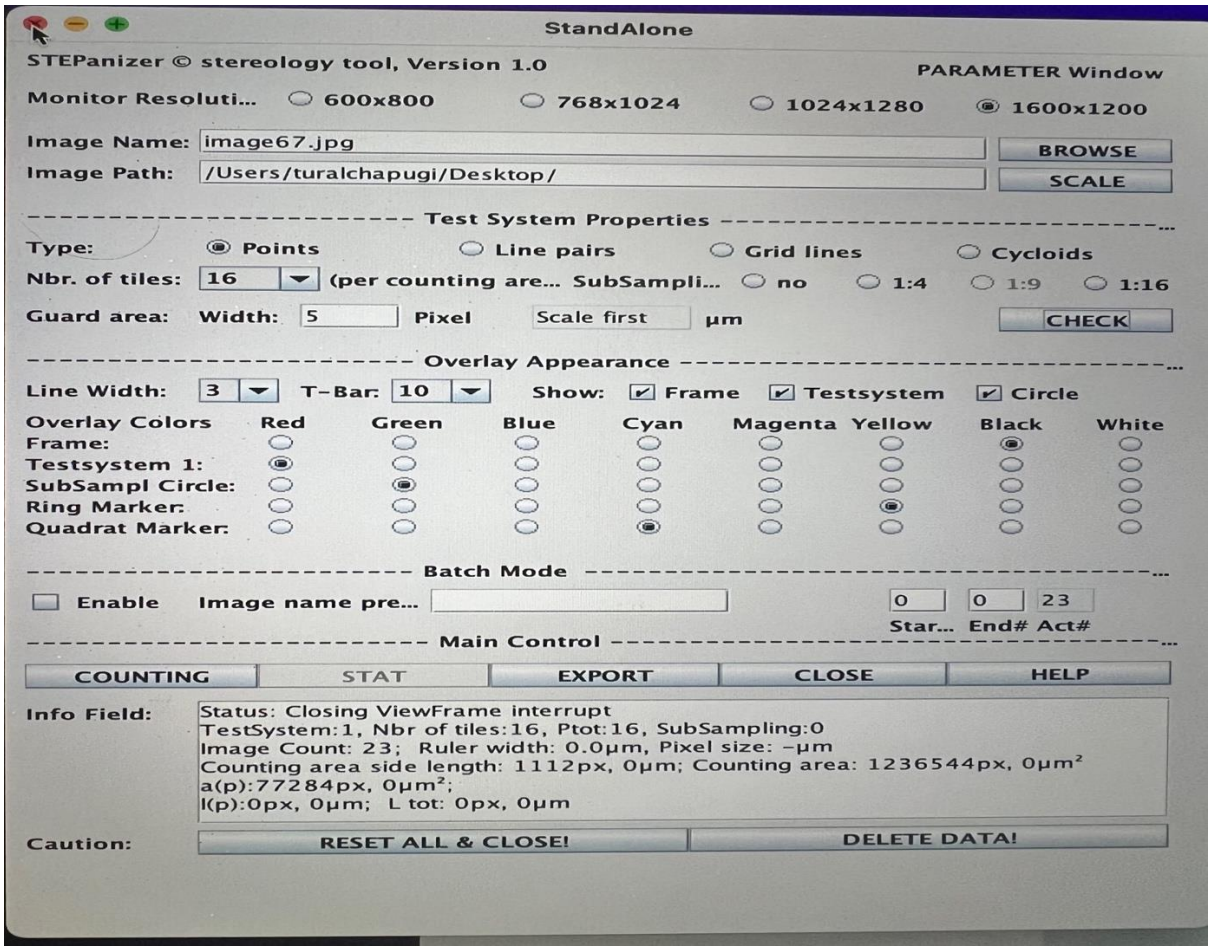

Abbildung 7. Startseite, Stepanizer Software.

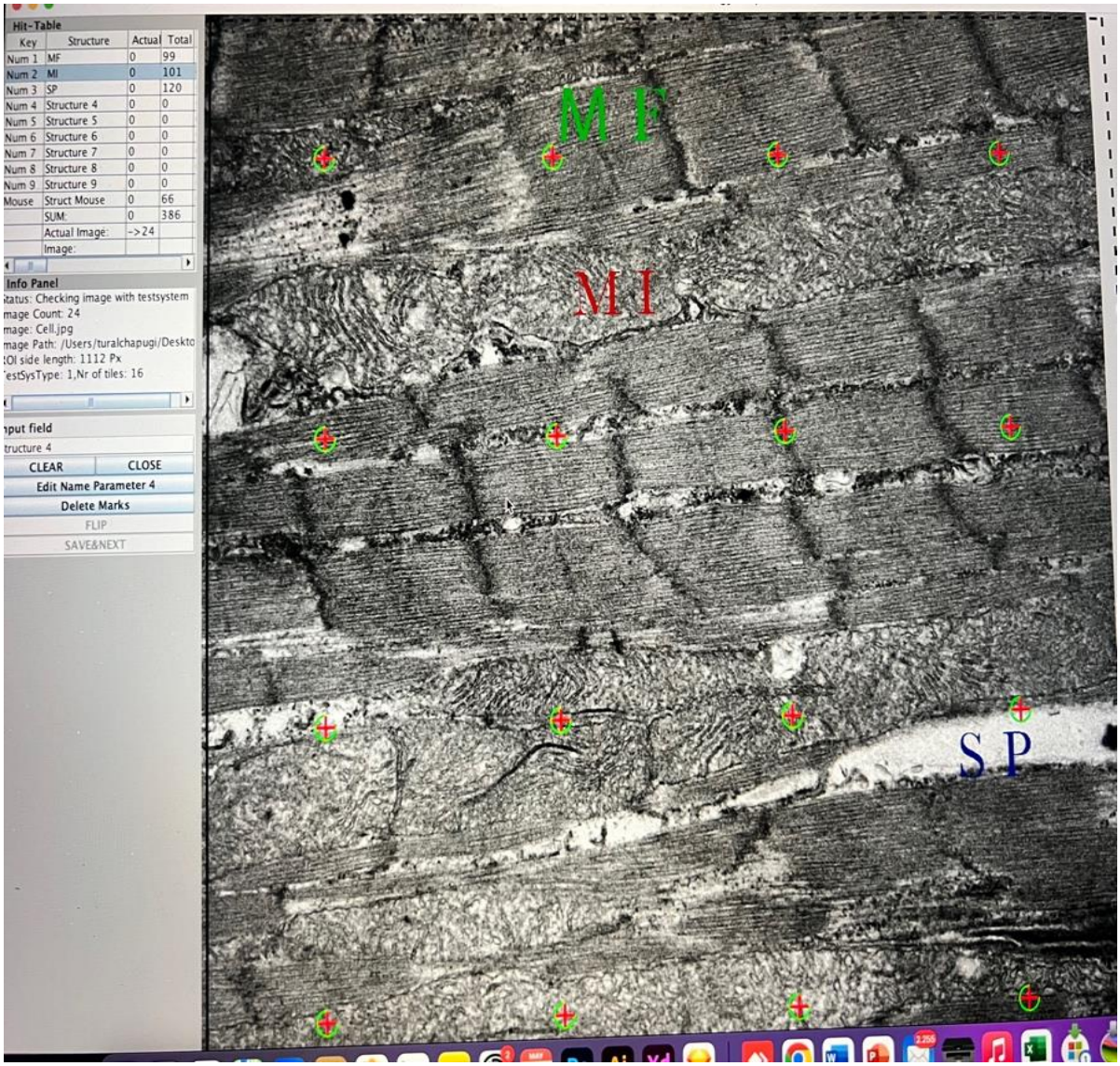

Abbildung 8. Markierung der Punkte in ECCP

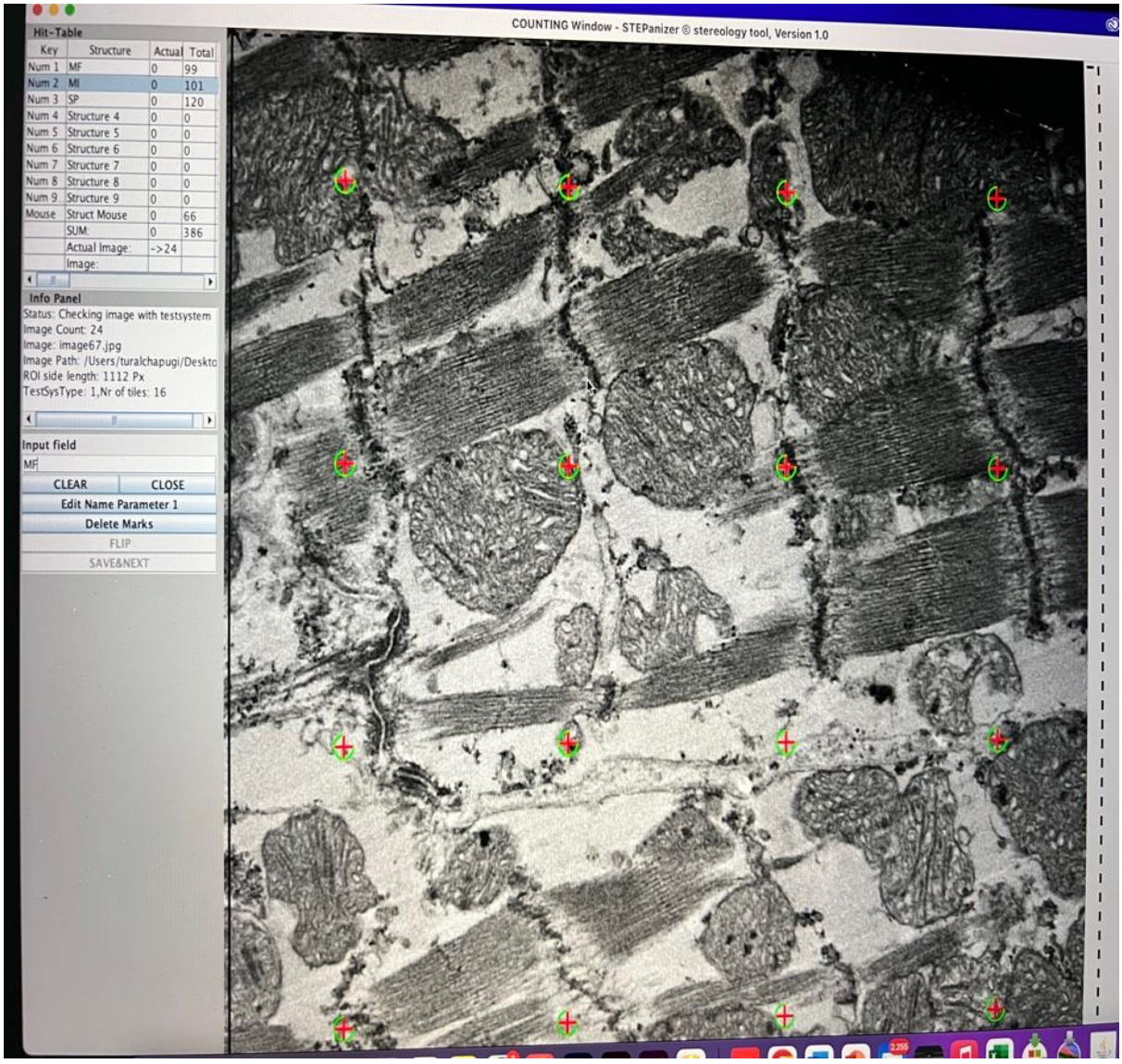

Abbildung 9. Markierung der Zellstrukturen mit Punkten Cala

Die meisten ischämischen Herzen wiesen typische Anzeichen einer ischämischen Schädigung auf, wie z. B. große, weniger elektronendichte Mitochondrien mit Verlust der Cristae, Vergrößerung des Sarkoplasmas, Verlust der sarkoplasmatischen Glykogengranula, Verklumpung und Randbildung des Chromatins. [63]
Die zellulären Veränderungen im linksventrikulären Myokard während der Ischämie nach verschiedenen Methoden des Herzstillstands wurden anhand morphologischer und morphometrischer Parameter bewertet: Volumendichte von Mitochondrien, Sarkoplasma, Myofibrillen, Oberflächendichte von Mitochondrien. Das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen wurde als unabhängiger Parameter der mitochondrialen Schwellung verwendet. Da die ischämische Schwellung der Herzmuskelzellen das Volumen des Referenzraums vergrößert und die ischämische Schwellung der Mitochondrien das freie Sarkoplasma vermindert. [80]
Um das Verhältnis des Volumens der Mitochondrien zu deren Oberfläche (Vs ratio (mito) zu berechnen wurde auch die STEPanizer genutzt. Dazu wurde Linien im Testsystem gewählt. Die Testlinien wiesen an beide Enden Punkte auf, die Linienschnittpunkte mit der äußeren Membran der Mitochondrien wurden gezählt und im Anschluss wurde die VS ratio (mito) berechnet.

$$VSratio(mito) = \frac{Vv\left(\frac{mito}{cm}\right)}{Sv\left(\frac{mito}{cm}\right)}$$

VS (mito/cm) = Volumen-Oberflächen Verhältnis der Mitochondrien.
Die Oberfläche der Mitochondrien wird folgendermaßen bestimmt

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

I = Anzahl der Schnittpunkte mit Mitochondrien, Lt = Länge einer Testlinie; Sv= Oberflächendichte
Pro Bild wurden acht Schnittpunktlinien ausgezählt. Deswegen wurde folgende Formel genutzt.

