

Untersuchung von Ischämie-/Reperfusionsschäden  
nach unterschiedlichen Arten von Kardioplegie  
am isolierten Rattenmodell

-

EVALUATION DER DEL NIDO KARDIOPLEGIE

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Menzebach, Sophie

aus Olpe

Gießen 2024

AUS DEM FACHBEREICH MEDIZIN DER JUSTUS-LIEBIG-UNIVERSITÄT  
GIESSEN

Klinik für Herz-, Kinderherz- und Gefäßchirurgie

Gutachter: Prof. Dr. Andreas Böning

Gutachter: PD Dr. Christian Troidl

Tag der Disputation: 16. Juli 2025

# Inhaltsverzeichnis

Einleitung.....	- 1 -
Myokardialer Energiestoffwechsel.....	- 1 -
Ischämie und Reperfusion.....	- 2 -
Herzchirurgie .....	- 6 -
Kardioplegie .....	- 8 -
Depolarisierter Arrest .....	- 13 -
Polarisierter Arrest.....	- 14 -
Arrest durch Hemmung des Kalziumeinstroms .....	- 17 -
Calafiore Kardioplegie .....	- 19 -
Del Nido Kardioplegie.....	- 20 -
Material und Methoden.....	- 23 -
Laborgeräte .....	- 23 -
Chemikalien.....	- 25 -
Versuchstiere .....	- 27 -
Tötung und Organentnahme .....	- 28 -
Blutperfusat .....	- 28 -
Langendorff-Apparatur .....	- 29 -
Datenerfassung .....	- 30 -
Datenerfassung physiologischer Parameter .....	- 30 -
Datenerfassung biochemischer Parameter .....	- 31 -
Sauerstoffverbrauch und Laktatproduktion .....	- 32 -
Stabilisierungsphase .....	- 33 -
Versuchsgruppen .....	- 34 -
Del Nido-Gruppe .....	- 34 -
Calafiore-Gruppe .....	- 35 -
Stereologie und Elektronenmikroskopie.....	- 36 -
Statistik.....	- 39 -
Ergebnisse .....	- 40 -
Baseline-Werte.....	- 40 -
Physiologische Parameter.....	- 41 -
Herzfrequenz.....	- 41 -
Koronarfluss .....	- 42 -
LVDP.....	- 43 -

dLVP/dt <sub>max</sub> .....	- 44 -
dLVP/dt <sub>min</sub> .....	- 45 -
Biochemische Parameter .....	- 46 -
Sauerstoffverbrauch .....	- 46 -
Laktatproduktion .....	- 47 -
Troponin .....	- 48 -
Elektronenmikroskopie .....	- 49 -
Zellulärer Ödemindex .....	- 49 -
VSratio .....	- 50 -
Ultrastrukturelle Auswertung .....	- 51 -
Myokardkontraktionen .....	- 52 -
Diskussion .....	- 53 -
Zusammenfassung .....	- 65 -
Summary .....	- 66 -
Abbildungsverzeichnis .....	- 67 -
Tabellenverzeichnis .....	- 69 -
Literaturverzeichnis .....	- 70 -
Publikationsverzeichnis .....	- 94 -
Erklärung zur Dissertation .....	- 95 -
Danksagung .....	- 96 -

# Einleitung

## Myokardialer Energiestoffwechsel

Das menschliche Herz ist eine unermüdliche Pumpe. Es schlägt bei einer durchschnittlichen Herzfrequenz von 70 Schlägen pro Minute etwa 100.000-mal pro Tag. Es ist daher nicht verwunderlich, dass es eine erhebliche Menge an Energie braucht, um diese Leistung zu erbringen. Als Energiequelle zur Aufrechterhaltung seiner Funktion verwendet das Herz chemische Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP). Die Synthese von ATP erfolgt durch oxidative Phosphorylierung von Adenosindiphosphat (ADP) in den Mitochondrien. Aus diesem Grund existiert eine hohe Dichte an Mitochondrien in der Herzmuskelzelle (Taegtmeier, 1994). Circa 2/3 der in Form von ATP zur Verfügung stehenden Energie wird für die Kontraktionsarbeit, das heißt für die Zellverkürzung durch eine Interaktion von Aktin und Myosin verwendet. Der Rest dient dem Betrieb verschiedener Ionenpumpen, insbesondere der SERCA, die durch Pumpen von  $\text{Ca}^{2+}$  in das sarkoplasmatische Retikulum eine diastolische Relaxation ermöglicht (Suga, 1990).

Das gesunde menschliche Herz nutzt zur Erzeugung von ATP vorzugsweise Fettsäuren, Glukose und Laktat. Mit circa 60-90 % stellt die beta-Oxidation von freien Fettsäuren den Hauptanteil zur Energiegewinnung, gefolgt von 10-40 % aus Pyruvat, gebildet aus Laktat und Glukose (Stanley & Chandler, 2002). Im Zentrum der Energiegewinnung steht der Citratzyklus, der durch die Bereitstellung reduzierender Äquivalente für die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien zur Regeneration von ATP aus ADP und anorganischem Phosphat beiträgt. Gespeist wird der Citratzyklus durch Acetyl-CoA, das zum Großteil aus der Oxidation von Pyruvat und Fettsäuren stammt (Stanley et al., 1997).

Die kardiale beta-Oxidation freier Fettsäuren stellt sich als ein dynamischer Prozess dar, der sich durch Zu- und Abnahme sowohl an den kardialen Energiebedarf als auch an vorherrschende Umgebungsbedingungen anpasst. Die im Rahmen der beta-Oxidation verwendeten Fettsäuren stammen in erster Linie aus an Albumin gebundenen Plasmafettsäuren oder aus Fettsäuren, die in Triacylglycerin von Chylomikronen oder Lipoproteinen sehr geringer Dichte enthalten sind und gelangen dementsprechend über den Blutstrom zum Herzen. Im Zytosol erfolgt die Veresterung zu Acyl-CoA durch die Acyl-CoA-Synthase. Im Anschluss erfolgt die Übertragung der Acyl-Gruppe auf Carnitin mittels der Carnitin-Palmitoyltransferase. Das Acyl-Carnitin wird dann in die

Mitochondrien transportiert. Dort wird es wieder in Acyl-CoA umgewandelt und in den beta-Oxidationszyklus eingeschleust (Lopaschuk et al., 2010).

Neben Fettsäuren spielen Kohlenhydrate eine essenzielle Rolle in der kardialen Energiegewinnung. Dazu gehören Glukose und Laktat als exogene Substrate sowie Glykogen als endogenes Substrat (Taegtmeyer, 1994). Glukose wird hauptsächlich über den Glukosetransporter GLUT4 in die Herzmuskelzelle aufgenommen (Bell et al., 1990). Intrazellulär erfolgt die Umwandlung in Glukose-6-phosphat katalysiert durch die Hexokinase. Glukose-6-phosphat kann im Anschluss entweder für die Glykogensynthese verwendet oder im Rahmen der Glykolyse zu Pyruvat abgebaut werden (Stanley et al., 1997). Pyruvat wird nachfolgend oxidativ zu Acetyl-CoA decarboxyliert. Diese Reaktion wird durch die in der Mitochondrienmembran lokalisierte Pyruvatdehydrogenase katalysiert (Randle, 1986).

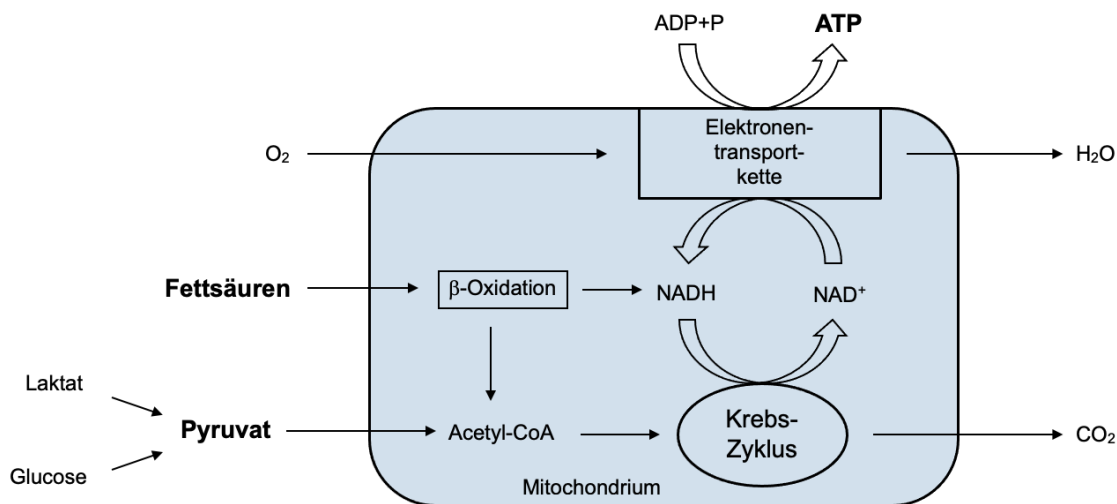


Abbildung 1: Myokardialer Energiestoffwechsel (in Anlehnung an Stanley & Chandler, 2002)

Wenn sowohl freie Fettsäuren als auch Glukose zur Verfügung stehen, werden erstere bevorzugt zur Energiegewinnung genutzt (Neely & Morgan, 1974). Newsholme et al. fanden heraus, dass es durch die beta-Oxidation von Fettsäuren zu einer Hemmung der Phosphofruktokinase kommt, was wiederum in einer Blockade der Glukosephosphorylierung resultiert (Newsholme et al., 1962). Zusätzlich erfolgt die Hemmung der Pyruvatdehydrogenase, dem Enzym, das die Verbindung zwischen Glykolyse und Citratzyklus herstellt (Kerbey et al., 1976).

## Ischämie und Reperfusion

In der medizinischen Literatur ist eine Gewebeischämie im Allgemeinen als eine Situation definiert, in der die Sauerstoffzufuhr zur Deckung des Stoffwechselbedarfs

unzureichend ist. Am Herzen können unterschiedliche Pathologien in einer solchen Ischämie resultieren. Dazu gehören neben dem Myokardinfarkt Bedingungen, die mit einer Hypoperfusion des Gewebes einhergehen, wie sie beispielsweise im Rahmen eines Schocks oder eines schweren Traumas beobachtet werden können. Auch herzchirurgische Eingriffe bergen ein Risiko für die Entwicklung einer Ischämie. Die rasche und zeitnahe Wiederherstellung der Durchblutung stellt die effektivste Methode zur Rettung des ischämischen Gewebes dar, sodass sich zur Behandlung von Gefäßverschlüssen thrombolytische Therapien, Angioplastien und operative Revaskularisationen etabliert haben (Dorweiler et al., 2007). Paradoxe Weise führt diese Reperfusion des Gewebes zu einer zusätzlichen Schädigung, die über die allein durch die Ischämie verursachte hinausgeht (Braunwald & Kloner, 1985). Dieser sogenannte Ischämie-Reperfusionsschaden geht mit Herzrhythmusstörungen, Myocardial Stunning, Zelltod und vaskulärer Dysfunktion einher (Moens et al., 2005).

Als Myocardial Stunning wird eine anhaltende postischämische myokardiale Dysfunktion bei Fehlen irreversibler histologischer Schäden bezeichnet (Bolli, 1990; Patel et al., 1988). Dieses Phänomen wurde erstmals 1975 von Heyndrickx et al. beschrieben, die an Experimenten mit Hunden regionale funktionelle sowie elektrophysiologische Veränderungen nach 5- und 15-minütigem Koronarverschluss untersuchten. Während sich der Koronarfluss und das Elektrokardiogramm rasch erholten, blieb die mechanische Funktion je nach Dauer der Ischämie über 3 beziehungsweise mehr als 6 Stunden beeinträchtigt (Heyndrickx et al., 1975).