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

I = Anzahl der Schnittpunkte mit Mitochondrien, 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,
l(p) = ½ Lt,

Lt= 1/2PtxZ

Pt- Anzahl der Punktlinien (wenn 8 Schnittpunktlinien ist gleich 16)

Z- Abstand zwischen Testlinien

Lt- Lange einer Testlinie

[79]

Statistische Analyse

Die hämodynamischen Parameter, die zum Zeitpunkt der BL und zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Ende der Ischämieperiode (während der Reperfusion) bestimmt wurden, sind in % der BL ausgedrückt und wurden mithilfe der folgenden Software berechnet

Package for the Social Science (SPSS®) Version 26.0 für Mac OS (IBM® Corporation, veröffentlicht 2015, Armonk, NY, USA) und GraphPad Prism Version 8.0.0 für Mac OS (GraphPad Software, veröffentlicht 2018, San Diego, Kalifornien, USA) nach der Kodierung analysiert. Die Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die hämodynamischen Parameter und die Ergebnisse des kardialen Metabolismus (Response-Variablen) wurden zu den verschiedenen Zeitpunkten mithilfe der 1-Wege-ANOVA analysiert. Wenn ein Unterschied festgestellt wurde, wurde der Tukey-Test nach dem Post-hoc-Prinzip angewandt. Mit dem Shapiro-Wilk-Test wurde geprüft, ob die Stichproben in den einzelnen Gruppen normal verteilt waren. Der nicht-parametrische Wilcoxon-Test wurde verwendet, um die statistische Signifikanz der Unterschiede zu bestimmen, wenn die Normalitätsannahme nicht erfüllt war. Der Levene-Test wurde verwendet, um zu prüfen, ob die Stichproben der beiden Gruppen die gleiche Varianz aufweisen. In diesem Fall wurde ein zweiseitiger Student's t-Test verwendet. Bei allen Tests und Modellen wurde keine Korrektur für das Vorliegen von multiplen Tests vorgenommen. Kontinuierliche Variablen werden als Mittelwert ± SD und kategoriale Variablen als Zahlen und Prozentsätze dargestellt. Bei einem Niveau von $p < 0,05$ wurde von einer statistischen Signifikanz ausgegangen.

Ergebnisse

Im Folgenden werden die Funktionsparameter des Herzens sowie die Ergebnisse der biochemischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen zu drei Versuchszeitpunkten beschrieben. Zu Versuchsbeginn waren die hämodynamische

Leistung und die biochemischen Messwerte in allen Versuchsgruppen nahezu gleich und wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf. (Tab 1.)
Alle Baseline-Werte lagen in dem Bereich, der aufgrund vorheriger Experimente zu erwarten war.[60]
Die Daten, die zu Beginn und am Ende der Reperfusion gemessen und gespeichert wurden, sind in Prozent auf die Baseline normiert. Der Zeitpunkt des Beginns der Reperfusion entspricht der 10. Minute und der Zeitpunkt des Endes der Reperfusion entspricht der 90. Minute der Reperfusion.

Baseline-Parameter

Parameter	ECCP (n=9)	Cala (n=9)
LVpdP		
Baseline (mmHg)	83.99±28.09	89.46±21.90
Start Reperfusion (%)	233.67±79.48***	67.89±18.43
30 min Reperfusion (%)	163.00±45.63***	65.44±10.88
60 min Reperfusion (%)	129.78±29.56***	54.44±12.53
90 min Reperfusion (%)	91.56±40.35**	43.56±9.59
$dLVP/dt_{max}$		
Baseline (mmHg/s)	1936.58±670.26	2000.60±455.34
	174.44±43.75***	76.56±15.14
	111.11±40.14**	59.44±12.80
$dLVP/dt_{min}$		
Baseline (mmHg/s)	-1458.50±622.18	-1585.30±433.33
	163.89±45.15***	57.80±8.94
	88.56±34.55***	40.33±6.80

Heartrate		
Baseline (beats/min)	211.70±93.11	208.32±41.41
	107.76±26.73	94.34±17.58
	104.32±45.72	90.28±18.85
Coronary blood flow		
Baseline (beats/min)	4.46±0.84	4.82±1.07
	148.78±49.52***	48.00±14.81
	84.89±43.27*	42.22±24.39
Baseline (ml/(min•100 g))	5.68±1.09	6.50±1.46
Start Reperfusion (%)	131.87±39.76***	131.87±29.38
90 min Reperfusion (%)	64.29±25.80	48.91±21.97
Baseline (µmol/(ml•min))	0.50±0.57	0.26±0.21
10 min Reperfusion (%)	1.56±0.63	0.79±0.94
90 min Reperfusion (%)	1.88±0.97	1.13±0.67

Tabelle 1. *Darstellung der absoluten Baselinwerte (MW±SD)*

Hämodynamische Parameter

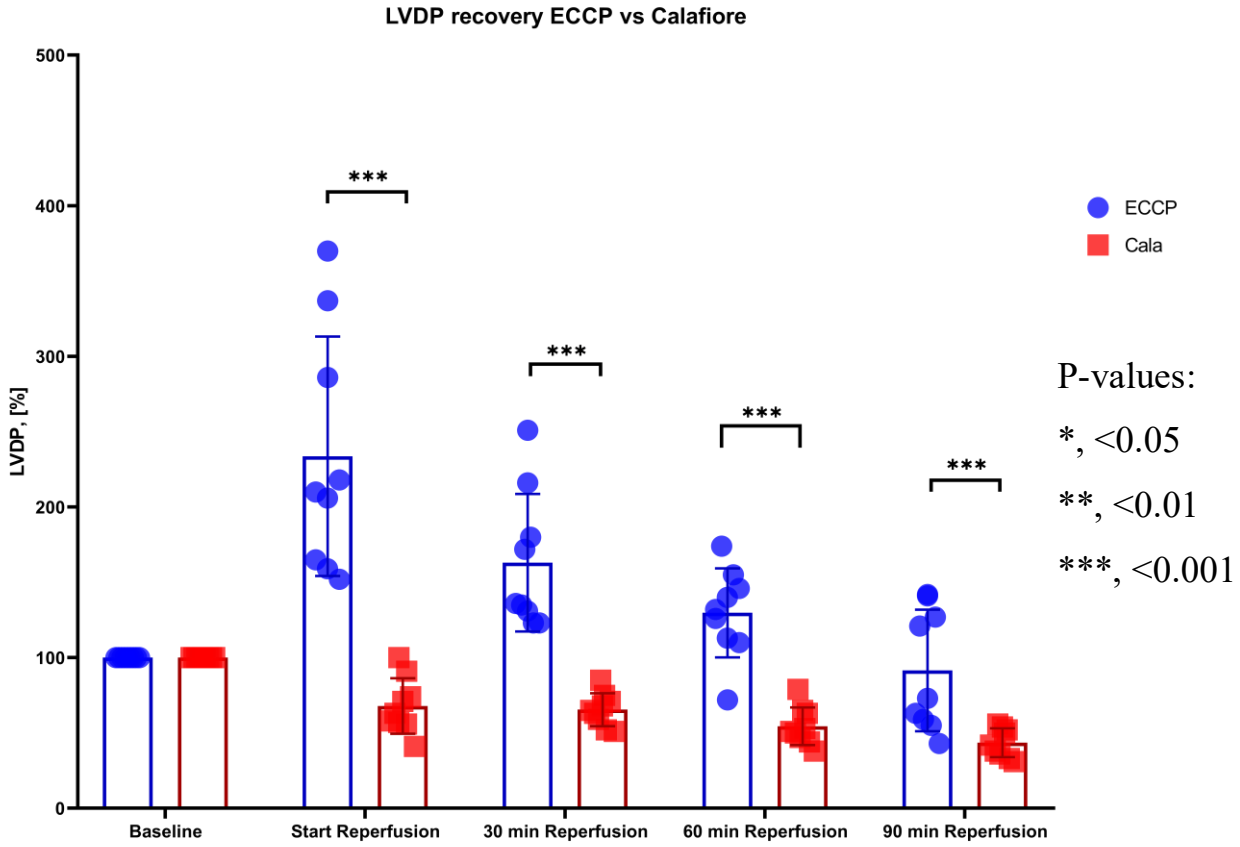

*Abbildung 10. LVDP (%) der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-WERTE FÜR DEN VERGLEICH: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. DIE WERTE SIND MITTELWERTE ± SD*

Die Abbildung zeigt die gemessenen LVDP- Werte in Prozent. Die BL des LVDP-Wertes sind schon vor dem Versuch gespeicherte Werte, Der Rest wurde zur Baseline in Prozent normiert. Wir haben in der Esmolol-Gruppe sowohl zu Beginn als auch am Ende der Reperfusion durchschnittlich höhere LVDP-Werte gemessen als in der Kontrollgruppe; diese weist auf eine bessere Herzerholung als in der Cala-Gruppe hin. Dementsprechend wiesen die Herzen unter ECCP höhere Werte des abgeleiteten linksventrikulären Drucks (LVDP) (91%) (SD 40) im Vergleich zu Cala BCP (43%) (SD 10) auf, was eine bessere Erholung der Herzen unter ECCP hinweist, p=0,003.

Koronarfluss (CF)

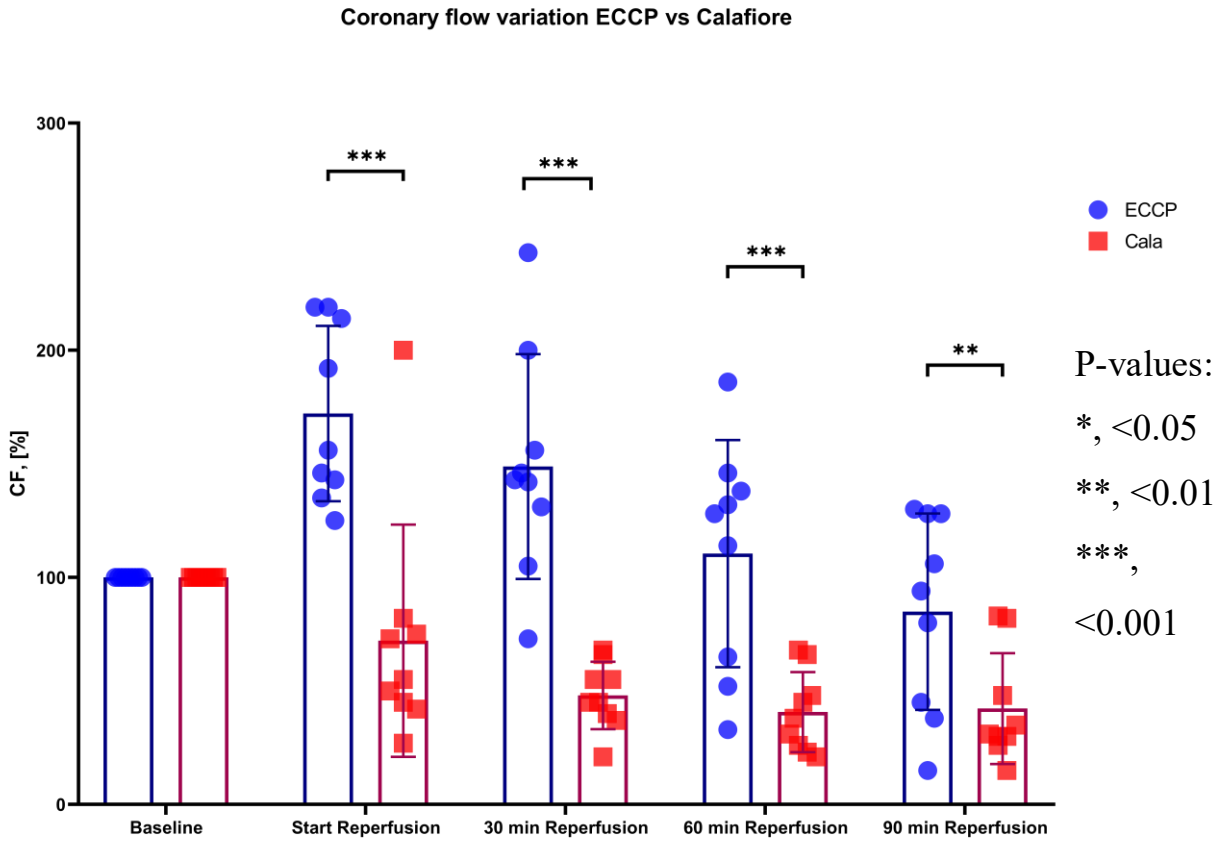

*Abbildung 11. . Koronarfluss (%) der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-WERTE FÜR DEN VERGLEICH: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. DIE WERTE SIND MITTELWERTE ± SD*

In dem dargestellten Graph wird der Koronarfluss in beiden Gruppen verglichen. Unter der Verwendung von ECCP war der Blutfluss zu allen Zeitpunkten signifikant besser als unter der Verwendung von Cala. Der Koronarfluss war bei ECCP 85 % (SD 43) höher als bei Cala-Herzen 42 % (SD 24) (p =0,02).