Eine weitere Folge der Reperfusion in einem zuvor global oder regional ischämischen Gewebe ist das Auftreten von Herzrhythmusstörungen, die in diesem Zusammenhang als Reperfusionssarrhythmien bezeichnet werden (Manning & Hearse, 1984). Bei intrakoronarer Thrombolyse nach akutem Myokardinfarkt zeigte sich ein beschleunigter idioventrikulärer Rhythmus als die am häufigsten auftretende Arrhythmie (Goldberg et al., 1983). Im Laufe der Zeit wurden unterschiedliche Faktoren entdeckt, die reperfusionsbedingte Herzrhythmusstörungen beeinflussen. Dazu gehören zunächst einmal die Zeit sowie die Schwere der vorangegangenen Ischämie (Crome et al., 1983). Interessanterweise stellten Dennis et al. eine inverse Korrelation zwischen der Schwere der Ischämie und dem Auftreten von Reperfusionssarrhythmien fest. Ursächlich könnte ein erhöhter glykolytischer Fluss im schwer ischämischen Myokard sein (Dennis et al., 1983), der über die entsprechende ATP-Produktion zu einem regelrechten elektrischen Verhalten beiträgt (McDonald et al., 1971).

Eine zusätzliche schwerwiegende Auswirkung haben mikrovaskuläre Dysfunktionen, die als Resultat einer komplexen Interaktion verschiedener Faktoren nach Ischämie und

Reperfusion auftreten. Von entscheidender Bedeutung ist hierbei eine Kombination aus endothelialer Dysfunktion, mikrovaskulärer Obstruktion, Ödem und oxidativem Stress (Moens et al., 2005). Eine mögliche Konsequenz kapillärer Schädigungen ist eine limitierte Perfusion nach Reperfusion, das sogenannte No-Reflow-Phänomen (Kloner et al., 1974). Im klinischen Setting ist dieses mit einer höheren Sterberate sowie Inzidenz von Myokardinfarkten assoziiert (Abbo et al., 1995).

Pathophysiologisch kommt es während einer Ischämie zu einer unzureichenden Versorgung der Herzmuskelzelle mit Sauerstoff und Substraten zur Energiegewinnung, sodass die oxidative Phosphorylierung zum Erliegen kommt. Gemäß einer Studie von Sun et al. an Langendorff-perfundierten Rattenherzen löst eine Ischämie eine deutliche Verlagerung von GLUT4 in die Plasmamembran der myokardialen Zellen aus, was für eine erhöhte Glukoseaufnahme im ischämischen Herzmuskel sorgt (Sun et al., 1994). Im ischämischen Gewebe erfolgt die Umstellung der aeroben auf die anaerobe Glykolyse, wodurch vermehrt Laktat anfällt. Zusätzlich erzeugt die Hydrolyse des verbleibenden ATPs einen Anstieg von anorganischem Phosphat. Beide Vorgänge resultieren in einem Absinken des intrazellulären pH-Wertes (Dennis et al., 1991). Der zytosolische pH-Wert wird im Wesentlichen durch drei Faktoren beeinflusst: erstens durch die zellinterne Produktion von Säuren und Basen, zweitens durch die Pufferkapazität und drittens durch den Transport von Säure- und Basenäquivalenten über die Zellmembran. Um den intrazellulären pH-Wert während einer Ischämieperiode zu stabilisieren, werden Wasserstoffionen im Austausch mit Natriumionen durch den sogenannten  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauscher aus dem Intra- in den Extrazellulärraum transportiert. Die Konsequenz ist ein Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration (Piper et al., 1996). Diese wiederum führt über die Aktivierung des  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Antiporters zu einer Kalziumüberladung der Herzmuskelzelle (Karmazyn & Moffat, 1993). Die Myofibrillen werden durch die erhöhte Kalziumkonzentration in einen Aktivierungszustand versetzt, der jedoch durch den Mangel an ATP nicht zu einer Kontraktion führt. Kommt es nun durch Reoxygenierung des Gewebes zu einer Wiederaufnahme der oxidativen Phosphorylierung, wird die notwendige Energie für den kontraktilem Apparat bereitgestellt. Dies resultiert in einer exzessiven, unkontrollierten Kontraktion, die über eine Beschädigung des Zytoskeletts eine strukturelle Schädigung des Myokards auslöst (Siegmund et al., 1993). Diese durch Reoxygenierung ausgelöste Hyperkontraktion kann durch eine passagere Blockade des kontraktilem Apparates verhindert werden (Schlüter et al., 1991; Siegmund et al., 1991).

Neben der durch die Kalziumüberladung ausgelösten Hyperkontraktion des Myokards als grundlegender Mechanismus in der Entstehung der Ischämie-Reperfusionsschäden

spielt ebenfalls das vermehrte Anfallen von Sauerstoffradikalen eine große Rolle. Zweier et al. setzten bei Experimenten an perfundierten Kaninchenherzen zur direkten Messung der Produktion freier Radikale die paramagnetische Elektronenresonanzspektroskopie ein. Es zeigte sich, dass die Konzentration freier Sauerstoffradikale während der Reperfusion zuvor einer Ischämie ausgesetzten Myokards auf mehr als das Siebenfache eines Ausgangswertes ansteigt (Zweier et al., 1987). Die Hypothese, dass freie Sauerstoffradikale wichtige Mediatoren in der Entstehung von Ischämie-Reperfusionsschäden sind, wird durch die experimentelle Arbeit von Stewart et al. gestützt. Sie konnten demonstrieren, dass die Verwendung einer Kardioplegie, die Superoxiddismutase, Mannitol und KCl enthält, im Vergleich zur reinen Anwendung einer Hypothermie einen besseren myokardialen Schutz bietet (Stewart et al., 1983). Prinzipiell ist ein freies Radikal definiert als ein Atom oder Molekül mit einem ungepaarten Elektron in der äußeren Hülle (Halliwell & Gutteridge, 1984). Zu den potenziell zytotoxischen Sauerstoffspezies gehören das Superoxidradikal ( $O_2^-$ ), Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) und das Hydroxyradikal ( $OH^-$ ), die als gewöhnliche Nebenprodukte im aeroben Stoffwechsel entstehen. Unter physiologischen Bedingungen erfolgt der Schutz vor diesen freien Radikalen durch intrazelluläre Antioxidantien beziehungsweise durch Enzyme, wie Katalase, Superoxiddismutase und Glutathionperoxidase.

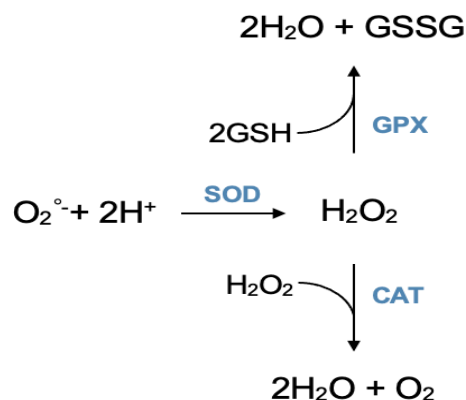


Abbildung 2: Wichtige am zellulären Antioxidationsystem beteiligte Enzyme; SOD=Superoxiddismutase, CAT=Katalase, GPX=Glutathionperoxidase, GSH=Glutathion; GSSG=Glutathiondisulfid (in Anlehnung an Chazelas et al., 2021)

Während einer Ischämie/Reperfusion führt die Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies allerdings zu einer Zellschädigung, da die Schutzmechanismen überlastet werden (Hinder & Stein, 1991). Der entscheidende Schädigungsmechanismus stellt hierbei die Modifikation von Membranproteinen dar. Über eine Peroxidation von Membranphospholipiden kommt es zu einem Verlust der Membranintegrität, was wiederum zu Nekrose und Zelltod führt (Ernster, 1988).

Durch die Umstellung der aeroben auf die anaerobe Glykolyse kommt es zu einer Verringerung der Nettoenergieproduktion von 36 Mol ATP auf circa 2-3 Mol ATP pro Mol verstoffwechselter Glukose. Die Folge ist eine Beeinträchtigung energieabhängiger Transporter in der Zellmembran, die für die Aufrechterhaltung der transzellulären Gradienten von Natrium, Kalium, Kalzium und Magnesium sorgen. Natrium besitzt aufgrund seiner osmotischen Eigenschaften die Funktion der Regulation des Zellvolumens. Die Konsequenz einer Störung des Natriumtransports ist ein Einstrom des Elektrolyts in die Zelle, was wiederum zu einer Zellschwellung führt (Buckberg, 1979).

Zusammengefasst liegen die wichtigsten Auswirkungen einer myokardialen Ischämie somit in einer Störung des mitochondrialen Sauerstoffverbrauchs und einer mangelhaften aeroben ATP-Resynthese. Hieraus resultiert ein absinkender ATP-Gehalt, eine Aktivierung der anaeroben Glykolyse, ein Anfallen von Laktat, eine Übersäuerung des Gewebes sowie eine Störung der Ionenströme. All diese Faktoren führen letztendlich zu einer Funktionsstörung des Myokards (Stanley, 2004).

## Herzchirurgie

Insbesondere im späten 19. Jahrhundert führte der Glaube, dass operative Eingriffe am Herzen die chirurgische Praxis überschreiten, zu einem Ausbleiben von Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet. Durch diese mehrheitlich ablehnenden Haltungen erlebte die Herz- und Gefäßchirurgie erst im 20. Jahrhundert bemerkenswerte, rasante Fortschritte (Weisse, 2011).

Die erste erfolgreiche herzchirurgische Operation wurde 1896 von Ludwig Rehn, Professor für Chirurgie an der Universität Frankfurt am Main durchgeführt. Ihm gelang eine direkte Herznaht am schlagenden Herzen eines 22-jährigen Patienten, der eine Stichverletzung im vierten Interkostalraum der linken Thoraxhälfte erlitten hatte (Ellis, 2017; Werner et al., 2012).

Ein weiterer Meilenstein wurde 1950 durch G. Bigelow erreicht. An Experimenten mit Mischlingshunden konnte er zunächst zeigen, dass eine Senkung der Körpertemperatur auf bis zu 18 °C mit einer Reduktion des Sauerstoffverbrauchs einhergeht (Bigelow & Lindsay, 1950). Nach einer Reihe weiterer Experimente legte er den potenziellen Nutzen der Oberflächenhypothermie für den Einsatz in der Herzchirurgie dar (Bigelow et al., 1950). Mit der Entwicklung eines extrakorporalen Blutkreislaufs, in den während einer Herzoperation venöses Blut des Patienten gesaugt, anschließend oxygeniert und schließlich über eine Arterie zurückgeführt wird, schuf John Gibbons eine weitere Voraussetzung dafür, Herzoperationen am nicht-schlagenden Herzen durchführen zu

können. Am 06. Mai 1953 gelang ihm die erste erfolgreiche Operation am offenen Herzen unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine. Während Gibbons den Atriumseptumdefekt der 18-jährigen Patientin verschloss, übernahm die Maschine für 26 Minuten die kardiorespiratorischen Funktionen (Gibbon, 1978).

Im Jahr 1955 entdeckte Melrose mit Kalium das erste kardioplegische Agens. Durch Infusion von Kaliumcitrat über die Aortenwurzel in das Koronarsystem wurde innerhalb von 5 Sekunden ein diastolischer Herzstillstand provoziert. Dieser war reversibel, sobald durch ein Wiedereinsetzen einer regulären Durchblutung der Koronarien ein Auswaschen von Kaliumcitrat erfolgte (Melrose et al., 1955). Aufgrund des Verdachtes, dass der hohe Kaliumgehalt der Citratlösung würde das Risiko der Induktion einer fokalen Myokardnekrose bergen, wurden hyperkaliämische Lösungen zunächst nicht mehr eingesetzt (Chambers & Fallouh, 2010). Erst circa 20 Jahre später zeigten Tyers et al., dass die fokale Nekrose tatsächlich eine Nebenwirkung des hohen Kaliumgehalts ist (Tyers et al., 1975). In der Zwischenzeit fand eine von Bretschneider entwickelte intrazelluläre, kristalloide Kardioplegie, heutzutage bekannt unter der Bezeichnung Custodiol oder HTK-Lösung vermehrt Verwendung. Durch den niedrigen Natrium- und Kaliumgehalt bezweckt diese einen diastolischen Herzstillstand durch eine Hyperpolarisation der Herzmuskelzellen (Comentale et al., 2018). 1975 entwickelten David Hearse und Mark Braimbridge mithilfe von Experimenten am isoliert perfundierten Rattenherzmodell zunächst die St. Thomas Hospital Kardioplegie Nr. 1. Sie ergänzten einen Krebs Henseleit Bikarbonat Puffer als Basislösung mit Adenosintriphosphat, Kreatinphosphat und Procain und erhöhten die Kalium- und Magnesiumkonzentration. Im Vergleich zur alleinigen Verwendung der Basislösung als kardioplegisches Agens konnte die tolerierte Ischämiedauer des Herzens so verlängert werden und trotzdem eine vollständige funktionelle Erholung gewährleistet werden (Hearse et al., 1976a). In den folgenden Jahren wurden umfangreiche Dosis-Wirkungs-Studien durchgeführt, um durch eine Modifikation der St. Thomas Hospital Kardioplegie Nr. 1 ihre Wirksamkeit zu verbessern. Ziel war es, die Konzentration der einzelnen Bestandteile zu optimieren und neue Substanzen zu entdecken, die einen zusätzlichen Myokardschutz ermöglichen (Hearse et al., 1976b, 1978a, 1978b; Jynge et al., 1977, 1978). Hieraus resultierte die Entwicklung der St. Thomas Hospital Kardioplegie Nr. 2. Diese sollte als Basislösung fungieren und durch den weiteren Zusatz diverser Bestandteile, wie beispielsweise Lidocain oder Kreatinphosphat, an die individuellen Bedürfnisse der Operateure angepasst werden können (Hearse et al., 1981; Ledingham et al., 1987; Robinson et al., 1984).

Bei den kristalloiden, asanguinen kardioplegischen Lösungen ist die Herzfunktion während des Stillstands von der Energiemenge abhängig, die durch anaerobe Stoffwechselprozesse bereitgestellt wird. Eine von Buckberg entwickelte Kardioplegie auf Blutbasis brachte den Vorteil, dass das Herz während des Arrests weiter mit Sauerstoff versorgt wird. Mit ihren Experimenten über die Bedeutung von Blut als kardioplegisches Vehikel setzten sie einen bedeutenden Meilenstein in der Entwicklung der Myokardprotektion (Follette et al., 1978). In den folgenden Jahren hat sich das Konzept der Myokardprotektion durch Modulation der Applikation (Menasché et al., 1982) und Temperatur (Lichtenstein et al., 1991; Teoh et al., 1986) sowie durch ischämische Prä- und Postkonditionierung (Murry et al., 1986; Zhao et al., 2003) diversifiziert, sodass heutzutage eine Fülle an Methoden zum Schutz des Herzmuskels zur Verfügung steht.

## Kardioplegie

Die Protektion des Myokards bei herzchirurgischen Eingriffen hat sich über viele Jahre entwickelt und durch den Einsatz von Kardioplegie konnte die Sicherheit erheblich erhöht werden (Bhakri et al., 2014). Während im Laufe der Zeit durch die Entwicklung extrakorporaler Kreislauftechniken eine Operation ohne die Gefahr eines hämodynamischen Kollapses möglich war, erschwerte jedoch das Schlagen des Herzens komplizierte Eingriffe. Man wusste schon damals, dass Ischämie zum Herzstillstand führt, da die energiereichen Phosphatreserven aufgebraucht werden. Allerdings geht die Ischämie mit Nekrosen und einem hypokontraktilen Herzen nach Reperfusion einher (Bhakri et al., 2014).

Während herzchirurgischer Eingriffe kann es, wie oben bereits beschrieben, zu zwei unterschiedlichen Formen der Schädigung kommen: zum einen durch Ischämie während des Abklemmens der Aorta, zum anderen während der Reperfusion nach Entfernen der Klemme. Aus diesem Grund ist ein Schutz des Herzmuskels notwendig (Bhakri et al., 2014). Laut Hearse basiert ein effektiver Schutz vor einem Ischämie-/Reperfusionsschaden auf drei Säulen: erstens dem Energieerhalt durch das Herbeiführen eines raschen Herzstillstands, zweitens der Verringerung des Zellstoffwechsels durch Hypothermie und drittens der Nutzung protektiver Zusatzstoffe (Hearse, 1983).

Unter dem Begriff Kardioplegie versteht man einen künstlich induzierten, reversiblen Herzstillstand bei Operationen am offenen Herzen (Bilic & Witzel, 2013). Zweck einer Kardioplegie ist die Protektion des Myokards während des operativen Eingriffs und die

Schaffung optimaler Operationsbedingungen im Sinne eines bewegungslosen und blutleeren Herzens (Nicolini et al., 2003). Chambers et al. definierten vier Kriterien, die eine optimale Kardioplegie erfüllen sollte (Chambers & Fallouh, 2010):

1. Reduzierung des zellulären Verbrauchs an energiereichen Phosphatverbindungen durch einen schnellen diastolischen Arrest.
2. Minimierung beziehungsweise Verhinderung von Schäden durch Ischämie und Reperfusion durch einen Myokardschutz.
3. Simple und schnelle Reversibilität des Herzstillstands.
4. Fehlen toxischer Wirkungen der kardioplegischen Wirkstoffe auf Herz oder andere Organe.

Kardioplegielösungen unterscheiden sich unter anderem hinsichtlich der Temperatur, des pH-Wertes, der Osmolarität und des Gehalts an Erythrozyten (Harlan et al., 1996). Zusammen mit der Vielzahl potenziell nützlicher Zusätze, einschließlich Substraten, Antioxidantien, Puffern, Sauerstoff, hyperosmolaren Wirkstoffen und Ionenkanalinhibitoren oder -aktivatoren, resultiert daraus eine unendliche Vielfalt an kardioplegischen Lösungen. Hinsichtlich der Zusammensetzung ist eine Einteilung in intrazelluläre und extrazelluläre Lösungen möglich, wobei die Unterscheidung auf der Konzentration von Natrium, Kalium und Kalzium beruht. Die extrazellulären Lösungen werden heutzutage bevorzugt verwendet und können zusätzlich in blutbasierte und kristalloide Kardioplegien unterteilt werden (Chambers & Hearse, 2001). Die Effektivität und Überlegenheit einer dieser beiden Lösungen wird kontrovers diskutiert. Bezüglich der Verwendung von Blutkardioplegie beschrieben Follette et al. einige Vorteile. Zunächst einmal erfolgt der myokardiale Arrest in einer sauerstoffreichen Umgebung, sodass es in der Zeit kurz vor der Asystolie nicht zum Verbrauch energiereicher Phosphatspeicher kommt. Weiterhin besteht über eine intermittierende Verabreichung der Kardioplegie die Möglichkeit der zwischenzeitlichen Reoxygenierung des Myokards, sodass auf den Zusatz von Glukose oder Insulin zur Aufrechterhaltung eines anaeroben Stoffwechsels verzichtet werden kann. Zudem verfügt Blut über onkotische Bestandteile, die andernfalls in Form von Plasmaproteinen oder Mannitol zugesetzt werden müssten (Follette et al., 1978). Wie oben bereits beschrieben kommt es im Rahmen einer Ischämie zu einer Übersäuerung des Gewebes mit sowohl funktionellen als auch metabolischen Konsequenzen. Aus der Azidose resultiert zum einen eine negativ inotrope Wirkung auf das Myokard durch Beeinträchtigung der elektromechanischen Kopplung (Orchard & Kentish, 1990), zum anderen eine Hemmung der Glykolyse als eigentlich wichtigster Stoffwechselweg für die Erzeugung von ATP während einer Ischämie (Rovetto et al., 1975). Durch das Vorhandensein von Hämoglobin und

Plasmaproteinen, insbesondere durch deren Imidazolgruppen von Histidinresten, besitzt Blut zusätzlich puffernde Eigenschaften, sodass die im Rahmen der Ischämie entstehende Azidose ausgeglichen werden kann (Barner, 1991). Trotz der vermeintlichen Vorteile der Blutkardioplegie zeigt eine Metaanalyse 12 randomisierter kontrollierter Studien von Zeng et al. keinen signifikanten Unterschied zwischen der Verwendung kalter Blutkardioplegie und kristalloider Kardioplegie bezüglich 30-Tages-Mortalität, Schlaganfallrisiko und erworbenem Vorhofflimmern. Lediglich hinsichtlich der Rate perioperativer Myokardinfarkte zeigte sich die Blutkardioplegie signifikant überlegen (Zeng et al., 2014). Sá et al. allerdings konnten in einer Metaanalyse 36 randomisierter Studien keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf das Myokardinfarktisiko detektieren und widerlegten in der Gesamtheit die mutmaßliche Überlegenheit von Blutkardioplegie (Sá et al., 2012). Eine Metaanalyse von Guru et al. ergab ebenfalls keinen signifikanten Unterschied beider Kardioplegielösungen bezüglich des Myokardinfarkt-Risikos. Aufgrund einer geringeren Inzidenz des Low-Output-Syndroms sowie einer niedrigeren CKMB-Freisetzung nach Blutkardioplegie kamen sie dennoch zu dem Ergebnis, dass diese einen wirksameren Myokardschutz bietet (Guru et al., 2006). Die Ergebnisse dieser Metaanalysen geben einen Einblick in die ambivalente Datenlage zur Überlegenheit einer der beiden extrazellulären Kardioplegiearten. Um jedoch eine valide Evaluierung vornehmen zu können, müssen die beiden Lösungen so formuliert werden, dass sie sich lediglich in ihrem Hämatokritwert unterscheiden. Ibrahim et al. führten hierzu eine klinische Vergleichsstudie durch und kamen zu dem Ergebnis, dass der Zusatz von Blut zu der bewährten kristalloiden St.-Thomas-Kardioplegie Nr. 1 die Inzidenz von Arrhythmien verringert und eine schnellere Erholung myokardialer Funktionen ermöglicht. Das Resultat deutet darauf hin, dass Blut einen Benefit zum Schutz des Herzmuskels erbringt (Ibrahim et al., 1999).

Die Wirkstoffe zur Erzielung eines elektiven Herzstillstands setzen an den verschiedenen Punkten des Weges von der Erregung der Myokardzelle bis zu deren Kontraktion an. Auf diese Weise wird zwischen einem depolarisierten Stillstand, einem polarisierten Stillstand und einem Stillstand durch Hemmung des Kalziumeinstroms unterschieden (Chambers & Hearse, 2001). Für dieses Verständnis wird im Folgenden sowohl die Generierung des Aktionspotentials als auch die elektromechanische Kopplung erläutert.