Kontraktionsgeschwindigkeit (dLVP/dt$_{max.}$)

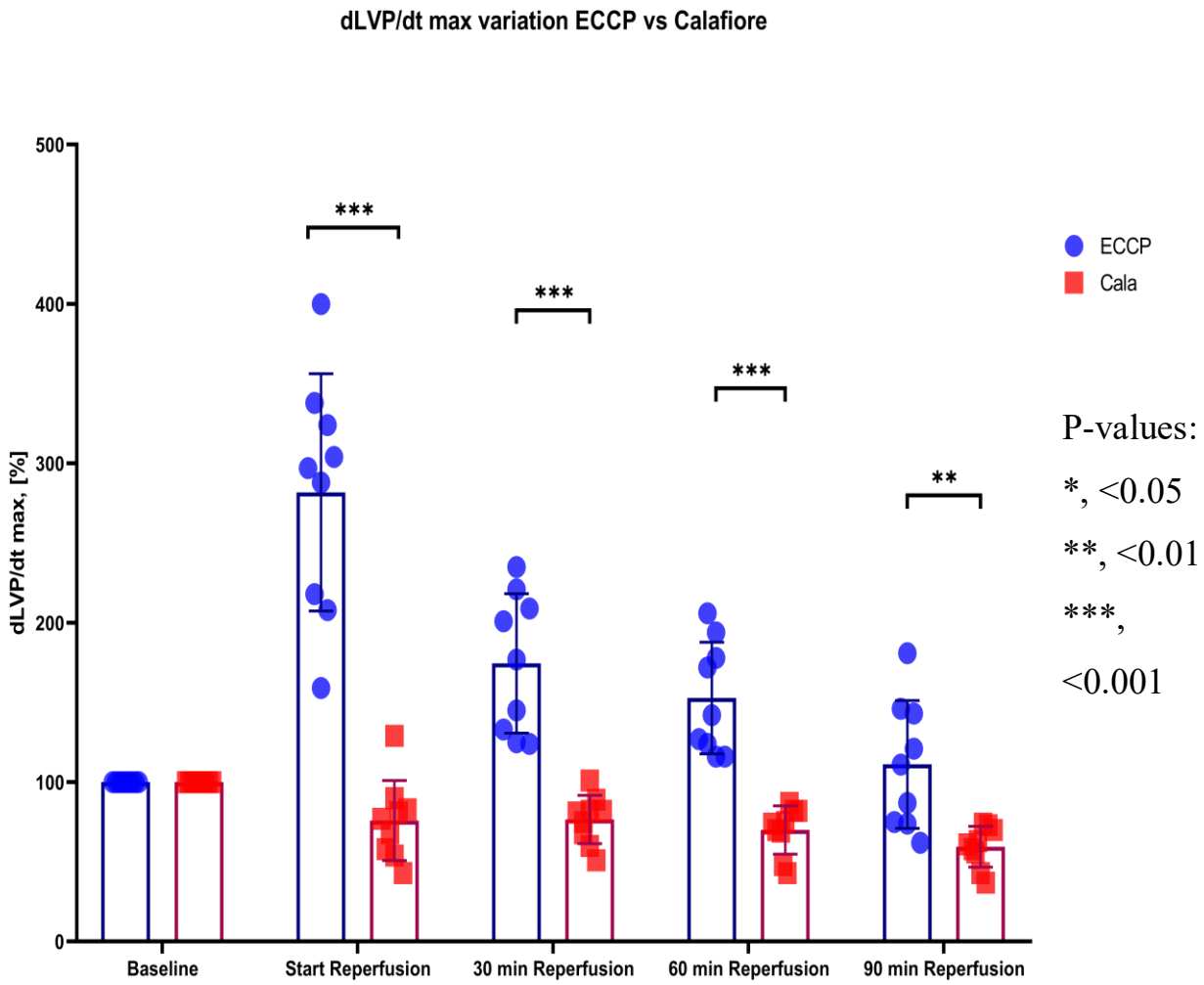

*Abbildung 12. Kontraktionsgeschwindigkeit der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD*

In dem dargestellten Graph misst der Parameter dLVP/dtmax die maximale linksventrikuläre Kontraktionsgeschwindigkeit. Neben der besseren Erholung der Herzen zeigte die ECCP-Gruppe auch während der gesamten Reperfusionsdauer eine signifikant höhere Kontraktionsgeschwindigkeit.

Relaxationsgeschwindigkeit (dLVP/dt$_{min}$)

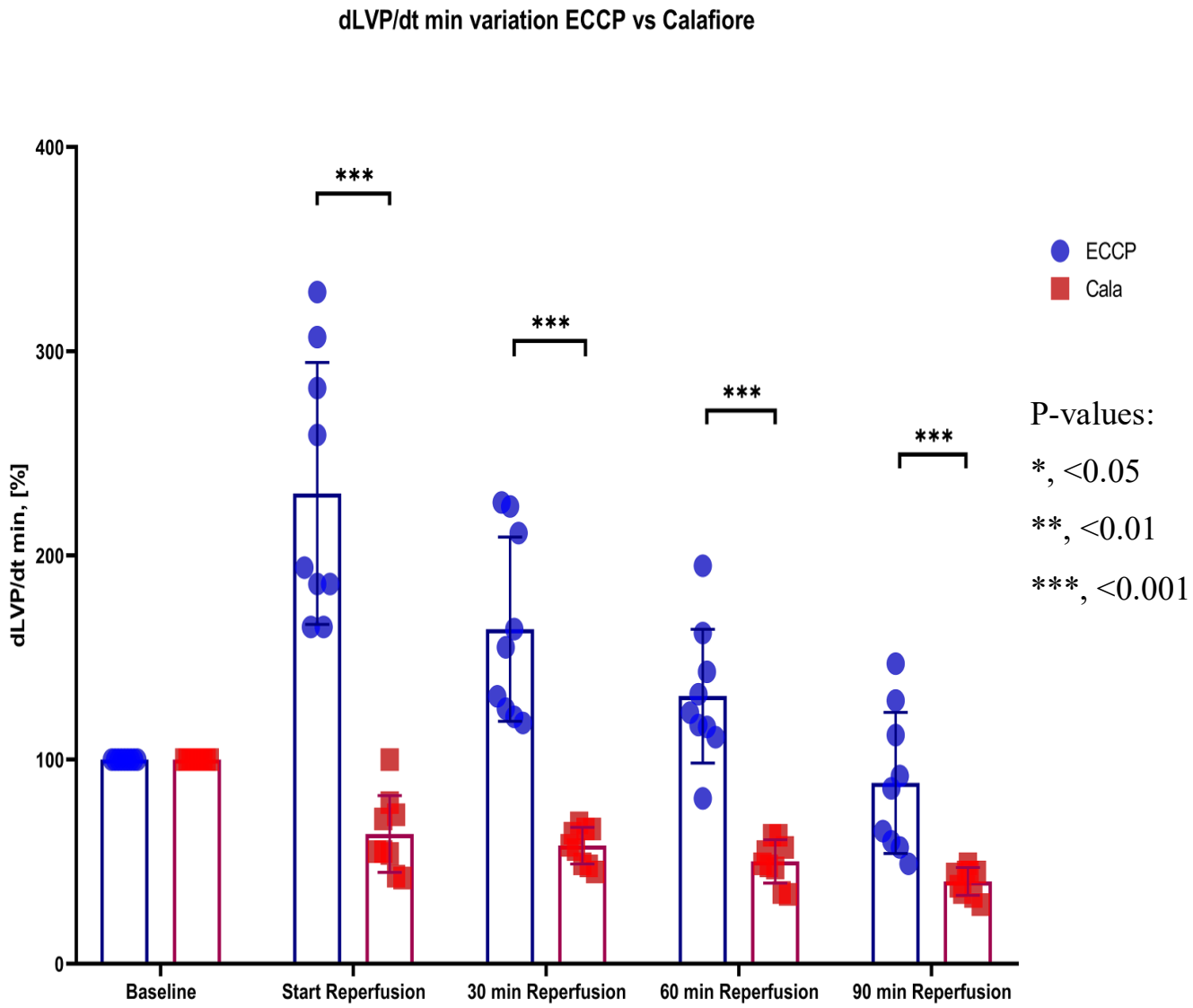

*Abbildung 13. Relaxationsgeschwindigkeit der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD*

Die aufgeführten Graphen zeigen die ermittelten Ergebnisse für **dLVP/dt$_{max.}$** und dLVP/dt$_{min,.}$ Die Myokardkontraktion und -relaxation waren in der ECCP-Gruppe deutlich besser mit (dLVP/dt max 111 % in der ECCP-Gruppe (SD 40) gegenüber 59 % in der Cala BCP-Gruppe (SD 13), dLVP/dt min 88 % in der ECCP-Gruppe (SD 34) und 40 % in der Cala BCP-Gruppe (SD 7) p= 0,002 bzw. p= 0,001.

Metabolische Parameter

Lactatproduktion (MLac)

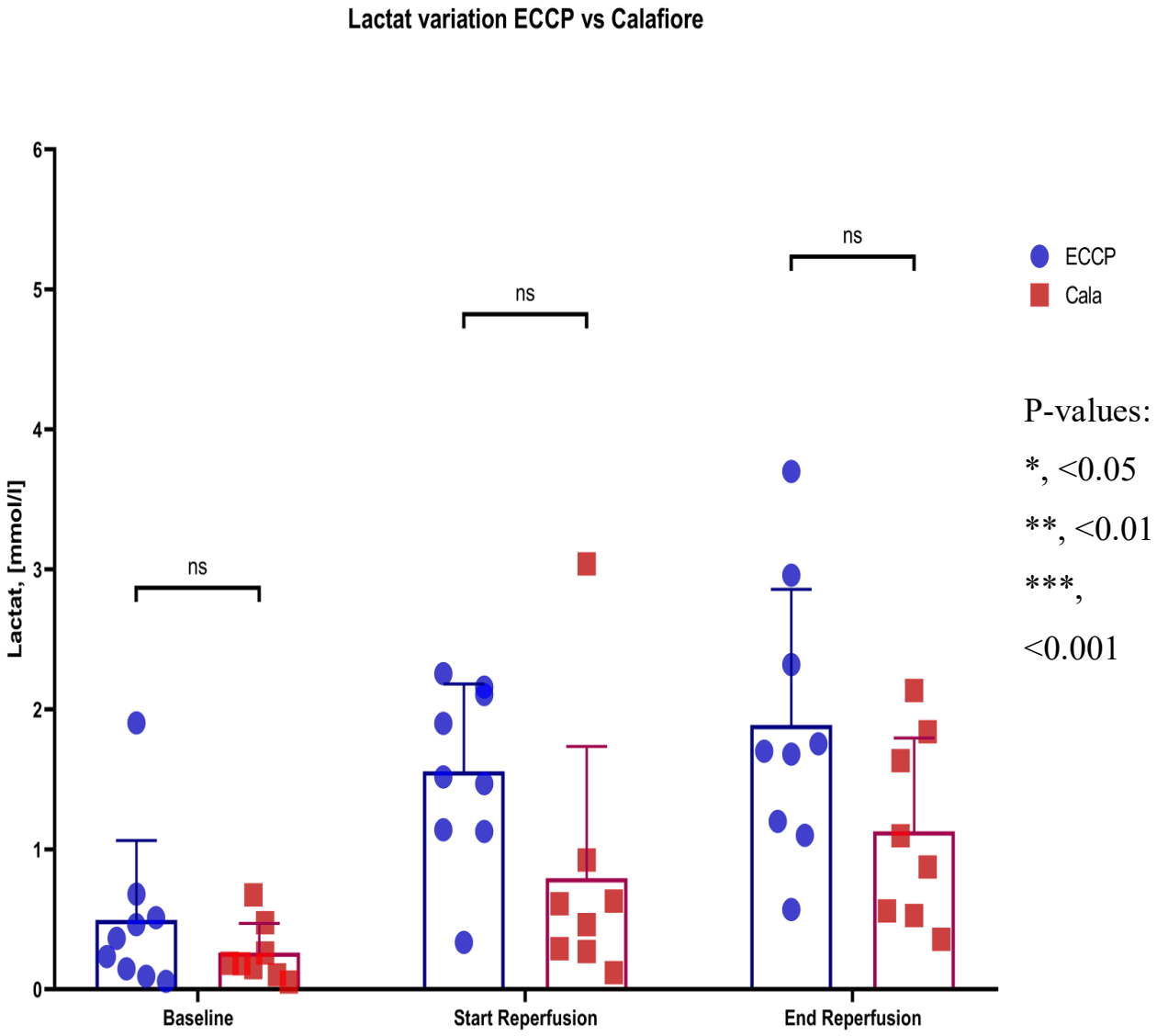

*Abbildung 14. . Laktatproduktion (mmol/ml) der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD*

Die Abbildung zeigt die gemessene Laktatproduktion in beide Gruppen. Zum Zeitpunkt der gesamten Reperfusion konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen detektiert werden. Am Ende der Reperfusion war die Laktatproduktion (ECCP 1,9 µmol/min (SD 1,0) Cala 1,1 µmol/min (SD 0,7) (p= 0,084) in beiden Gruppen ähnlich.