Die primäre Funktion der Herzmuskelzelle besteht in der Kontraktion, die durch elektrische Veränderungen in den Myozyten initiiert wird. Das Membranpotential einer ruhenden Herzmuskelzelle beträgt -90 mV und wird durch die Konzentration positiv und

negativ geladener Ionen an der Zellmembran determiniert. Die wichtigsten hierzu gehörenden Ionen sind Kalium, Natrium und Kalzium. Die Konzentration von Kalium ist innerhalb der Zelle hoch und außerhalb der Zelle niedrig. Das Gegenteil ist bei Natrium und Kalzium der Fall (Klabunde, 2012).

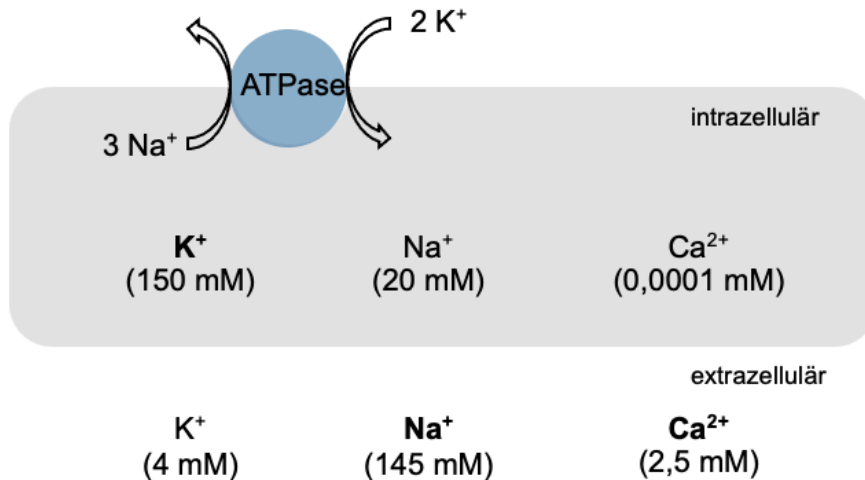


Abbildung 3: Elektrolytkonzentrationen innerhalb und außerhalb des Myozyten bei Ruhemembranpotential (in Anlehnung an Klabunde, 2012)

Die Konzentrationsunterschiede werden durch die Arbeit energieabhängiger Ionenpumpen aufrechterhalten. Eine wichtige Rolle spielt hierbei die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, die drei Natriumionen aus der Zelle hinaus und im Gegenzug zwei Kaliumionen in die Zelle hinein transportiert. Bei ATP-Mangelzuständen kommt es daher zur Akkumulation von Natrium in der Zelle, zum Absinken der intrazellulären Kaliumkonzentration und in der Folge zu einem stärker depolarisierten Ruhemembranpotential (Klabunde, 2012).

Ein wesentlicher Unterschied der Aktionspotentiale von Nerven, Skelett- und Herzmuskulatur besteht in ihrer Dauer. Mit 200 bis 400 ms hat der Myozyt mit Abstand das längste Aktionspotential, das sich in folgende Phasen gliedern lässt:

1. Depolarisation
2. Initiale Repolarisation
3. Plateau
4. Repolarisation

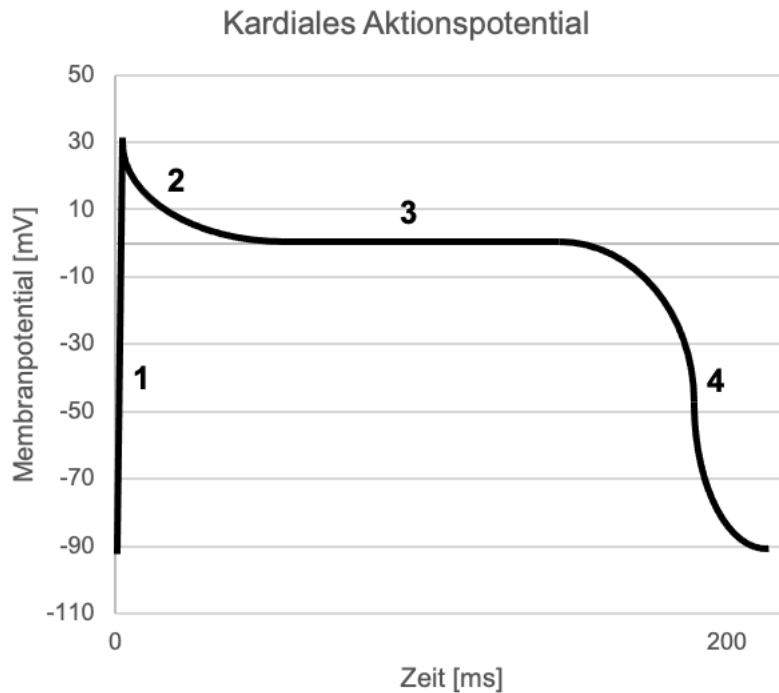


Abbildung 4: Kardiales Aktionspotential (in Anlehnung an Klabunde, 2012)

Wenn das Membranpotential von -90 mV auf -70 mV ansteigt, beispielsweise durch ein weitergeleitetes Aktionspotential einer benachbarten Zelle, öffnen sich spannungsgesteuerte Natriumkanäle, was über den Einstrom von Natrium zu einer schnellen Depolarisation führt. Auf diese Phase folgt eine initiale Repolarisation, bedingt durch die Öffnung spezieller Kaliumkanäle sowie die Inaktivierung der Natriumkanäle. Die anschließende Plateauphase entsteht durch einen Kalziumeinstrom über L-Typ-Kalziumkanäle, die sich bei Depolarisation des Membranpotentials auf etwa -40 mV öffnen. Zur finalen Repolarisation kommt es durch den Einstrom von Kalium. Während der ersten drei Phasen und zu Beginn der vierten Phase befindet sich die Zelle in einem Zustand der absoluten Refraktärität. In dieser Zeit kann kein neues Aktionspotential ausgelöst werden. Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich die spannungsabhängigen Natriumkanäle in einem geschlossenen, inaktiven Zustand befinden. Wenn die Kanäle nach und nach ihren Ruhezustand wiedererlangen, setzt die relative Refraktärperiode ein. In dieser kann ein Aktionspotential ausgelöst werden, jedoch lediglich durch einen überschwelligeren Reiz (Klabunde, 2012).

Die Kontraktion der Muskelzelle erfolgt gemäß der Gleitfilamenttheorie durch eine Interaktion von Aktin und Myosin, die ohne Veränderung ihrer Eigenlänge ineinander gleiten und dadurch die Länge des Muskels verkürzen (Huxley & Niedergerke, 1954; Huxley & Hanson, 1954). Der als elektromechanische Kopplung bezeichnete Prozess der Umwandlung des Aktionspotentials in eine solche mechanische Verkürzung wird im Folgenden erläutert.

Der Einstrom von Kalzium über die L-Typ-Kalziumkanäle im Sarkolemm und den T-Tubuli führt intrazellulär zu einer Kalzium-induzierten Kalziumfreisetzung aus den terminalen Zisternen über sogenannte Ryanodin-Rezeptoren. Kalzium bindet anschließend an Troponin C, was in einer Konformationsänderung des Troponin-Tropomyosin-Komplexes resultiert. Hierdurch wird die Myosin-Bindungsstelle freigelegt, sodass Myosin im 90°-Winkel an Aktin bindet. Durch ATP-Hydrolyse erfolgt dann die Abknickung des Myosinkopfes um 45°, was zu Verkürzung der Sarkomere führt. Bei Bindung eines neuen ATP-Moleküls an das Myosinköpfchen wird dieses wieder vorgespannt und der Querbrückenzyklus kann erneut ablaufen. Voraussetzung ist jedoch eine weiterhin ausreichend hohe Kalziumkonzentration in der Zelle. Gegen Ende des Aktionspotentials nimmt der Kalziumeinstrom in die Zelle ab und es erfolgt eine Wiederaufnahme des Ions in das sarkoplasmatische Retikulum über die SERCA, eine ATP-abhängige Kalziumpumpe (Klabunde, 2012).

### Depolarisierter Arrest

Im Jahre 1883 fand Sidney Ringer mithilfe einer Reihe von Experimenten an Froschherzen heraus, dass Kalium einen diastolischen Herzstillstand auslöst (Ringer, 1883). Mit zunehmender extrazellulärer Kaliumkonzentration kommt es zu einer Depolarisation des Ruhemembranpotentials (Sperelakis et al., 2001). Durch eine Inaktivierung spannungsabhängiger Natriumkanäle bei Kaliumkonzentrationen um 10 mmol/L wird so die Ausbildung eines Aktionspotentials verhindert, was in einem diastolischen Herzstillstand resultiert. Die therapeutische Breite erhöhter extrazellulärer Kaliumkonzentrationen ist allerdings auf Werte zwischen 10 und 30 mmol/L beschränkt, da es bei höheren Werten über eine weitere Depolarisierung des Membranpotentials zu einer Aktivierung von L-Typ-Kalziumkanälen mit der Folge einer intrazellulären Kalziumüberladung kommt (Opie, 2004).

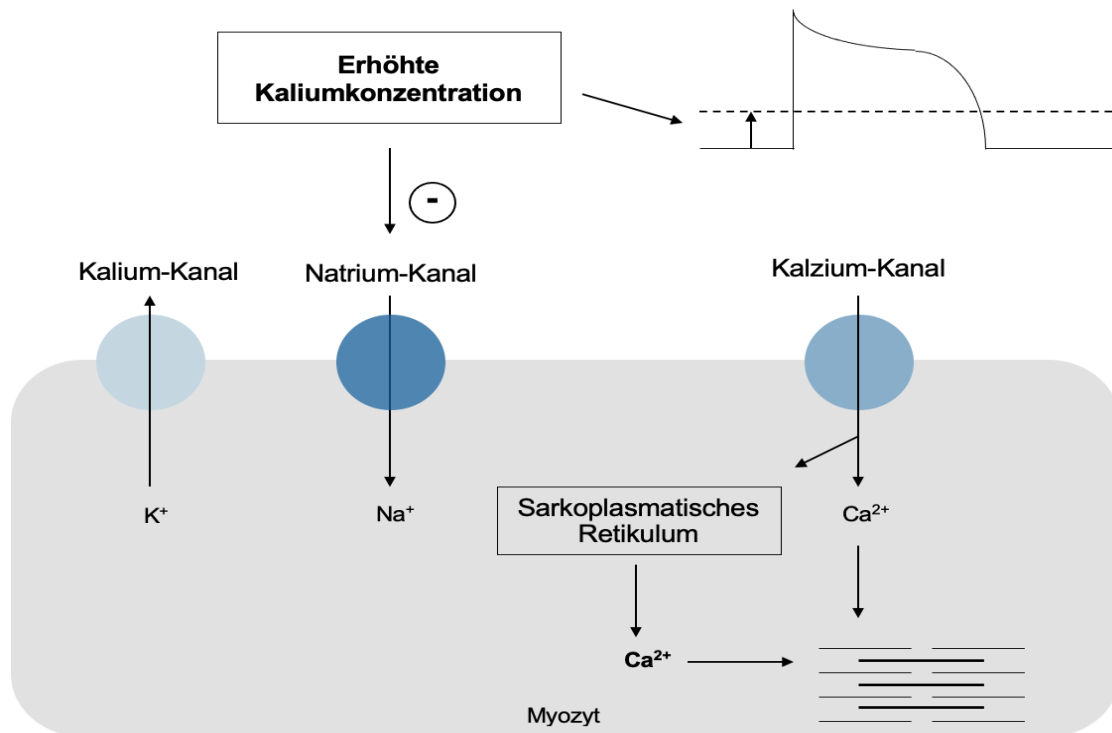


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Wirkweise des depolarisierten Arrestes auf zellulärer Ebene (in Anlehnung an Chambers & Hearse, 2001)

## Polarisierter Arrest

Als Alternative zur Verwendung erhöhter Kaliumkonzentrationen zur Erzielung eines depolarisierten Arrests kann ein elektromechanischer Herzstillstand in einem polarisierten oder hyperpolarisierten Zustand induziert werden. Dieser Zustand zeichnet sich durch ein Membranpotential nahe dem Ruhepotential oder negativer als dieses aus. Dies impliziert eine Reihe von Vorteilen. Zum einen bedarf es durch das erhaltene Ionengleichgewicht einer geringeren Stoffwechselaktivität zur Generierung von ATP für etwaige Ionenpumpen, was den Erhalt myokardialer Energiespeicher gewährleistet. Zum anderen wird ein Einstrom von Natrium und Kalzium in die Zelle verhindert, da bei diesen Membranpotentialen die entsprechenden Kanäle geschlossen sind (Chambers & Hearse, 1999). Ein polarisierter Arrest kann auf verschiedene Weise erreicht werden.

Im Jahr 1988 konnte von Bellardinelli et al. an Schrittmacherzellen von Kaninchenherzen nachgewiesen werden, dass die Verabreichung von Adenosin zu einer dosisabhängigen Verlangsamung des Herzschlags führt und eine Konzentration von 50  $\mu\text{mol}$  einen vollständigen Herzstillstand sowie eine Hyperpolarisation von -12 mV hervorruft (Bellardinelli et al., 1988). Die Mechanismen, die zur Erzielung des schnellen Herzstillstands führen sind zum einen auf eine Erhöhung der Kalium-Permeabilität (Bellardinelli et al., 1988), zum anderen auf eine Verminderung der Kalzium-Permeabilität (Schrader et al., 1975) zurückzuführen. Schubert et al. verglichen mit Experimenten an

perfundierten Rattenherzen eine Kardioplegie, die Adenosin enthält mit einer hyperkaliämischen Kardioplegie. Gemäß ihrer Ergebnisse ist Adenosin aufgrund einer kürzeren Dauer bis zum Erreichen eines Herzstillstands, verbunden mit einem höheren Spiegel an Kreatinphosphat, einem Energielieferanten zur Regeneration von ATP sowie einer besseren mechanischen Erholung nach Kardioplegie das überlegene kardioplegische Agens (Schubert et al., 1989). Adenosin scheint jedoch nicht nur allein, sondern auch als Zusatz zu einer hyperkaliämischen Kardioplegie mit Vorteilen bezüglich der Arrestzeit sowie der postischämischen Erholung assoziiert zu sein. Grund dafür ist möglicherweise die Hyperpolarisation der Membran durch Adenosin vor der Depolarisation durch Kalium, wie elektrophysiologische Untersuchungen an Sinusknotenzellen von Rattenherzen zeigten (Jong et al., 1990).

Auf eine ähnliche Weise wie Adenosin bringt auch Acetylcholin das Herz zum Stillstand, indem es die Erregungsbildung im Sinusknoten sowie die sinoatriale Erregungsweiterleitung blockiert (Woods et al., 1981). Allerdings fand Acetylcholin als kardioplegisches Agens in der Herzchirurgie nur kurz Beachtung, da Studien zeigten, dass die Verwendung mit einer Verschlechterung der Myokardfunktion einhergeht (Greenberg et al., 1960; Waldhausen et al., 1960).

Eine weitere Möglichkeit, einen polarisierten Arrest zu erreichen, besteht in der Verabreichung von Natriumkanalblockern, beispielsweise Lidocain oder Procain. Durch die Blockade der spannungsabhängigen Natriumkanäle bleibt die schnelle Depolarisation im Rahmen des Aktionspotentials aus (Drasner, 2012). Ein Nachteil des Einsatzes von Lokalanästhetika ist allerdings ihre dosisabhängige Wirkung, die bei hohen Konzentrationen mit schädigenden Eigenschaften assoziiert ist. Der Zusatz von Procain oder Lidocain zur St.-Thomas-Kardioplegie konnte bei Konzentrationen zwischen 0,001 und 0,1 mmol/L den Myokardschutz verbessern, führte jedoch bei Konzentrationen >1 mmol/L zu einer Verringerung der schützenden Eigenschaften der kardioplegischen Lösung (Hearse et al., 1981). Fiore et al. konnten zeigen, dass Lidocain als Zusatz zu einer hyperkaliämischen Blutkardioplegie die Inzidenz postoperativen Vorhofflimmerns senkt, allerdings keine signifikanten Vorteile bezüglich der Freisetzung kardialer Enzyme, der Hämodynamik oder des klinischen Outcomes aufweist. Sie verwiesen zusätzlich auf die Limitation des Einsatzes der Lokalanästhetika bei Personen mit Lebererkrankungen aufgrund der hepatischen Metabolisierung (Fiore et al., 1990).

Auch durch die Aktivierung ATP-abhängiger Kaliumkanäle kann ein polarisierter Herzstillstand erzielt werden, der durch Reperfusion reversibel ist. Die Kanäle werden durch intrazelluläres ATP inhibiert und diese Hemmung wird durch ADP wieder aufgehoben (Nichols & Lederer, 1991). Während einer Ischämie führt ein Anstieg der

intrazellulären ADP-Konzentration daher zu einem Ausstrom von Kalium aus der Zelle, mit dem Resultat einer Verkürzung des Aktionspotentials und eines Verlustes der Erregbarkeit (Haverkamp et al., 1995). Zur Gruppe der Kaliumkanal-Öffner gehören unter anderem Substanzen wie Nicorandil, Pinacidil und Cromakalim (Robertson & Steinberg, 1990). Da ihre Wirkung auf die Kaliumleitfähigkeit maßgeblich von der ATP-Konzentration beeinflusst wird, wobei die Effekte bei niedrigen Konzentrationen stärker ausgeprägt sind als bei hohen, lässt sich ableiten, dass Kaliumkanalöffner während einer Ischämie in besonderem Maße wirksam sind (Nakayama et al., 1991). Am isolierten Rattenherzmodell fanden Cohen et al. heraus, dass die Verwendung eines Kaliumkanalöffners verglichen mit der Verwendung einer hyperkaliämischen Kardioplegie mit einer signifikant besseren postischämischen Erholung der myokardialen Funktionen einhergeht (Cohen et al., 1993). Es hat sich gezeigt, dass diese kardioprotektiven Eigenschaften zumindest teilweise auf den Erhalt energiereicher Phosphatspeicher (Grover et al., 1991) sowie auf eine Optimierung der Sauerstoffnutzung zurückzuführen sind (Grover et al., 1990). Auch als Zusatz zu einer hyperkaliämischen Kardioplegie haben sich Kaliumkanalöffner als förderlich für die Wiederherstellung der kardialen Kontraktilität herausgestellt (Hosoda et al., 1994; Qiu et al., 1995), was vermutlich durch eine Verringerung des kaliuminduzierten Kalziumeinstroms bedingt ist (López et al., 1996). Lawton et al. kamen zu dem Ergebnis, dass die Verwendung von Pinacidil oder Aprikalim als kardioplegische Agenzien einen vergleichbaren Myokardschutz wie die St.-Thomas-Kardioplegie bietet. Allerdings trat bei Einsatz der Kaliumkanalöffner häufiger Kammerflimmern in der Reperfusionphase auf (Lawton et al., 1996). Einige weitere Studien verweisen ebenfalls auf proarrhythmische Effekte der Kaliumkanalöffner (Chi et al., 1990; Grover et al., 1990), andere wiederum belegen eine antiarrhythmische Wirkung (Fish et al., 1990; Kerr et al., 1985). Diese ambivalenten Ergebnisse sind möglicherweise zurückzuführen auf unterschiedliche Rahmenbedingungen, unter denen die Arrhythmien auftreten, Stoffwechselbedingungen, zusätzlich verwendete Substanzen oder Speziesunterschiede.

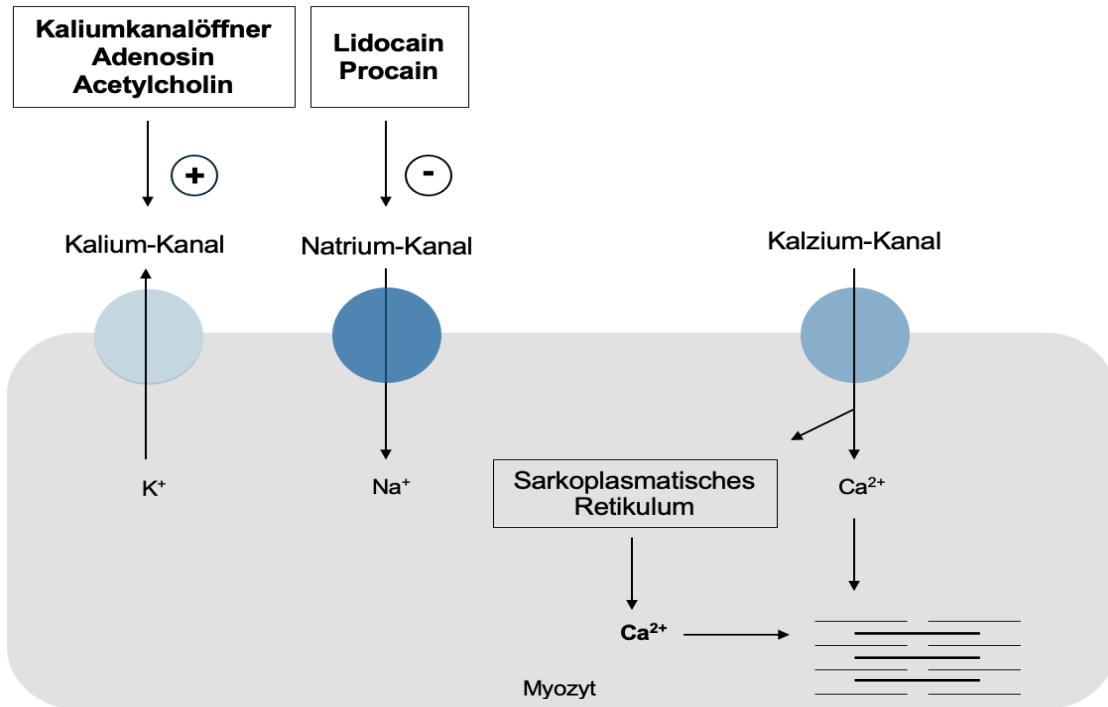


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Wirkweise des polarisierten Arrestes auf zellulärer Ebene (in Anlehnung an Chambers & Hearse, 2001)

### Arrest durch Hemmung des Kalziumeinstroms

Wie oben bereits beschrieben, spielt Kalzium eine essenzielle Rolle in der Generierung des Aktionspotentials und der Kontraktion der Muskelzelle. Die Hemmung des Kalziumeinstroms zur Erzielung eines Herzstillstands kann dabei auf unterschiedliche Art und Weise erfolgen.