Sauerstoffverbrauch (MVO2)

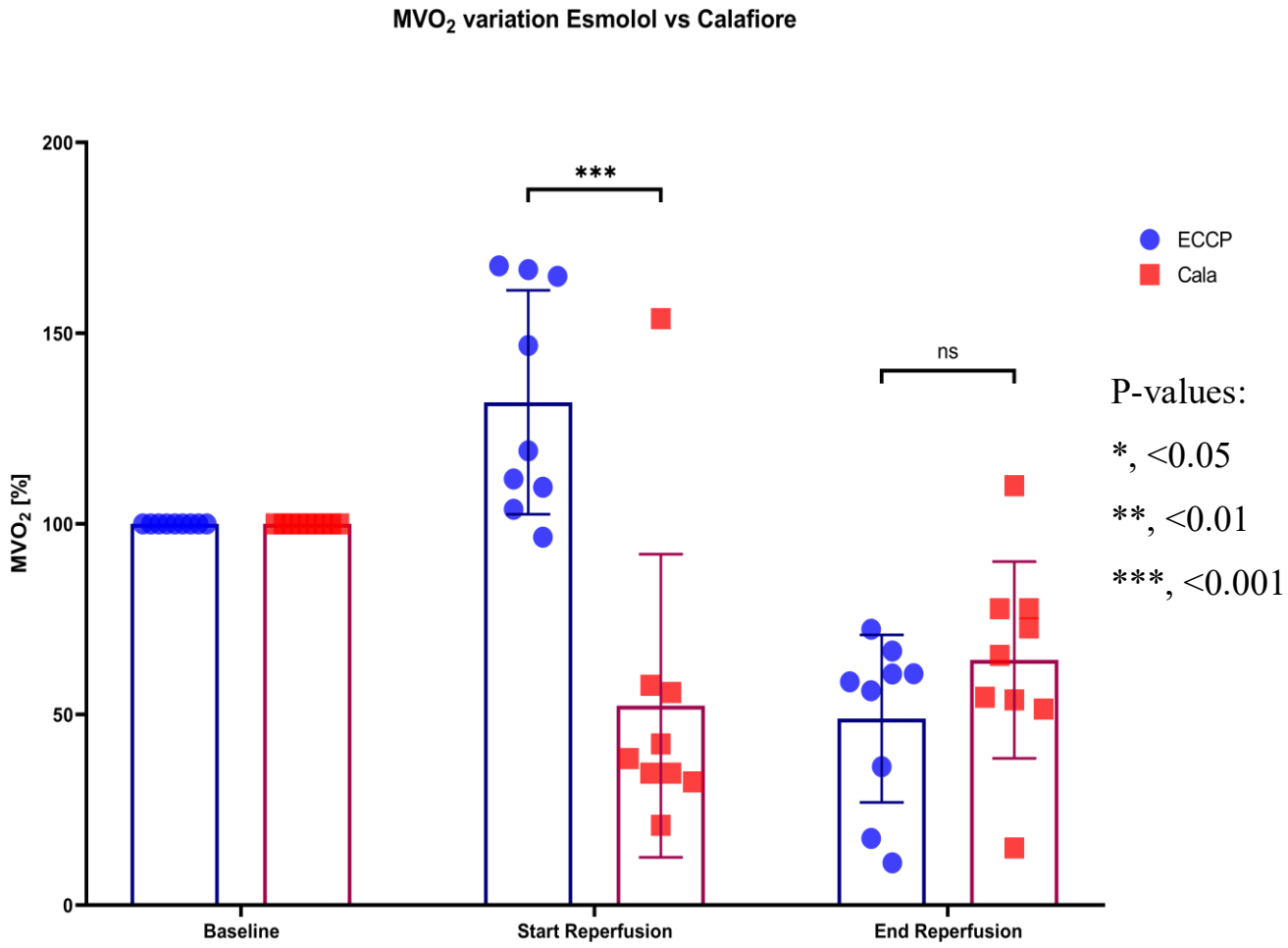

*Abbildung 15. Sauerstoffverbrauch MVO2 (%) der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD*

Die aufgeführte Graphik zeigt die ermittelten Ergebnisse für MVO2 in beiden Gruppen. Am Ende der Reperfusion konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Sauerstoffverbrauchs zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Entsprechend war der MVO2 am Ende der Reperfusion (ECCP 48,91 % BL (SD 21,97) mit Cala 64,29 % BL (SD 25,80) (p= 0,192) in beiden Gruppen ähnlich.

Biomarkern

Troponin I

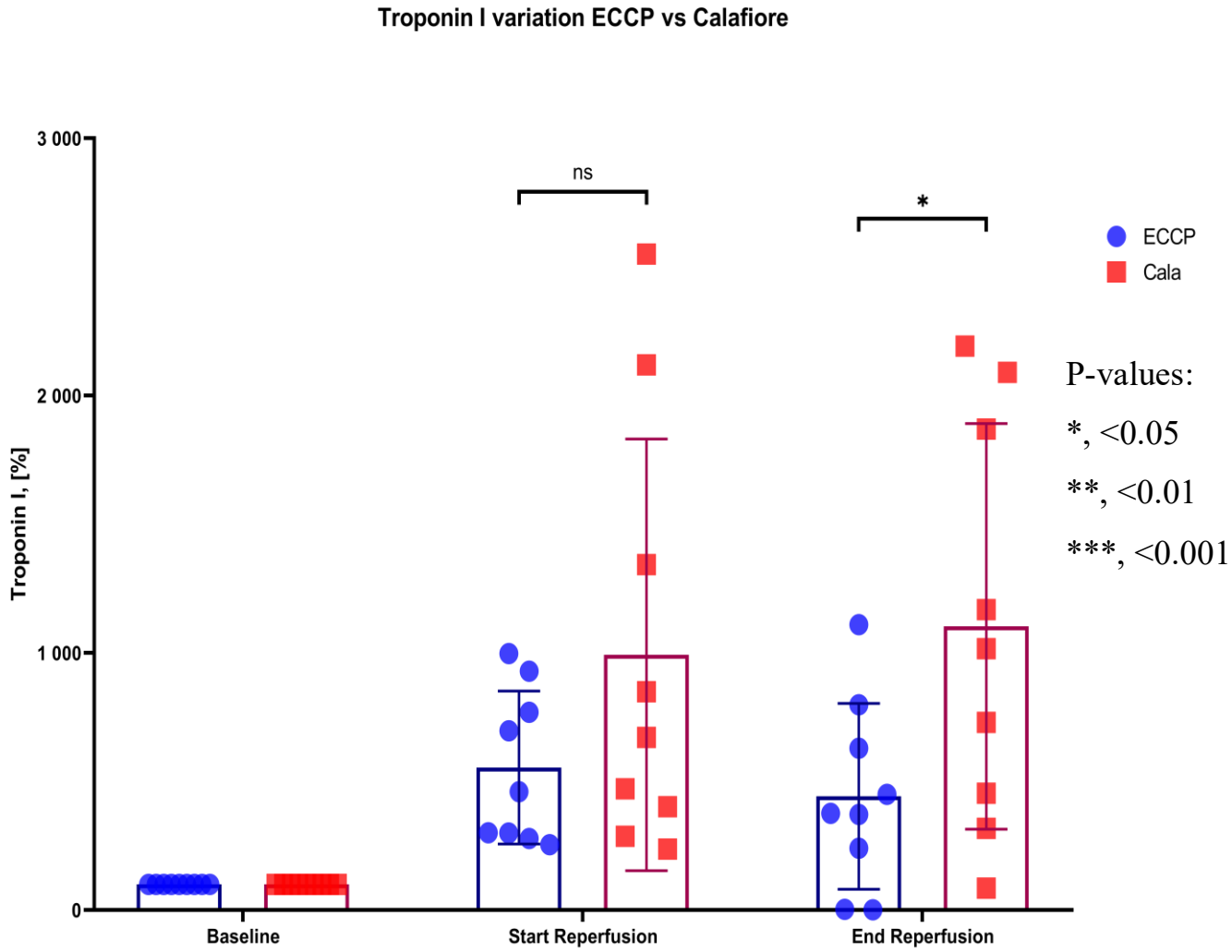

*Abbildung 16. Troponin I (%) der isolierten Herzen im Langendorff- Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD*

Die aufgeführte Graphik zeigt die ermittelten Ergebnisse für die Troponin I Werte. Zum Vergleichen wurden erst Differenzen der venösen und arteriellen Ergebnisse berechnet, dann Relativwerte kalkuliert und zur Baseline in Prozent normiert. Die Graphik stellt MW dar.

Bereits zu Beginn der Reperfusion, sowie am Ende konnten signifikante höhere Troponin I Werte in der Cala-Gruppe (Cala 1102.6 (SD 361.3) ng/ml vs ECCP 442.3 (SD 788.4) ng/ml, p=0.036) beobachtet werden, was möglicherweise auf Myokardschäden während der Ischämie-/Reperfusion zurückzuführen ist.

Elektronenmikroskopie

Zellulärer Ödemindex bzw. Cellular- öedema- index (CEI)

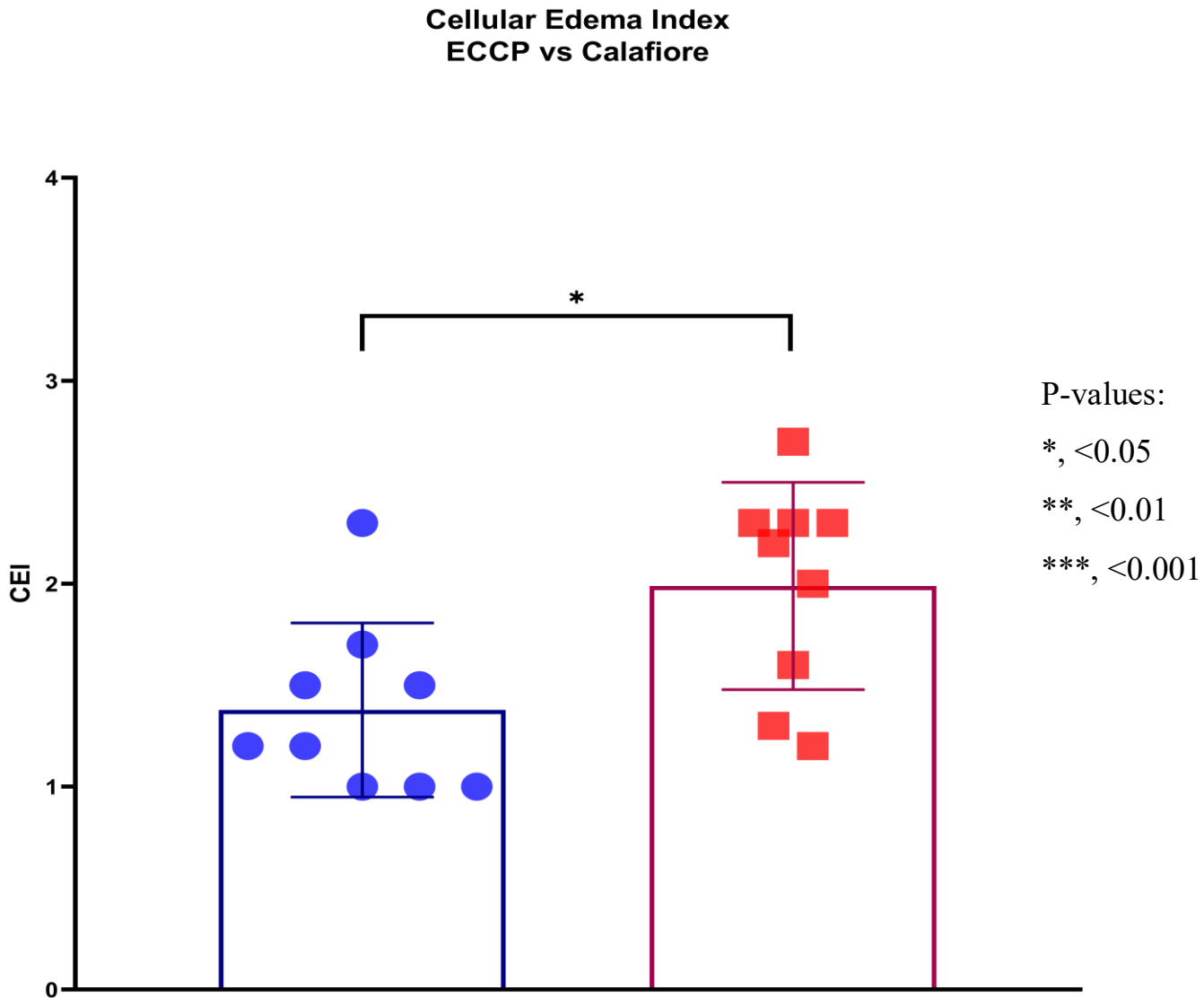

*Abbildung 17. . Zellulärer Ödemindex der isolierten Herzen im Langendorff- Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD*

Der abgebildete Graph zeigt den Zelluläreren Ödemindex in beiden Gruppen. Nach der Verwendung von Cala zeigte sich sowohl eine durch ein stärkeres Ödem bedingte myokardiale Zellschwellung als auch ein größeres Maß an mitochondrialern Veränderungen im Gegensatz zur Verwendung von ECCP. Ferner war der zelluläre ÖdemIndex (CEI) nach der Anwendung von Cala BCP signifikant höher (1,99 (SD 0,51)) im Vergleich zu ECCP (1,38 (SD 0,43)), p=0,014.