Die Abwesenheit von Kalzium im Extrazellulärraum verhindert den Einstrom dieses Ions in die Zelle während der dritten Phase des Aktionspotentials. Dadurch wird sowohl die kalziuminduzierte Kalziumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum als auch die elektromechanische Kopplung verhindert, sodass es zum Herzstillstand kommt (Rich et al., 1988). Allerdings birgt die Reperfusion des Herzens mit einer kalziumhaltigen Lösung nach Verwendung einer kalziumfreien Flüssigkeit die Gefahr der Entstehung von Kontrakturen und erheblichen ultrastrukturellen Schäden durch einen intrazellulären Kalziumüberschuss, was als Kalziumparadoxon bezeichnet wird (Chapman & Tunstall, 1987; Zimmerman & Hülsmann, 1966). Während des Kalziummangels kommt es zu einem Anstieg intrazellulären Natriums (Chapman et al., 1984). Erfolgt nun die Reperfusion mit einer kalziumhaltigen Lösung, strömt gemäß Experimenten von Dhalla et al. Kalzium über den Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-Austauscher der Myozytenmembran in die Zelle. Sie kamen zu dieser Annahme, da eine Senkung der Natriumkonzentration im kalziumfreien Medium zu einer Reduktion der durch die Reperfusion induzierten myokardialen

Schädigung führt (Dhalla et al., 1983). Doch nicht nur eine niedrige Natriumkonzentration in der Perfusionslösung zeigt einen protektiven Effekt, auch Magnesium und Procain scheinen vorteilhaft zur Prävention des Kalziumparadoxons (Jynge, 1980).

Der Kalziumeinstrom im Rahmen des Aktionspotentials kann jedoch auch durch Blockade der L-Typ-Kalziumkanäle gehemmt werden, was zum einen durch erhöhte extrazelluläre Magnesiumkonzentrationen, zum anderen medikamentös durch Kalziumkanalblocker erzielt werden kann.

Die genaue Wirkung von Magnesium ist am ehesten auf zwei Mechanismen zurückzuführen. Zum einen dient es als Kofaktor bei jeglichen energieverbrauchenden Prozessen als Teil des aktiven ATP-Moleküls. Dementsprechend führt ein Mangel an Magnesium über eine verminderte Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase zu einer intrazellulären Anhäufung von Natrium (Chang et al., 1985). Dies wiederum resultiert in einer verstärkten Aktivität des  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers mit der Folge einer Kalziumüberladung des Myozyten (Burt, 1982). Zum anderen fungiert es über die Regulation der neuromuskulären Funktion des Kalziums als physiologischer Kalziumblocker (Iseri & French, 1984). Eine Erhöhung der extrazellulären Magnesiumkonzentration bewirkt eine Abnahme der Kontraktilität bis hin zur Induktion eines Herzstillstands (Shattock et al., 1987). Experimente von Shine et al. zeigten, dass Magnesium zu einer Verringerung der Spannung der interventrikulären Scheidewand von Rattenherzen führt, wobei dieser Effekt durch kalziumhaltige Infusionen antagonisiert werden konnte. Sie schlussfolgerten daraus, dass die negativ inotrope Wirkung von Magnesium durch eine Interaktion mit Kalzium bedingt ist (Shine & Douglas, 1974). Aus tierexperimentellen Ergebnissen geht hervor, dass eine Konzentration von 15 mmol/L Magnesium als Zusatz zu einer hyperkaliämischen Kardioplegie die postischämische ventrikuläre Leistung verbessert (Brown et al., 1991; Hearse et al., 1978b), höhere Magnesium-Konzentrationen jedoch zu einer Verschlechterung der myokardialen Erholung führen (Hearse et al., 1978b).

Die medikamentöse Blockade der L-Typ-Kalziumkanäle erfolgt durch sogenannte Kalziumantagonisten. Unter adäquat hohen Konzentrationen ist diese Substanzklasse als kardioplegisches Agens wirksam, da sie durch Hemmung des Kalziumeinstroms zu einer Inhibition der elektromechanischen Kopplung führt (Fleckenstein & Fleckenstein-Grün, 1988; Vouhé et al., 1980). Kalziumantagonisten vereinen dementsprechend durch die Hemmung des Kalziumeinstroms zwei Vorteile bezüglich der Kardioprotektion: zum einen stellen sie die Kardioplegie sicher, zum anderen hemmen sie den durch die Ischämie entstehenden Kalziumüberschuss und die daraus resultierende Myokardkontraktur in der Reperfusionphase. Diese Vorteile werden jedoch überschattet von ihrer Dosis- und Temperaturabhängigkeit. Unter hypothermen

Bedingungen konnten sowohl Diltiazem (Yamamoto et al., 1983a) als auch Verapamil (Yamamoto et al., 1983b) und Nifedipin (Yamamoto et al., 1983c) keinen adäquaten Myokardschutz gewährleisten.

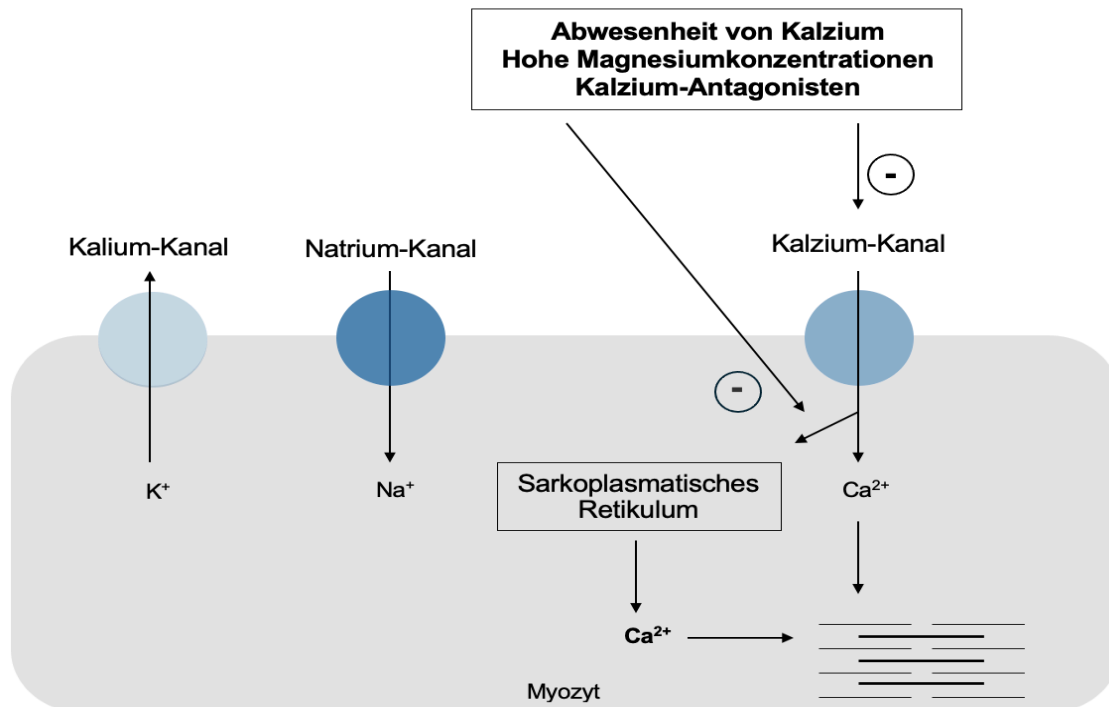


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Wirkweise des Arrestes durch Hemmung des Kalziumeinstroms auf zellulärer Ebene (in Anlehnung an Chambers & Hearse, 2001)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Schutz des Myokards während herzchirurgischer Eingriffe seit vielen Jahren durch die Verwendung hyperkaliämischer, entweder kristalloider oder blutbasierter Lösungen erfolgt. Die Gefahr ionischer Ungleichgewichte als Folge der Depolarisation führte jedoch mit der Zeit zur Erforschung alternativer Wirkmechanismen, die durch Aufrechterhaltung des Membranpotentials diese schädlichen Auswirkungen verringern. Mittlerweile gibt es zahlreiche Wirkstoffe, die einen polarisierten Herzstillstand auslösen können, jedoch scheint die optimale Kardioplegie noch immer nicht gefunden, sodass es weiterer innovativer Forschungsstudien zu diesem Thema bedarf.

## Calafiore Kardioplegie

Im Zuge dieser Arbeit erfolgte ein Vergleich zwischen der Del Nido- und der Calafiore Kardioplegie, wobei beide zu den Blutkardioplegien gehören.

In einer Publikation von 1994 verglichen Calafiore et al. eine warme, hyperkaliämische Blutkardioplegie mit einer kalten, kristalloiden Kardioplegie. Beide Lösungen wurden

intermittierend und antegrad verabreicht. Es zeigte sich bei Verwendung der Blutkardioplegie eine signifikant niedrigere Mortalität, am ehesten zurückzuführen auf eine niedrigere Morbidität, gemessen unter anderem an der Notwendigkeit kreislaufunterstützender Maßnahmen (Calafiore et al., 1994). In ihrer ursprünglichen Formulierung enthielt die Calafiore Kardioplegie als einziges Additiv Kalium, welches über eine partielle Depolarisation der Zellmembran einen diastolischen Herzstillstand bewirkt. Als Nebenwirkung kommt es allerdings zu einer Kalziumüberladung durch Einstrom über L-Typ-Kalziumkanäle und damit verbunden zu irreversiblen Myokardschäden (Ataka et al., 1993; Tani, 1990). Durch Zugabe von Magnesium als Blocker der L-Typ-Kalziumkanäle erfolgte durch Caputo et al. eine Modifikation der Calafiore Kardioplegie mit dem Vorteil eines optimierten Substrathaushaltes in der frühen Reperfusionphase (Caputo et al., 1998).

Calafiore Kardioplegie kann nicht nur warm, sondern auch kalt verabreicht werden. Sowohl tierexperimentell (Böning et al., 2014) als auch klinisch (Baig et al., 2015; Calafiore et al., 1995) konnten allerdings Vorteile zugunsten der warmen Verabreichungsart festgestellt werden. Diese Überlegenheit äußerte sich tierexperimentell insbesondere durch eine bessere kardiale Erholung in der Reperfusionphase sowie ein geringeres Myokardödem (Böning et al., 2014). Weiterhin ist die warme Verabreichungsart im Vergleich zur kalten mit einer Reduktion oxidativen Stresses (Mezzetti et al., 1995), einer geringeren Inzidenz ventrikulärer Arrhythmien sowie niedrigeren Ischämie markern assoziiert (Franke et al., 2003).

## Del Nido Kardioplegie

Die Del Nido Kardioplegie wurde in den 1990er Jahren von Pedro del Nido und seinem Team an der Universität Pittsburgh entwickelt. Sie setzt sich zusammen aus Plasmalyte A, Mannitol, Magnesiumsulfat, Bikarbonat, Kaliumchlorid und Lidocain. Die einzelnen Bestandteile tragen mit ihren verschiedenen Eigenschaften und Wirkungen in ihrer Gesamtheit zur Protektion des Herzmuskels während der Ischämiezeit bei. Das Verhältnis von kristalloider Lösung zu Blut des Patienten beträgt 4:1 (Matte & del Nido, 2012).

Als Basislösung der Del Nido Kardioplegie dient Plasmalyte A. Diese besitzt einen pH-Wert von 7,4 und enthält 140 mmol/l Natrium, 5 mmol/l Kalium, 5 mmol/l Magnesium, 98 mmol/l Chlorid, 27 mmol/l Acetat und 23 mmol/l Gluconat. Die Elektrolytzusammensetzung ähnelt somit der extrazellulären Flüssigkeit, wobei kein Kalzium enthalten ist. Durch die Blutkomponente sind jedoch in der final zu

verabreichenden Lösung Kalziumspuren nachweisbar (Matte & del Nido, 2012; Sanetra et al., 2018).