Volumen-Oberflächen-Verhältnis bzw. Volume-Surface-Ration (V/S Ratio)

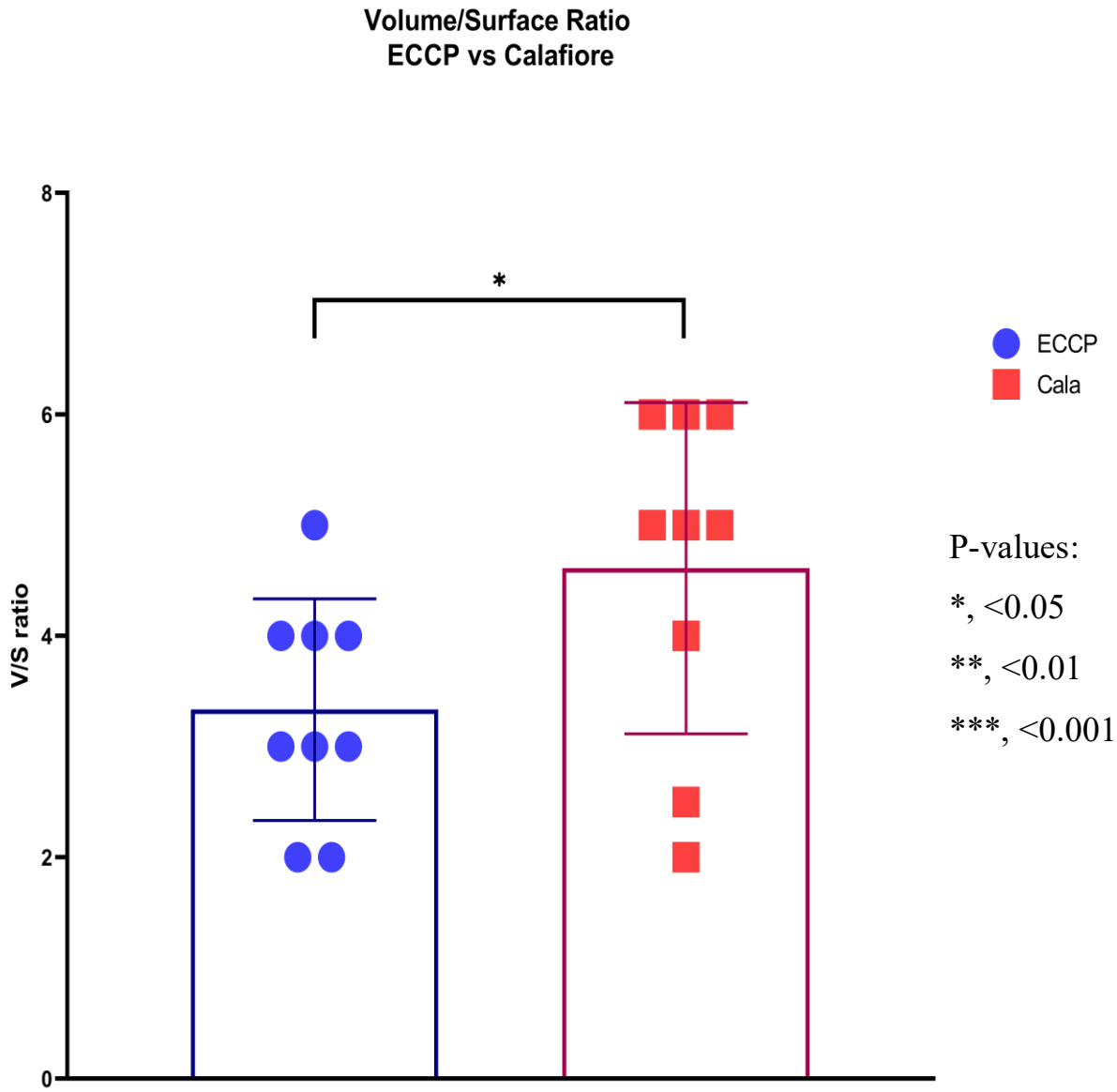

*Abbildung 18. Volumen-Oberflächen-Verhältnis der isolierten Herzen im Langendorff-Modell, P-Werte für den Vergleich: *, <0.05; **, <0.01; ***, <0.001. Die Werte sind Mittelwerte ± SD.*

Wie die Tabelle zeigt, konnte in der Cala-Gruppe konnte eine signifikant vermehrte intrazelluläre Volumenzunahme, oder auch Ödembildung beobachtet werden. Entsprechend war das Verhältnis des Volumens zur Oberfläche der Mitochondrien nach Cala BCP mit 4,61 (SD 1,50) signifikant höher als nach ECCP mit 3,33 (SD 1,00)

(p=0,49), was auf eine größere Schwellung der Mitochondrien nach Cala BCP durch Ischämie/Ischämie/Reperfusion schließen lässt.

Qualitative Auswertung Elektronenmikroskopie

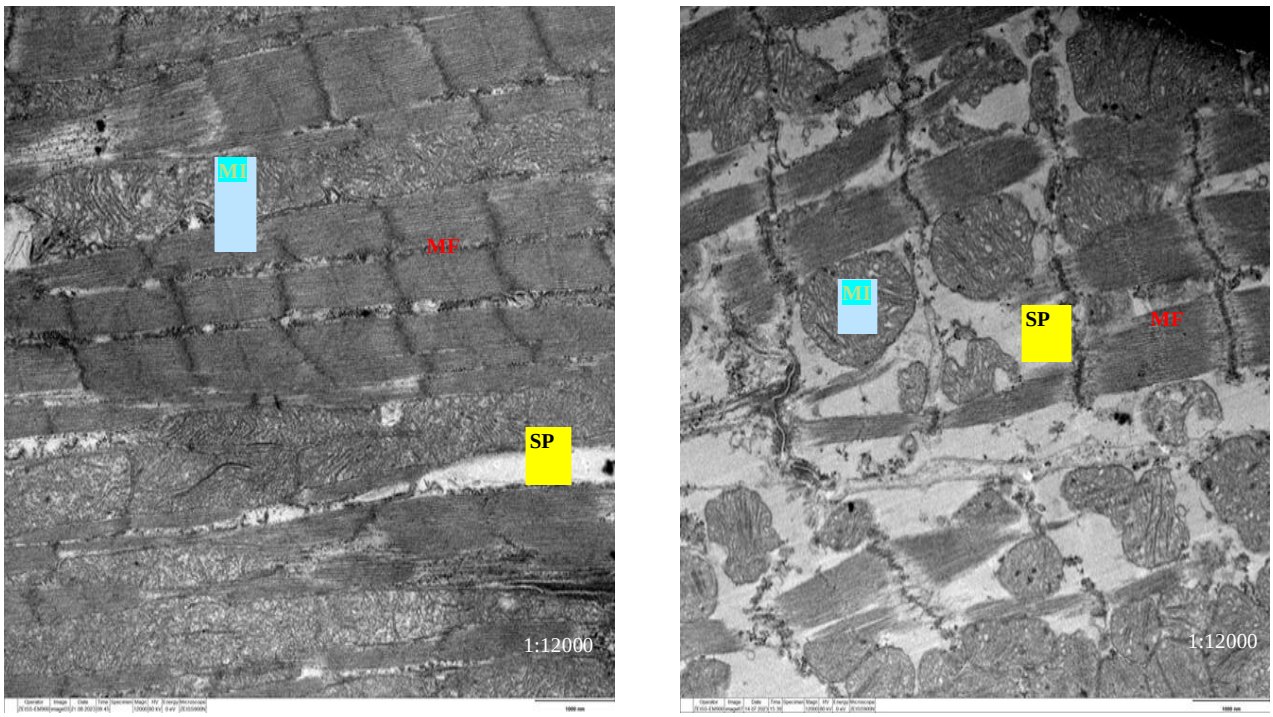

Abbildung 19. Übersicht repräsentativer Aufnahmen, Ultrastruktur von Kardiomyozyten, die mit zwei verschiedenen Kardioplegielösungen behandelt wurden. A: ECCP: ESMOLOL-KRISTALLOID-KARDIOPLEGIE. B: CALA: CALAFIORE-BLUT-KARDIOPLEGIE. VERGRÖßERUNG 1:12000; MI = MITOCHONDRIEN, MF = MYOFIBRILLEN, SP=SARKOPLASMA

Ultrastrukturelle Untersuchungen zeigen ein ausgeprägteres zelluläres Ödem in der Cala-Gruppe. Die vorhin erwähnten Ödemneigung/Volumenzunahme konnten wir auf zellulärer Ebene gut unter dem Elektronmikroskop beobachten. Hier sehen wir auf dem Bild das Herzgewebe nach Verwendung der ECCP-Lösung und rechts im Vergleich nach Cala –Gabe, wo zwischen den Zellen eine deutliche Ödembildung zu sehen ist. Die statistischen Berechnungen der quantitativen Auswertung ergaben signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Unterschiede zeigten sich auch bei den qualitativen Auswertungen. Die Struktur der Gruppen unterschied sich signifikant. Den besten strukturellen Zustand wiesen die Herzren in der ECCP-Gruppe auf. Teilweise

fanden sich elektronendichte Ablagerungen in den Mitochondrien in der Cala-Gruppe. Diese können als Kalzium-Phosphat-Präzipitate bezeichnet werden. Weiterhin zeigten sich in den Kernen dieser Gruppe deutliche Anzeichen für eine Kondensation des Chromatins. Eine deutlichere Schwellung der Mitochondrien mit desorganisierter Anordnung der Cristae konnte bei Verwendung von Cala beobachtet werden. In der Cala-Gruppe konnten sowohl Anzeichen von Chromatinkondensation innerhalb der Nuklei als auch Mitochondrien mit unregelmäßig angeordneten Cristae nachgewiesen werden.

Diskussion

Der Wirkmechanismus der β-Blocker ist schlussendlich bekannt. Sie antagonisieren die Bindung von Katecholaminen an β-Adrenozeptoren des Zellmembrankomplexes, wodurch die Anzahl aktivierter Kalziumkanäle und damit der Kalziumeinstrom vermindert werden. Die Folge ist eine Abnahme der Herzfrequenz und der Kontraktionsfähigkeit des Herzmuskels.

In einer Vielzahl von experimentellen und klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass ß-Blocker in der Lage sind, das Ausmaß der Schädigung des Herzmuskels sowohl während der Ischämie als auch während der Reperfusion zu reduzieren. [63]

Eine Gruppe von Ärzten unter der Leitung von S. Fazelifar aus Isfahan fanden im Jahr 2014 heraus, dass Patienten, die eine Kardioplegie mit Esmolol erhielten, einen geringeren postoperativen Bedarf an Inotropika hatten und eine Woche nach der Operation einen Anstieg der EF und des Herzzeitvolumens aufwiesen. Darüber hinaus war die Schädigung des Herzens während der Operation geringer und das Reizleitungssystem des Herzens bei den Patienten stabiler. [64]

Die meisten β-Blocker weisen eine langanhaltende negative inotrope Wirkung auf, was sie für die Verwendung in akuten Situationen, wie z.B. bei Herzoperationen, (R Bessho 1, 2001) ungeeignet macht. Esmolol, ein kardioselektiver β-adrenerger Blocker, hat jedoch eine außerst kurze Wirkungsdauer (Halbwertszeit von etwa 9 Minuten) (Wiest, 1995) Esmolol wurde erstmals 1992 eingesetzt, um den Herzmuskelschutz bei Herzoperationen zu verbessern. [65] In der Vergangenheit hat sich gezeigt, dass Esmolol in hohen Konzentrationen einen Herzkammerstillstand auslösen kann. Pirk et al. zeigten, dass eine Konzentration von 250 mg/l Esmolol (ca. 0,7 mmol/l) optimal für den Herzstillstand bei Ratten war, während 500 mg/l (ca. 1,4 mmol/l) die

Herzfunktionserholung (Auswaschung) verminderte. Ryuzo Bessho, M.D. und sein Team beobachteten vergleichbare Effekte bei einer optimalen Arrestdosis von 1,0 mmol/l. Für den atrialen Arrest war jedoch eine höhere Dosis (3,0 mmol/l) erforderlich, was jedoch zu einer ventrikulären Dysfunktion während des Auswaschens führte. [66] Wir haben bereits gezeigt, dass ECCP bei Rattenherzen mit 90 Minuten Aortenklemmzeit myokardioprotektiver ist als Cala. Dieses Ergebnis konnten wir in unserer aktuellen Studie mit einer Aortenklemmzeit von 120 Minuten erneut bestätigen: Eine bessere hämodynamische Erholung, niedrigere Troponinwerte und ein geringeres ischämisches Ödem nach ECCP und 90 Minuten Reperfusion lassen auf eine bessere myokardiale Protektion im Vergleich zu Cala schließen [45] Diese Unterschiede zwischen den beiden Kardioplegie-Lösungen lassen sich durch die zugrundeliegenden Mechanismen erklären, die bei der Herbeiführung des Herzstillstands eine Rolle spielen: Während Cala eine Lösung auf Kaliumbasis ist, die zu einem depolarisierten diastolischen Stillstand führt (Membranpotenzial um -40mV), ist Esmolol ein kurzwirksamer b-Blocker, der einen diastolischen Stillstand mit nahezu normalem Ruhemembranpotenzial (um -70mV) bewirkt. Ab einem extrazellulären Kaliumspiegel von ca. 30 mmol/l werden Ca2+-Kanäle aktiviert und es kommt zu einer Ca2+-Aufnahme in die Myozyten mit der Gefahr einer Ca2+-Überladung, die bekanntermaßen zu einem erhöhten myokardialen Sauerstoffverbrauch und einer ischämischen Reperfusionsschädigung führt. [67] In einer klinischen Studie wurde dagegen der myokardiale Sauerstoffverbrauch unter Esmolol gesenkt und die Sauerstoffausnutzung verbessert. [42]

Trotz der Tatsache, dass Hypothermie die Toleranz des Gewebes in der Regel gegensatz zu Ischämie verbessert, haben wir beide Lösungen bei hohenTemperaturen (36 °C, Cala) oder bei lauwarmen Temperaturen (32 °C, ECCP) appliziert. Der erste Grund ist, dass wir in einer früheren Studie festgestellt haben, dass eine warme Cala-Anwendung zu höherem LVdP und geringerem zellulären Ödem führt [49] Zweitens gaben Nishina und Chambers [69] 32°C als ideale Temperatur für Esmolol CCP an. Überdies untersuchten Melendez et al. [39] Esmolol im menschlichen Vollblut bei Temperaturen zwischen 37°C und 4°C und beobachteten eine Zunahme der Halbwertszeit von Esmolol von 19,6 (SD 3,8) min bei 37°C auf 226 (SD 60) Min bei 4°C. Obwohl in den Studien von Jacobs et al. [70] und Cork et al. [68] höhere Konzentrationen von Esmolol verwendet wurden als in der vorliegenden Studie, führten der Konzentrationsanstieg und die Verlängerung der Halbwertszeit durch die Hypothermie in diesen beiden

Studien nicht zu nachteiligen Effekten von Esmolol. Die Anwendung der Esmolol-Kardioplegie weist somit ein hohes Maß an Sicherheit auf. In einer großen Tierstudie verglichen Aass et al [71] Esmolol und St. Thomas mit Blutkardioplegie und fanden eine verbesserte Myokardkontraktilität nach der Esmolol-Kardioplegie. In unserer früheren Studie fanden wir heraus, dass die Calafiore-Blutkardioplegie Esmolol-Kardioplegielösungen unterlegen war, aber die Esmolol-Blutkardioplegie einer Esmolol-Kristalloidlösung nicht überlegen war.

In einer ähnlichen Studie an Rattenherzen wie der unsrigen beschrieben Fuji und Chambers [63] eine gute Wirksamkeit der Kardioplegie mit Esmolol nach prolongierter Ischämie. Allerdings war in ihrer Studie die prolongierte Ischämiezeit mit 60 Minuten nur halb so lang wie in unserer Studie. Diese Studie zeigt, dass ECCP eine verbesserte hämodynamische Erholung nach 120 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion ermöglicht. Zudem bietet ECCP einen besseren Schutz der Myokardzellen vor ischämie- und reperfusionsbedingten Schäden. Darüber hinaus trägt die Anwendung von ECCP dazu bei, mitochondriale Schädigungen zu reduzieren.

Nach 90 Minuten Reperfusion zeigten die Herzen in der Esmolol-Gruppe signifikant höhere hämodynamische Parameter und den Herzzeitvolumen (CF) im Vergleich zur Cala BCP-Gruppe. Dies deutet auf eine bessere Herzerholung und Kontraktilität in der Esmolol-Gruppe hin. Da der LVDP-Wert (linksventrikulärer Druck) für die Herzerholung dissoziiert ist, sind die Parameter dLVP/dtmin und dLVP/dtmax entsprechend Indikatoren für Lusitropie (Entspannung) und Inotropie (Kontraktionskraft), was die gesamte Herzmuskelfunktion widerspiegelt.

Laktat ist ein bedeutendes, bekanntes Stoffwechselprodukt, das eine zentrale Rolle bei der Beurteilung der Sauerstoffversorgung von Muskelzellen und anderen Geweben spielt. Wenn die Zellen unter Sauerstoffmangel arbeiten müssen, aktivieren sie die Glykolyse, auch bekannt als anaerober Stoffwechselweg. Dabei wird Glukose in Energie umgewandelt und Laktat als Nebenprodukt gebildet. Heutzutage wird der Laktatspiegel im klinischen Alltag häufig gemessen, um den Gesundheitszustand von Patienten zu überwachen. Ein erhöhter Laktatwert kann auf eine unzureichende Sauerstoffversorgung oder andere Stoffwechselstörungen hinweisen.

Diese Interpretation passt jedoch nicht zu den in unserer Arbeit gemessenen Lactatproduktionswerten. Die Laktatproduktion war am Ende der Reperfusion in beiden Gruppen ähnlich.

Ein weiterer metabolischer Messparameter in unserer Arbeit ist der myokardiale Sauerstoffverbrauch. Ein niedriger Wert in einer Messprobe kann ein Alarmzeichen für Ischämie oder Gewebestörungen sein. Das kann entweder bedeuten, dass der benötigte Sauerstoff nicht zu den Organen transportiert werden kann, oder dass sich das Gewebe in einem Schockzustand befindet und mehr Sauerstoff benötigt.
In der Cala-Gruppe war der myokardiale Sauerstoffverbrauch jedoch signifikant niedriger als in der ECCP-Gruppe.
Wir haben versucht in unserer Arbeit die klinischen Bedingungen in Bezug auf Temperatur, Anwendung und Zusammensetzung der Kardioplegielösungen realitätsgetreu zu imitieren. Für die Durchführung der Versuche wurden vom Organismus isolierte Rattenherzen und nicht das ganze Tier verwendet.
wurden. Während der gesamten Studie wurde die gleiche Apparatur mit ähnlicher Vorbereitung der Lösungen verwendet. Deshalb konnte der höhere myokardiale Sauerstoffverbrauch in der ECCP-Gruppe mit den besseren kardioprotektiven Eigenschaften erklärt werden.
Die Enzymdiagnostik kann bei der Diagnose des Myokardinfarkts hilfreich sein, aber der positive Troponintest ist die Definition des Myokardinfarkts. Troponin I und T (hsTn= hochsensitives Troponin) sind die sensitivsten Marker für eine Schädigung des Herzmuskels, jedoch nicht spezifisch für die Ursache der Schädigung. Troponin ist kein Frühmarker, steigt 4-6 Stunden nach Herzmuskelschädigung (nicht Ischämie) an und bleibt in der Regel 2 Wochen erhöht, wobei im Verlauf ein Abfall zu beobachten ist.
Die am Ende der Reperfusion in den Cala-Herzen gemessenen Troponin I-Werte waren höher als in den ECCP-Herzen. Kardiales Troponin I und kardiales Troponin T sind heute die wichtigsten Biomarker für die Labordiagnose des akuten Myokardinfarkts, da sie eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität für Myokardschäden aufweisen. [73]
Die ultrastrukturelle Integrität wies zusätzlich auf ein ausgeprägteres zelluläres Ödem am Ende der Reperfusion in der verwendeten Cala-Gruppe hin. Während der Ischämie konnte eine erhöhte Flüssigkeitsaufnahme in den Zellen beobachtet werden, insbesondere in den für die Energieproduktion zuständigen Mitochondrien. Infolge dessen war auch das Volumen-Oberflächen-Verhältnis der Mitochondrien in der verwendeten Cala-Gruppe hoch. Die Mehrheit der Mitochondrien war unter dem Elektronenmikroskop strukturell gestört beobachtet.

Die Stichprobengröße ist bei dieser experimentellen Studie begrenzt. Angesichts dessen lassen die Ergebnisse keine endgültigen Schlüsse zu, sondern sollten eher als explorativ und zur Generierung von Hypothesen interpretiert werden.
Unsere Ergebnisse wurden aus isolierten gesunden Rattenherzen gewonnen. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Menschen mit vorbestehenden Herzerkrankungen ist daher unklar. Obwohl wir die klinische Umgebung in Bezug auf die Anwendungstemperatur und die Mischung der Kardioplegie in einem isolierten Herzen, das mit einer Erythrozytensuspension perfundiert wurde, imitiert haben, können die Einflüsse eines ganzen Körpers auf den Herzmuskel und den Blutstoffwechsel nicht nachgeahmt werden. Die isolierte Organperfusion hingegen eliminiert alle Umwelteinflüsse und ermöglicht es, die Auswirkungen von Kardioplegielösungen auf die isolierte Herzfunktion zu beurteilen, ohne von anderen Organsystemen gestört oder durch hormonelle Wechselwirkungen beeinflusst zu werden.
Die Ergebnisse unserer experimentellen Studie deuten darauf hin, dass die kardioprotektiven Eigenschafften von ECCP in Rattenherzen Blutkardioplegia mit Cala überlegen sind.
Wie schon erwähnt wurde das Zielorgan der vorliegenden Arbeit trotz anatomischer Unterschiede das Herz der Wistar-Ratten. Anatomische Unterschiede zwischen den Herzen von Mäusen und Menschen finden sich vorwiegend in Hinblick auf die Blutgefäßversorgung. Beim Menschen ist die *arteria coronaria sinistra* mit ihrem *ramus interventricularis anterior* der im linterventrikulären Septum liegt, das für die kardiale Durchblutung bedeutendste Gefäß. Beim Mäuseherzen ist eine linke und eine rechte Koronararterie ausgebildet. Das Septum wird manchmal von einer Septalarterie versorgt. Die Septalarterie ist ein Ast der rechten Koronararterie. [75]
Im Jahr 1981 wurde die erste transgene Maus in der Literatur beschrieben und wenige Jahre später, 1996, war der genetische Plan der Maus komplett identifiziert worden. Das menschliche und das murine Genom sind zu ca. 85% identisch [74].
Die Auswirkungen der Okklusion und der nachfolgenden Ischämie zwischen dem Menschen und der Maus sind vergleichbar. Das Mausinfarktmodell ist gut untersucht und allgemein anerkannt. [75]
Allerdings durchgeführte vorherige Studien haben die Verwendung von Esmolol bei Blutkardioplegie kritisch gesehen, da es durch Esterasen im Blut inaktiviert werden kann. Daher sind weitere Studien notwendig, um die Bedeutung dieses Effekts zu klären und zu prüfen, ob diese Kardioplegielösung praktisch anwendbar ist [76] Im Gegensatz

dazu konnten wir zeigen, dass eine auf Esmolol basierende kristalloide Kardioplegie während der Ischämie und der anschließenden Reperfusion signifikanten Unterschiede in den funktionellen und metabolischen Parametern im Vergleich zur hyperkaliämischen Kardioplegie aufweist. Das spricht dafür, dass diese Methode grundsätzlich anwendbar ist. Damit es jedoch seinen berechtigten Platz in der modernen Herzchirurgie einnehmen kann, müssen die Versuche fortgesetzt werden, und sobald es eine ausreichende Sicherheit erlangt hat, müssen klinische Versuche am Menschen durchgeführt werden.

Zusammenfassung

Hintergrund: Zahlreiche Kardioplegie-Lösungen wurden zum Schutz des Herzmuskels während herzchirurgischer Eingriffe entwickelt. In der vorliegenden Arbeit werden die hämodynamische Leistung, der myokardiale Stoffwechsel und die ultrastrukturelle Erhaltung von Rattenherzen nach der Anwendung einer kristalloiden, auf Betablockern basierenden Formel namens Esmolol-Kristalloid-Kardioplegie (ECCP) und Calafiore-Blut-Kardioplegie (Cala) verglichen.