Während eines Herzstillstands und im Rahmen der Reperfusion entstehen freie Sauerstoffradikale, die eine wichtige Rolle in der Entstehung postischämischer Gewebeschäden spielen (McCord, 1985). Dazu zählen Superoxidanionen, Wasserstoffperoxid und Hydroxylradikale. Im gesunden Herzmuskelgewebe fangen diverse intrazelluläre Enzyme diese freien Sauerstoffradikale ab. Die Superoxidanionen werden durch die Superoxid-Dismutase in Wasserstoffperoxid und Sauerstoff zerlegt. Eine Katalase und die Gluthation-Peroxidase katalysieren im Anschluss den Abbau von Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff (Werns et al., 1986). Mannitol dient als Radikalfänger und reduziert aufgrund seiner osmotischen Wirkkomponente das Ausmaß einer ischämischen Zellschwellung und möglichen Myokardnekrose erheblich (Powell et al., 1976). Willerson et al. untersuchten den Effekt von Mannitol in ischämischem Herzmuskelgewebe an Hunden. Sie fanden heraus, dass Mannitol die Myokardfunktion verbessert, eine ST-Segment-Erhöhung im EKG reduziert und den koronaren Gesamtblutfluss sowie den kollateralen koronaren Blutfluss erhöht (Willerson et al., 1972).

Während des Herzstillstands ist die Energiegewinnung durch aerobe Stoffwechselprozesse eingeschränkt, sodass auf die anaerobe Glykolyse zurückgegriffen wird. Die Anhäufung insbesondere von Wasserstoffionen und Laktat als Endprodukte der anaeroben Glykolyse während der Ischämie führt jedoch zu einer Hemmung des Glukosestoffwechsels (Rovetto et al., 1975). Natriumbikarbonat dient als Puffer und trägt so zum einen zu einer verbesserten ATP-Versorgung des Myokards, zum anderen zu einer Stabilisierung des intrazellulären pH-Wertes bei (del Nido et al., 1985).

Die Herzmuskelfunktion wird entscheidend beeinflusst von der intrazellulären Kalziumkonzentration. Die intrazelluläre Kalziumhomöostase spielt dabei insbesondere in der Entstehung von Reperfusionsschäden eine wichtige Rolle (Allen & Orchard, 1987). Shen et al. konnten zeigen, dass es nach 40-minütiger Ischämie, gefolgt von 20-minütiger Reperfusion zu einem deutlichen Anstieg intrazellulären Kalziums kommt (Shen & Jennings, 1972). Ist die Kalziumkonzentration erhöht, kommt es zu einer Störung der Myokardrelaxation (Matte & del Nido, 2012). Unter ischämischen Bedingungen kommt es in der Herzmuskelzelle zu einer Erhöhung der Natrium- und Kalziumkonzentration. Wird die Zelle wieder mit Sauerstoff und Stoffwechselprodukten versorgt, wird die Arbeit verschiedener Ionenpumpen reaktiviert. Durch die Kalziumpumpe des Sarkoplasmatischen Retikulums kommt es vorübergehend zu einer

Aufnahme überschüssigen Kalziums in dieser Organelle. Wird die Speicherkapazität des sarkoplasmatischen Retikulums allerdings überschritten, resultiert ein kontinuierlicher Prozess der Freisetzung und Wiederaufnahme von Kalzium durch diese Zellorganelle (Siegmund et al., 1992). Die Erholung von diesem intrazellulären Kalziumüberschuss setzt die Verfügbarkeit von extrazellulärem Natrium sowie einen intakten  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher voraus, sodass Kalzium im Austausch mit Natrium aus der Zelle heraus transportiert werden kann (Siegmund et al., 1994). Werden diese Ionenpumpen während der Ischämieperiode allerdings gravierend beschädigt, ist eine Normalisierung der Kalziumkonzentration nicht möglich, mit der Folge einer Kalziumüberladung (Piper & García-Dorado, 1999).

Magnesium, ein zweiwertiges Kation, ist für jegliche ATPase-Aktivitäten notwendig und spielt daher eine essenzielle Rolle beim Kalziumeinstrom in die Zelle sowie der Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Speichern. Magnesium fungiert als natürlicher Kalziumkanalblocker und verbessert dadurch die ventrikuläre Erholung (Iseri & French, 1984). Lidocain ist ein Natriumkanalblocker, gehört zur Klasse Ib der Antiarrhythmika und reduziert über die Hemmung der schnellen Depolarisation die ventrikuläre Erregbarkeit (Butterworth, 2013). Daraus resultiert, wie oben bereits beschrieben, ein polarisierter Herzstillstand, bei welchem die Aktivität jeglicher Ionenpumpen vermindert ist, wodurch es zur Einsparung von Energiereserven kommt (Dobson & Jones, 2004). Zusätzlich hat sich die Blockierung der Natriumkanäle als effektive Methode zur Verhinderung der Natrium- und Kaliumüberladung während Ischämie und Reperfusion erwiesen (Hove et al., 2007). Kalium als Bestandteil der Del Nido Kardioplegie dient der Erzielung eines Herzstillstands durch Verschiebung des Ruhemembranpotentials (Sperelakis et al., 2001). Die Del Nido Kardioplegie kann daher in ihrer Gesamtheit als modifiziertes depolarisierendes Agens angesehen werden, was in erster Linie auf die Eigenschaften von Magnesium und Lidocain zurückzuführen ist.

Zielsetzung dieser Arbeit ist es, die ursprünglich für die neonatale und pädiatrische Herzchirurgie entwickelte Del Nido Kardioplegie hinsichtlich ihrer kardioprotektiven Eigenschaften an adulten Rattenherzen zu evaluieren sowie mit der Calafiore Kardioplegie zu vergleichen.

# Material und Methoden

## Laborgeräte

73-3757 Fiberoxygenator D150	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Absaugpumpe egnell compact 25	Ameda B-1800 Vilvoorde Belgien
Advia Centauer XP	Siemens Healthcare GmbH D-91052 Erlangen
Aortenkanüle aus Edelstahl ID: 1,5 mm AD: 2,0 mm	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
BGA Gerät Rapidlab 348	Siemens Healthineers AG D-65760 Eschborn
Bluttransfusionsfilter	Haemonetrics, D-80469 München
Brückenverstärker	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Cryo.s	Greiner Bio-One GmbH D-72636 Frickenhausen
Druckaufnehmer Braun Combitrans	B. Braun, Melsungen AG D-34209 Melsungen
Effluent Funnel	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Exsikkator (6L)	Carl Roth GmbH + Co. KG, D-76185 Karlsruhe
Filter/-halter Swinnex	EMD Millipore Headquarters Billerica, MA 01821
Isolated Heart ICH-SR Appartus Type: 844/1	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten

Material und Methoden

Lactat Photometer plus DP110	Diaglobal GmbH D-12555 Berlin
Latexballon Größe 5/6	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Magnetic Stirrer HI 190M	Hanna instruments Deutschland GmbH D-77694 Kehl am Rhein
Magnetrührer yellow line yellow MAG HS 7	IKA-Werke GmbH & Co. KG D-79219 Staufen
Multiply®-Pro cup 0.5 ml, PP	Sarstedt AG & Co D-51588 Nümbrecht
Pall Bluttransfusionsfilter SQ40SE	Pall GmbH D-63303 Dreieich
Perfusatbehälter, doppelwandig, 1,0 l	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Perfusor 11 plus	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Pipetten Eppendorf Research 10	Eppendorf AG D-22339 Hamburg Hummelsbüttel
Pipetten Eppendorf Research 100	Eppendorf AG D-22339 Hamburg Hummelsbüttel
Pipetten Eppendorf Research 1000	Eppendorf AG D-22339 Hamburg Hummelsbüttel
Präzisionswaage Kern EW	Kern & Sohn GmbH D-72336 Balingen
Reagiergefäß 0,5 ml	Sarstedt AG & Co D-51588 Nümbrecht
Reagiergefäß 1,5 ml	Sarstedt AG & Co D-51588 Nümbrecht
Schlauchpumpe Ismatec Reglo digital ISM 834/230	Ismatec-Idex Health & Science GmbH D-97877 Wertheim
Software HSE Isoheart W	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten

Transmissionselektronenmikroskop Zeiss LEO 906	Carl Zeiss AG D-73447 Oberkochen
Tygon Pumpenschläuche (ID: 3,18 mm)	Ismatec-Ilex Health & Science GmbH D-97877 Wertheim
Veterinary Fluosorber	Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Waage EMB 2200-0	Kern & Sohn GmbH D-72336 Balingen
Wärmepumpe Ecoline Lauda E100	Lauda Dr. R Wobser GmbH & Co. KG D-97922 Königshofen
Zentrifuge 4-16-K	Sigma D-37520 Osterode am Harz

## Chemikalien

Bicarbonate Buffer	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
BSA (Bovine Serum Albumin) Fraction V pH 7,0	GE Healthcare Bio-Sciences Austria GmbH A-4061 Pasching
Calciumchlorid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Carbogen 5% CO <sub>2</sub> 95% O <sub>2</sub>	Praxair Deutschland GmbH D-40476
EDTA- Dinatriumsalz Dihydrat (Titerkomplex III)	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Epon	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Ethanol	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Gentamicin-ratiopharm 160 mg/2 ml SF	Ratiopharm GmbH D-89079 Ulm
Glukose	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe

Material und Methoden

Glutardialdehyd 25%	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Heparin-Natrium-25000-ratiopharm	Ratiopharm GmbH D-89079 Ulm
HEPES buffer solution, 1 M in H <sub>2</sub> O	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Insuman Rapid 40 I.E./ml	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH D-65926 Frankfurt
Isofluran Baxter	Baxter Deutschland GmbH D-85716 Unterschleißheim
Kaliumchlorid	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
KCL 14,9%	B. Braun SE D-34212 Melsungen
Kaliumdihydrogenphosphat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Lidocain 2%	B. Braun SE 3D-4212 Melsungen
Magnesiumsulfat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Mannitol 15%	Caesar & Loretz GmbH, D-40721 Hilden
MgSO <sub>4</sub> 50%	Inresa Arzneimittel GmbH D-79114 Freiburg
NaHCO <sub>3</sub> 8,4%	SERAG-WIESSNER GmbH & Co. KG D-95119 Naila
Natriumchlorid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Natriumhydrogencarbonat	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Osmiumtetroxid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Paraformaldehyd	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Plasma Lyte A	Baxter S.A. 7860 Lessines

Propylenoxid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
RBS 35 Konzentrat (Reiniger)	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Salzsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Uranylacetat	Merck KGaA D-64293 Darmstadt

## Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelt es sich um circa drei Monate alte, männliche, unkastrierte Wistar-Ratten der Farbe „Albino“ (weißes Fell, rötliche Augen). Diese werden von der Firma Janvier Labs, CS 4105 Le Genest-Saint-Isle, F-53941 Saint-Berthevin Cedex, bezogen. Die Ratten wachsen dort in geschützter Umgebung mit einem Tag-/Nachtzyklus von 12 h/12 h auf. Um hygienische Standards zu gewährleisten, werden alle Materialien oder Gegenstände, die in Kontakt mit den Tieren kommen, sterilisiert beziehungsweise autoklaviert. Die Einstreu besteht aus ausgewählten Naturfasern aus Weichholz. Bis zu einem Alter von circa 12 Wochen erhalten die Ratten Futter mit einem Anteil von 18% Rohprotein, danach mit einem Anteil von 15% Rohprotein. Das Trinkwasser wird aus dem öffentlichen Versorgungsnetz bezogen und intern auf einen pH-Wert von 5 angesäuert sowie auf 7ppm Chlor chloriert. Die Käfige sind außerdem mit artgerechtem Zubehör ausgestattet, das es den Tieren ermöglicht, ihre natürlichen Verhaltensweisen auszuleben.