Materialien und Methoden: Die Herzen von 18 Wistar-Ratten wurden entnommen und in einen blutperfundierten isolierten Herzapparat (Langendorf-Perfusion) eingesetzt. Während der 120-minütigen Ischämie erhielten die Herzen alle 20 Minuten ECCP oder Cala. Während der 90-minütigen Reperfusion wurden kardiale Funktionsparameter aufgezeichnet, darunter der koronare Blutfluss, der linksventrikuläre Druck (LVDP) und die Geschwindigkeit der Myokardkontraktion bzw. -relaxation (+/-dp/dt). Der Sauerstoffverbrauch und die Laktatproduktion der Herzen wurden berechnet und der Troponin I-Spiegel gemessen. Nach der Perfusionsfixierung wurden die Herzen mittels Morphometrie und Transmissionselektronenmikroskopie auf zelluläre Ödeme und mitochondriale Schäden untersucht.

Ergebnisse: Die Baseline-Werte (BL) des linksventrikulären Drucks (LVDP), des Koronarflusses (CF) und der Geschwindigkeit der Myokardkontraktion bei Entspannung (+/-dp/dt) waren in beiden Gruppen ähnlich. Nach 90 Minuten Reperfusion waren die hämodynamischen Parameter in der Esmolol-Gruppe signifikant höher, bzw. der CF in der ECCP-Gruppe 85% (SD 43) im Vergleich zu 42% (SD 24) in der Cala BCP-Gruppe (p =0,002). Am Ende der Reperfusion zeigten die Herzen, die

ECCP ausgesetzt waren, höhere LVDP (91%) (SD 40) Werte, was auf eine bessere kardiale Erholung unter ECCP im Vergleich zu Cala (43 %) (SD 10) hinweist. Die Myokardkontraktion und -relaxation waren in der ECCP-Gruppe deutlich besser mit (dLVP/dt max 111% in ECCP (SD 40) vs. 59% in Cala (SD 13), dLVP/dt min 88 % in der ECCP-Gruppe (SD 34) und 40 % in der Cala-Gruppe (SD 7) p= 0,002 bzw. p= 0,001. Außerdem war die Laktatproduktion am Ende der Reperfusion (ECCP 1,9 µmol/min (SD 1,0) Cala 1,1 µmol/min (SD 0,7) (p= 0,084) in beiden Gruppen ähnlich, aber der myokardiale Sauerstoffverbrauch war in der Cala-Gruppe mit 15,9 % (SD 1,741) niedriger als in der ECCP-Gruppe mit 32,4 % (SD 0,742) (p= 0,010). Die am Ende der Reperfusion in den Cala-Herzen gemessenen Troponin I-Werte waren höher als in den ECCP-Herzen (Cala 1102 ng/ml gegenüber ECCP 442 ng/ml). Zusätzlich wies die ultrastrukturelle Integrität auf ein ausgeprägteres zelluläres Ödem in der verwendeten Cala-Gruppe hin.

Schlussfolgerung: Bei Rattenherzen bietet ECCP eine bessere hämodynamische Erholung als Cala, sowie einen besseren Schutz vor Ischämie/Reperfusion-bedingten Schäden.

Summary

Objectives: Numerous cardioplegia solutions have been developed for myocardial protection during cardiac surgery. We compared hemodynamic performance, myocardial metabolism and ultrastructural preservation in rat hearts after the application of a crystalloid- based, beta- blocker based formula called esmolol crystalloid cardioplegia (ECCP) and Calafiore blood cardioplegia (Cala)

Materials and Methods: The hearts of 18 Wistar rats were excised and inserted into blood- perfused isolated heart apparatus (Langendorf perfusion). During 120 min. of ischemia, hearts received ECCP or Calaevery 20 min. During 90 minutes of reperfusion, cardiac functional parameters were recorded, including coronary blood flow, left ventricular developed pressure (LVDP) and velocity of myocardial contraction or relaxation (+/-dp/dt). Oxygen consumption and lactate production of the hearts were calculated and Troponin I levels were measured. After perfusion fixation, the hearts were investigated for cellular oedema and mitochondrial damage by morphometry using transmission electron microscopy.

Results: Baseline (BL) values of left ventricular developed pressure (LVDP), coronary flow (CF) and velocity of myocardial contraction of relaxation (+/-dp/dt) were similar in both groups. After 90 min. of reperfusion, hemodynamic parameters were significantly higher in the Esmolol group, respectively CF in ECCP 85% (SD 43) vs in Cala BCP group 42% (SD 24) (p =0,002). At the end of reperfusion, hearts exposed to ECCP revealed higher - LVDP (91%) (SD 40) values indicating improved cardiac recovery under ECCP compared to Cala (43 %) (SD 10) - myocardial contraction and relaxation were notably better in ECCP group (dLVP/dt max 111% in ECCP (SD 40) vs 59% in Cala (SD 13), dLVP/dt min 88% in ECCP group (SD 34) and 40 % in Cala group (SD 7) respectively p= 0,002 and p= 0,001. In additionally, at the end of reperfusion lactate production (ECCP 1,9 µmol/min (SD 1,0) Cala 1,1 µmol/min (SD 0,7) (p= 0,084) was in similar in both groups but myocardial oxygen consumption in the Cala group was lower 15,9 % (SD 1,741) than in the ECCP group 32,4 % (SD 0,742), (p= 0,010). Troponin I levels measured in Cala hearts at the end of reperfusion were higher than in ECCP hearts (Cala 1102 ng/ml vs ECCP 442 ng/ml). Moreover, ultrastructural integrity indicated more pronounced cellular oedema in the Cala group used.

Conclusion: In rat hearts, ECCP offers better hemodynamic recovery and better protection from ischemia/reperfusion-related damages better than Cala.

Kongressbeitrage

53rd Annual Meeting of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery (DGTHG)

Experimental evaluation of Esmolol- crystalloid cardioplegia compared to blood cardioplegia with Calafiore in rat hearts.

Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten 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 dem Grundsatze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Kontext des mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.

_____ _____

Ort, Datum Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich zuerst bei Herrn Prof. Dr. med. Böning für die das interessante Thema, die unkomplizierte Übernahme der Erstbetreuung und die umfangreiche sowie hilfreiche Unterstützung in allen Phasen meiner Doktorarbeit bedanken.

Ich möchte mich auch bei Herrn Dr. med. Taghiyev für seine Freundschaft und Verfügbarkeit bedanken, für sein offenes Ohr und seine Hilfe trotz der vielen Arbeit, die er selbst im klinischen Alltag noch zu leisten hatte. Vielen Dank auch für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Frau Martina Heep, die im Labor eine große und wertvolle Unterstützung war und durch ihre motivierte und engagierte Arbeit wesentlich dazu beigetragen hat, dass die Datenerhebung erfolgreich und ohne Verzögerungen durchgeführt werden konnte, sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

Dem Institut für Anatomie der Justus-Liebig-Universität Gießen, Abteilung Elektronenmikroskopie, insbesondere der Arbeitsgruppe von Herrn Dr. Gärtner, bin ich für die Möglichkeit der Nutzung der Laborräume und die Mitbenutzung der Geräte zur Herstellung und Auswertung der Herzschnitte sowie für die Einweisung in das Transmissionselektronenmikroskop zu Dank verpflichtet.

Meinem Mann, Herrn Chapugi, möchte ich an dieser Stelle ganz besonders für seine Unterstützung danken. Danke, dass du immer an mich geglaubt und mich in schwierigen Zeiten ermutigt hast.

Publikationsverzeichnis

Chapugi, B., Heep, M., Gärtner, U., Böning, A., Niemann, B. & Taghiyev, Z. (2024). Experimental Evaluation of Esmolol-Crystalloid Cardioplegia Compared to Blood Cardioplegia with Calafiore in Rat Hearts. The Thoracic And Cardiovascular Surgeon. https://doi.org/10.1055/s-0044-1780569

Literaturverzeichnis

1. Seiden JE, Platoshyn O, Bakst AE, McDaniel SS, Yuan JX. High K+-induced membrane depolarization attenuates endothelium-dependent pulmonary vasodilation. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2000;278(2):L261–L267. doi:10.1152/ajplung.2000.278.2.l261.

2. Murati T, Miletić M, Pleadin J, Šimić B, Kmetič I. Cell membrane-related toxic responses and disruption of intercellular communication in PCB mechanisms of toxicity: A review. J Appl Toxicol. 2020;40(12):1592–1601. doi:10.1002/jat.4019.

3. Ingwall JS. Energy metabolism in heart failure and remodelling. Cardiovasc Res. 2008;81(3):412–419. doi:10.1093/cvr/cvn301.

4. Chiong M, Wang Z, Pedrozo Z, Cao DJ, Troncoso R, Ibacache M, et al. Cardiomyocyte death: mechanisms and translational implications. Cell Death Dis. 2011;2(12):e244. doi:10.1038/cddis.2011.130.

5. Chen P, Joung B, Shinohara T, Das M, Chen Z, Lin SF. The initiation of the heart beat. Circ J. 2010;74(2):221–225. doi:10.1253/circj.cj-09-0712.

7. Boussouf SE, Geeves MA. Tropomyosin and troponin cooperativity on the thin filament. Adv Exp Med Biol. 2007;592:99–112. doi:10.1007/978-0-387-39975-1_10.

8. Alexi-Meskishvili V, Böttcher W. Suturing of penetrating wounds to the heart in the nineteenth century: The beginnings of heart surgery. Ann Thorac Surg. 2011;92(5):1926–1931. doi:10.1016/j.athoracsur.2011.07.056.

9. Van Thielen J, Van Hee R. Pericardiotomy: the first cardiac operation. Acta Chir Belg. 2008;108(1):133–138. doi:10.1080/00015458.2008.11680194.
10. Farghaly L. Die Geschichte der Herzchirurgie der Heinrich- Heine- Universität Düssseldorf [Dissertation]. Düsseldorf; 2022

11. Aubin H, Lichtenberg A, Boeken U. Entwicklung der Herzchirurgie in den letzten 6 Jahrzehnten. Z Herz Thorax Gefasschir. 2021;36(1):47–52. doi:10.1007/s00398-021-00475-6.

12. Chain E, Florey HW, Gardner AD, Heatley NG, Jennings MA, Orr-Ewing J, et al. The classic: Penicillin as a chemotherapeutic agent. Clin Orthop Relat Res. 2005;(439):23–26. doi:10.1097/01.blo.0000183429.83168.07.

13. Meisner H. Milestones in surgery: 60 years of open heart surgery. Thorac Cardiovasc Surg. 2014;62(8):645–650. doi:10.1055/s-0034-1384802.

14. Ziemer G, Haverich A. Herzchirurgie 3. Auflage, Springer, Berlin Heidelberg 2010; S.520.

15. Bigelow WG, Lindsay WK, Greenwood WF. Hypothermia: Its possible role in cardiac surgery: An investigation of factors governing survival in dogs at low body temperatures. Ann Surg. 1950;132(5):849–866. doi:10.1097/00000658-195011000-00001.

16. Drew CE, Anderson I. Profound hypothermia in cardiac surgery. Lancet. 1959;273(7076):748–750. doi:10.1016/S0140-6736(59)91825-2.

17. Zenker R, Heberer G, Gehl H, Borst H, Beer R, Yeh YH. Zur Aufrechterhaltung der Organfunktionen und des Stoffwechsels im extrakorporalen Kreislauf. Langenbecks Arch Chir. 1958;289:294–309. doi:10.1007/BF02432558.

18. Feindt P, Harig F, Weyand M, editors. Empfehlungen zum Einsatz und zur Verwendung der Herz-Lungen-Maschine. Heidelberg: Steinkopff; 2006. ISBN 978-3-7985-1504-8.

19. Cordell AR. Milestones in the development of cardioplegia. Ann Thorac Surg. 1995;60(3):793–796. doi:10.1016/0003-4975(95)00570-B

20. Cooley DA, Reul GJ, Wukasch DC. Ischemic contracture of the heart: “Stone heart”. Am J Cardiol. 1972;29(4):575–577. doi:10.1016/0002-9149(72)90454-7.

21. Melrose D, Dreyer B, Bentall H, Baker J. Elective cardiac arrest. Lancet. 1955;266(6879):21–23. doi:10.1016/S0140-6736(55)93381-X.

22. Whittaker A, Aboughdir M, Mahbub S, Ahmed A, Harky A. Myocardial protection in cardiac surgery: how limited are the options? A comprehensive literature review. Perfusion. 2021;36(4):338–351. doi:10.1177/0267659120942656.

23. Powell WJ, DiBona DR, Flores J, Leaf A. The protective effect of hyperosmotic mannitol in myocardial ischemia and necrosis. Circulation. 1976;54(4):603–615. doi:10.1161/01.CIR.54.4.603.

24. Dobson GP, Faggian G, Onorati F, Vinten-Johansen J. Hyperkalemic cardioplegia for adult and pediatric surgery: end of an era? Front Physiol. 2013;4:228. doi:10.3389/fphys.2013.00228.

25. Gay WA. Potassium-induced cardioplegia: evolution and present status. Ann Thorac Surg. 1989;48(3):441–443. doi:10.1016/S0003-4975(10)62880-9.

26. Fallouh HB, Bardswell SC, McLatchie LM, Shattock MJ, Chambers DJ, Kentish JC. Esmolol cardioplegia: the cellular mechanism of diastolic arrest. Cardiovasc Res. 2010;87(3):552–560. doi:10.1093/cvr/cvq058.

27. Marunouchi T, Tanonaka K. Cell death in the cardiac myocyte. Biol Pharm Bull. 2015;38(8):1094–1097. doi:10.1248/bpb.b15-00288.

28. Papadakis E, Kanakis M, Kataki A, Spandidos DA. The spectrum of myocardial homeostasis mechanisms in the settings of cardiac surgery procedures (Review). Mol Med Rep. 2018;17(2):2089–2099. doi:10.3892/mmr.2017.8174.

29. Brömme HJ, Loertzer H, Akçetin Z. Der postischämische Reperfusionsschaden: Biochemische und methodische Grundlagen. *Urologe A*. 2002;41(2):159–163. doi:10.1007/s001200100117.

30. Hearse DJ. Reperfusion of the ischemic myocardium. J Mol Cell Cardiol. 1977;9(8):605–616. doi:10.1016/S0022-2828(77)80357-X.

31. Valensi P, Lorgis L, Cottin Y. Prevalence, incidence, predictive factors and prognosis of silent myocardial infarction: a review of the literature. Arch Cardiovasc Dis. 2011;104(3):178–188. doi:10.1016/j.acvd.2010.11.013. PMID: 21497307.

32. Schwerzmann K, Pedersen PL. Regulation of the mitochondrial ATP synthase/ATPase complex. Arch Biochem Biophys. 1986;250(1):1–18. doi:10.1016/0003-9861(86)90695-8.

33. Kihara Y, Grossman W, Morgan JP. Direct measurement of changes in intracellular calcium transients during hypoxia, ischemia, and reperfusion of the intact mammalian heart. Circ Res. 1989;65(4):1029–1044. doi:10.1161/01.RES.65.4.1029.

34. Boyle EM Jr, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: Ischemia-reperfusion. Ann Thorac Surg. 1996;62(6):1868–1875. doi:10.1016/S0003-4975(96)00950-2.

35. Yoshida N, Granger DN, Anderson DC, Rothlein R, Lane C, Kvietys PR. Anoxia/reoxygenation-induced neutrophil adherence to cultured endothelial cells. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 1992;262(6):H1891–H1898. doi:10.1152/ajpheart.1992.262.6.h1891.

36. Chambers DJ, Fallouh HB. Cardioplegia and cardiac surgery: pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion. Pharmacol Ther. 2010;127(1):41–52. doi:10.1016/j.pharmthera.2010.04.001.

37. Abdelsattar Z, Crestanello JA. Commentary: Cardioplegia solutions for myocardial protection—Dealer's choice. J Thorac Cardiovasc Surg. 2020;159(5):1864–1865. doi:10.1016/j.jtcvs.2019.03.114.

38. Durandy YD. Is there a rationale for short cardioplegia re-dosing intervals? World J Cardiol. 2015;7(10):658–664. doi:10.4330/wjc.v7.i10.658.

39. *M*elendez J, Stone J, Delphin E, Quon C. Influence of temperature on in vitro metabolism of esmolol. J Cardiothorac Anesth. 1990;4(6):704–706. doi:10.1016/S0888-6296(09)90007-2.

40. Fujii M, Chambers DJ. Cardioprotection with esmolol cardioplegia: efficacy as a blood-based solution. Eur J Cardiothorac Surg. 2013;43(3):619–627. doi:10.1093/ejcts/ezs365.

41. Fallouh HB, Kentish JC, Chambers DJ. Targeting for cardioplegia: arresting agents and their safety. Curr Opin Pharmacol. 2009;9(2):220–226. doi:10.1016/j.coph.2008.11.012.

42. Scorsin M, Mebazaa A, Attar NA, Medini B, Callebert J, Raffoul R, et al. Efficacy of esmolol as a myocardial protective agent during continuous retrograde blood cardioplegia. J Thorac Cardiovasc Surg. 2003;125(5):1022–1029. doi:10.1067/mtc.2003.175.

43. Er F, Dahlem KM, Nia AM, Erdmann E, Waltenberger J, Hellmich M, et al. Randomized control of sympathetic drive with continuous intravenous esmolol in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction. Cardiol Uzbek. 2016;9(3):231–240. doi:10.1016/j.jcin.2015.10.035.

44. Ghiragosian C, Harpa M, Stoica A, Sânziana FO, Bălău R, Hussein HA, et al. Theoretical and practical aspects in the use of Bretschneider cardioplegia. J Cardiovasc Dev Dis. 2022;9(6):178. doi:10.3390/jcdd9060178.

45. Veitinger AB, Komguem A, Assling-Simon L, Heep M, Schipke J, Mühlfeld C, et al. Cardioprotection with esmolol-based cardioplegia for non-infarcted and infarcted rat hearts. Eur J Cardiothorac Surg. 2021;60(4):908–917. doi:10.1093/ejcts/ezab117.

46. Wiest DB. Esmolol. Clin Pharmacokinet. 1995;28(3):190–202. doi:10.2165/00003088-199528030-00002. PMID: 7758250.

47. Quon CY, Mai K, Patil G, Stampfli HF. Analysis of species-dependent hydrolysis and protein binding of esmolol enantiomers. J Pharm Anal. 2012;2(3):220–225. doi:10.1016/j.jpha.2012.01.007

48. Böning A, Rohrbach S, Kohlhepp L, Heep M, Hagmüller S, Niemann B, et al. Differences in ischemic damage between young and old hearts—Effects of blood cardioplegia. Exp Gerontol. 2015;67:3–8. doi:10.1016/j.exger.2015.04.012.

49. Boening A, Assling-Simon L, Heep M, Boengler K, Niemann B, Grieshaber P. Buckberg's blood cardioplegia for protection of adult and senile myocardium in a rat in vitro model of acute myocardial infarction. Exp Gerontol. 2018;104:98–104. doi:10.1016/j.exger.2018.02.003.

50. Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szeląg A, Schulz R. Isolated heart perfusion according to Langendorff—still viable in the new millennium. J Pharmacol Toxicol Methods. 2007;55(2):113–126. doi:10.1016/j.vascn.2006.05.006.

51. Zimmer HG. The isolated perfused heart and its pioneers. Physiology (Bethesda). 1998;13(4):203–210. doi:10.1152/physiologyonline.1998.13.4.203.

52. Kaya S. Charaktesierung eines Langendorff basierten Zelltransfer Modells des kardialen Ischämie- Reperfusionbsschäden [Dissertation]. Düsseldorf: Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; 2020.

53. Hemmerich C, Heep M, Gärtner U, Taghiyev ZT, Schneider M, Böning A. Myocardial recovery, metabolism, and structure after cardiac arrest with Cardioplexol. Thorac Cardiovasc Surg. 2023. doi:10.1055/s-0043-1772210.

54. Divakaruni AS, Jastroch M. A practical guide for the analysis, standardization and interpretation of oxygen consumption measurements. Nat Metab. 2022;4(8):978–994. doi:10.1038/s42255-022-00619-4.

55. Angeli E, Martens S, Careddu L, Petridis FD, Quarti AG, Ciuca C, et al. Myocardial oxygen consumption during histidine-tryptophan-ketoglutarate cardioplegia in young human hearts. Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2021;32(2):319–324. doi:10.1093/icvts/ivaa262.

56. Podesser BK, Schirnhofer J, Bernecker OY, Kröner A, Franz M, Semsroth S, et al. Optimizing ischemia/reperfusion in the failing rat heart—improved myocardial protection with acute ACE inhibition. Circulation. 2002;106(Suppl 1):I-208–I-213. doi:10.1161/01.CIR.0000032903.33237.40.

57. De Backer D, Creteur J, Zhang H, Norrenberg M, Vincent JL. Lactate production by the lungs in acute lung injury. Am J Respir Crit Care Med. 1997;156(4):1099–1104. doi:10.1164/ajrccm.156.4.9701048.

58. Nitzsche N, Baumgärtel L, Schulz H. Comparison of maximum lactate formation rates in ergometer sprint and maximum strength loads. Dtsch Z Sportmed. 2018;69(1):13–18. doi:10.5960/dzsm.2017.312.

59. Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. *Mayo Clin Proc*. 2013;88(10):1127–1140. doi:10.1016/j.mayocp.2013.06.012.

60. Boening A, Hinke M, Heep M, Boengler K, Niemann B, Grieshaber P. Cardiac surgery in acute myocardial infarction: crystalloid versus blood cardioplegia – an experimental study. J Cardiothorac Surg. 2020;15(1):48. doi:10.1186/s13019-020-1058-9.

61. Tschanz SA, Burri PH, Weibel ER. A simple tool for stereological assessment of digital images: the STEPanizer. J Microsc. 2011;243(1):47–59. doi:10.1111/j.1365-2818.2010.03481.x.

62. Mühlfeld C, Nyengaard JR, Mayhew TM. A review of state-of-the-art stereology for better quantitative 3D morphology in cardiac research. Cardiovasc Pathol. 2010;19(2):65–82. doi:10.1016/j.carpath.2008.10.015.

63. Mühlfeld C, Urru M, Rümelin R, Mirzaie M, Schöndube F, Richter J, et al. Myocardial ischemia tolerance in the newborn rat involving opioid receptors and mitochondrial K+ channels. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol. 2006;288(3):297–303. doi:10.1002/ar.a.20315.

64. Fazelifar S, Bigdelian H. Effect of esmolol on myocardial protection in pediatric congenital heart defects. J Cardiovasc Thorac Res. 2014;6(4):255–259. doi:10.4103/2277-9175.170241. PMID: 26693471; PMCID: PMC4685641.

65. Sweeney MS, Frazier OH. Device-supported myocardial revascularization: safe help for sick hearts. Ann Thorac Surg. 1992;54(6):1065–1070. doi:10.1016/0003-4975(92)90071-B.

66. Bessho R, Chambers DJ. Myocardial protection: the efficacy of an ultra-short-acting β-blocker, esmolol, as a cardioplegic agent. J Thorac Cardiovasc Surg. 2001;122(5):993–1003. doi:10.1067/mtc.2001.115919

67. Chambers DJ. Mechanisms and alternative methods of achieving cardiac arrest. Ann Thorac Surg. 2003;75(2):659–668. doi:10.1016/S0003-4975(02)04688-X. PMID:12607709.

68. Cork RC, Kramer TH, Dreischmeier B, Behr S, DiNardo JA. The effect of esmolol given during cardiopulmonary bypass. Anesth Analg. 1995;80(1):28–40. doi:10.1097/00000539-199501000-00006.

70. Jacobs JR, Croughwell ND, Goodman DK, White WD, Reves JG. Effect of hypothermia and sampling site on blood esmolol concentrations. J Clin Pharmacol. 1993;33(4):360–365. doi:10.1002/j.1552-4604.1993.tb04670.x.

71. Aass T, Stangeland L, Moen CA, Salminen P, Dahle GO, Chambers DJ, et al. Myocardial function after polarizing versus depolarizing cardiac arrest with blood cardioplegia in a porcine model of cardiopulmonary bypass. Eur J Cardiothorac Surg. 2016;50(1):130–139. doi:10.1093/ejcts/ezv488.

72. 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. doi:10.1016/0003-4975(94)00843-V.

73. Wagner PD. Determinants of maximal oxygen consumption. J Muscle Res Cell Motil. 2023;44(2):73–88. doi:10.1007/s10974-022-09636-y. PMID: 36434438.

74. Dietrich WF, Miller J, Steen R, Merchant MA, Damron-Boles D, Husain Z, et al. A comprehensive genetic map of the mouse genome. Nature. 1996;380(6570):149–152. doi:10.1038/380149a0.

75. Michael LH, Entman ML, Hartley CJ, Youker KA, Zhu J, Hall SR, et al. Myocardial ischemia and reperfusion: a murine model. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 1995;269(6):H2147–H2154. doi:10.1152/ajpheart.1995.269.6.h2147.

76. Bessho R, Chambers DJ. Myocardial protection: The efficacy of an ultra-short-acting β-blocker, esmolol, as a cardioplegic agent. J Thorac Cardiovasc Surg. 2001;122(5):993–1003. doi:10.1067/mtc.2001.115919.

77. Bradić J, Andjić M, Novaković J, Jeremić N, Jakovljević V. Cardioplegia in open heart surgery: age matters. J Clin Med. 2023;12(4):1698. doi:10.3390/jcm12041698. PMID:36836232; PMCID:PMC9958799.

78. Varró A, Tomek J, Nagy N, Virág L, Passini E, Rodriguez B, et al. Cardiac transmembrane ion channels and action potentials: cellular physiology and

arrhythmogenic behavior. Physiol Rev. 2021;101(3):1083–1176. doi:10.1152/physrev.00024.2019.

79. Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF. Practical stereological methods for morphometric cytology. J Cell Biol. 1966;30(1):23–38. doi:10.1083/jcb.30.1.23.

80. 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 Arch A Pathol Anat Histopathol. 1990;416(4):305–315. doi:10.1007/BF01605291.