Wenn die Tiere in Gießen eintreffen, werden sie übergangsweise im Versuchstierstall des Physiologischen Instituts, Aulweg 129, untergebracht. Dort herrscht eine Temperatur zwischen 20 und 24 °C, die Luftfeuchtigkeit beträgt 45-65 %. Der Hell-Dunkel-Rhythmus ist 14 h/10 h, wobei die Hellphase von 5 bis 19 Uhr MEZ (Winterzeit), beziehungsweise von 6 bis 20 Uhr MESZ (Sommerzeit) geht. Die Ratten werden dort in offenen Käfigen Typ IV gruppenweise auf Holzspänestreu gehalten. Sie erhalten pelletiertes Futter der Firma Altromin, Artikel 1324 TPF (Total Pathogen Free), sowie gefiltertes Trinkwasser ad libitum. Gemäß den Empfehlungen der FELASA findet vierteljährlich eine Hygieneüberwachung statt.

## Tötung und Organentnahme

Am Versuchstag werden die Ratten aus dem Versuchstierstall zum Laborraum gebracht, wo sie zunächst aus ihrem Käfig in einen Exsikkator gesetzt werden. Dieser wird anschließend mithilfe eines Tuches abgedunkelt, um die Tiere möglichst wenig Stress auszusetzen. Nach circa 30 Minuten folgt dann die Inhalationsnarkotisierung mit 1,6 mL Isofluran, welches mithilfe eines Tupfers in den Exsikkator eingebracht wird. Kurze Zeit später tritt eine vollständige Bewusstlosigkeit des Tieres ein, welche durch Überprüfung des Kornealreflexes verifiziert wird. Anschließend erfolgt die Tötung der Ratten durch einen Genickbruch. Nach sofortiger Umlagerung auf den Rücken erfolgt die Eröffnung des Thorax mit anschließender Darstellung des Herzens. Dieses wird von den umliegenden Strukturen, wie Thymus, Lunge und Diaphragma, freipräpariert und dann extirpiert. Es folgt eine Feinpräparation in circa 8 °C kalter NaCl-Lösung, bevor das Herz durch Kanülierung der Aorta in die Langendorff-Apparatur eingesetzt wird.

## Blutperfusat

Zur Herstellung des Blutperfusats wird Rinderblut benötigt. Dieses wird durch Auffangen in heparinisierten Gefäßen (1,5 mL Heparin-Natrium-25000 pro 1 L Blut) im Zuge der Schlachtung von Rindern gewonnen. Anschließend erfolgt eine fünfminütige Zentrifugierung mit 1500 G ohne Bremse. Der dadurch entstehende Überstand wird abgesaugt und verworfen und der übrige Teil dreimal mit 0,9 % NaCl gewaschen. Anschließend erfolgt eine Mischung des Erythrozyten-Konzentrats mit 0,9 % NaCl im Verhältnis 1:1. Zum Zweck einer besseren Haltbarkeit wird dem Gemisch pro 500 mL 15 mg Gentamicin hinzugefügt. Zuletzt wird das Konzentrat durch einen Transfusionsfilter gefiltert, in Glasflaschen abgefüllt und im Kühlschrank gelagert, wo es circa 1,5 Wochen haltbar ist.

Nun wird der sogenannte Langendorff-Puffer hergestellt. Dafür werden 2,5 L Aqua dest mit 10,12 g NaCl und 8,1 g Glukose gemischt und dann mit Carbogen begast. Im Anschluss daran werden 505 mL Aqua dest und 6,8 g NaHCO<sub>3</sub> angesetzt und dem zuvor beschriebenen Gemisch beigemischt. Nun werden CaCl<sub>2</sub> (21,96 g/L), KCl (17,25 g/L), MgSO<sub>4</sub> (19,1 g/L), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10,7 g/L) und NaEDTA (12,21 g/L) mit einem Volumen von jeweils 50 mL hinzugefügt. Auch dieses Gemisch wird durch einen Filter in Flaschen abgefüllt und anschließend im Kühlschrank gelagert.

Das endgültige Blutperfusat wird dann wie folgt angefertigt: Zunächst wird das Erythrozyten-NaCl-Gemisch für 5 Minuten bei 1500 G ohne Bremse zentrifugiert, der

Überstand abgesaugt und mit dem Langendorff-Puffer dreimal gewaschen. Nun werden 250 mL Langendorff-Puffer mit 5 g bovinem Serumalbumin (BSA) und 1 Tropfen Insulin (entspricht circa 1 I.E.) mit einem Magnetrührer vermischt. Nun erfolgt eine Mischung des Erythrozyten-Konzentrats mit dem Langendorff/BSA-Puffer im Verhältnis 1:1. Zur pH-Korrektur wird eine Bikarbonat-Lösung bestehend aus 1,3 g NaHCO<sub>3</sub> und 100 mL Langendorff-Puffer hergestellt. Von dieser werden dem Blutperfusat 10-15 mL hinzugefügt. Vor Versuchsbeginn wird das Perfusat dann mit Carbogen begast, um einen pH-Wert von 7,33 zu erreichen.

## Langendorff-Apparatur

Verwendet wird eine Langendorff-Apparatur IH-SR Typ 844 der Firma Hugo Sachs Elektronik, D-79232 March-Hugstetten.

Diese enthält verschiedene wesentliche Komponenten, die über Schlauchsysteme miteinander verbunden sind. Dazu gehören eine Organkammer bestehend aus doppelwandigem Plexiglas, ein Aortenblock, ein Perfusatbehälter, eine Rollerpumpe, ein Fiberoxygenator und ein Transfusionsfilter. Ausgehend vom Perfusatbehälter werden zwei Kreisläufe mit dem frisch zubereiteten, heparinisierten Rinder-Erythrozytenkonzentrat, verdünnt in Langendorff-Puffer versorgt.

Der erste Kreislauf dient der Filterung und Begasung des Blutperfusats. Ausgehend vom Perfusatbehälter gelangt das Perfusat über die Rollerpumpe zunächst durch einen Bluttransfusionsfilter mit einer Porengröße von 40 µm. Dies dient der Elimination möglicher Mikroaggregate und Verunreinigungen. Dann erfolgt eine Carbogenbegasung bestehend aus 95 % O<sub>2</sub> und 5 % CO<sub>2</sub> mithilfe eines Fiberoxygenators.

Der zweite Kreislauf dient der Perfusion des Herzens. Dieses ist in der Organkammer über die Aorta an einer Kanüle mithilfe einer Fadenligatur aufgehängt. Bevor das Blutperfusat das präparierte Herz erreicht, fließt es zunächst durch den Aortenblock. Dieser enthält wichtige Komponenten, die verschiedenste Funktionen erfüllen. Ein verstellbarer Widerstand, bestehend aus einer Teflonmembran, einem Manometer und einer Druckspritze, ermöglicht das Einstellen eines konstanten Perfusionsdrucks von 70 mmHg. Eine Blasenfalle entfernt Luftblasen aus dem Perfusat. Über einen Absperrhahn kann der Perfusionsfluss reguliert werden. Ist dieser zugezogen, existiert ein Rückführ-Bypass im Aortenblock. Zusätzlich gibt es Zugänge zur Applikation von Substanzen, beziehungsweise zur Entnahme präkardialer, also arterieller Perfusatproben. Nach dem Aortenblock wird schließlich das Rattenherz perfundiert. Über die Koronararterien gelangt das Blut in den Sinus coronarius und von dort in den rechten Vorhof. Durch bei

der Präparation des Herzens entstandenen Öffnungen kann das Blutperfusat aus dem rechten Vorhof in die Organkammer tropfen und gelangt dann über ein Schlauchsystem zurück zum Perfusatbehälter. Der Organkammer ist zudem ein Zugang nachgeschaltet, über den postkardiale, also venöse, Perfusatproben entnommen werden können.

Um physiologische Bedingungen zu schaffen, wird das Herz in der Organkammer konstant auf circa 36 °C erwärmt. Um dies zu erreichen, wird die doppelwandige Organkammer kontinuierlich mit 38 °C warmem Wasser perfundiert. Über denselben Mechanismus erfolgt auch eine Erwärmung des Perfusats im Perfusatbehälter.

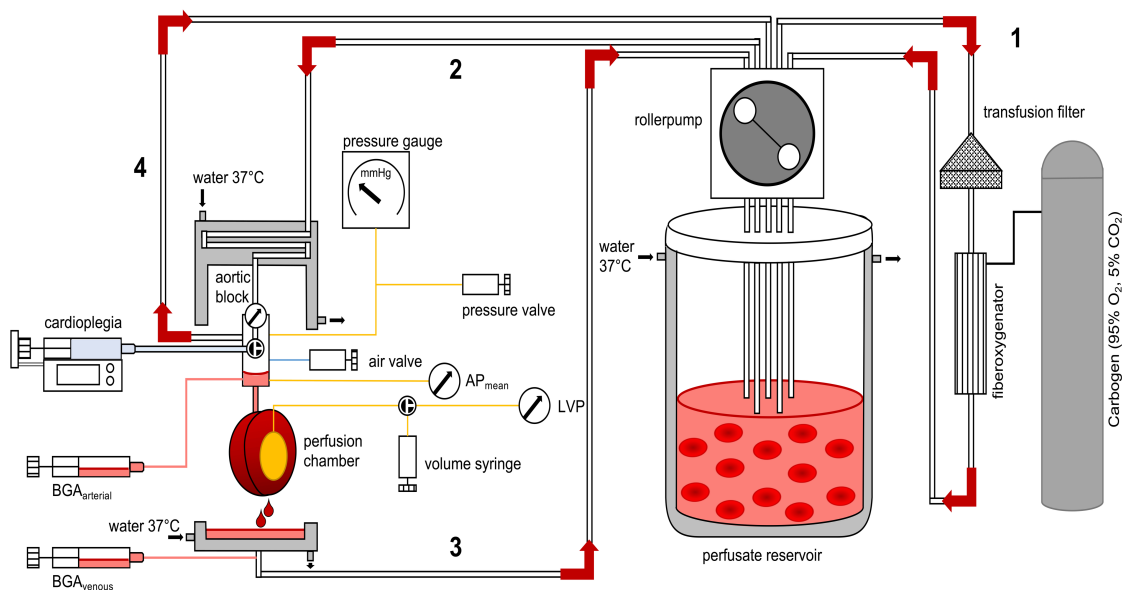


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Langendorff-Apparatur (Veitinger et al., 2021)

## Datenerfassung

### Datenerfassung physiologischer Parameter

Mithilfe der Software Isoheart digital von Hugo Sachs Elektronik ist eine kontinuierliche, parallele Aufzeichnung verschiedener physiologischer Parameter möglich. Dazu wird ein Latexballon über den linken Vorhof sowie die Mitralklappe vorgeschoben und im linken Ventrikel platziert. Hierdurch ist die Messung der Herzfrequenz, des systolischen sowie diastolischen linksventrikulären Drucks, der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit und der maximalen Relaxationsgeschwindigkeit möglich. Um eine exakte Bestimmung der Parameter zu gewährleisten, ist es wichtig, dass der Ballon passgenau positioniert wird, das heißt, an der Ventrikelwand anliegt. Nur so ist auch die Detektion minimaler Bewegungen und Kontraktionen des Herzens sichergestellt. In Anbetracht der Größe der Rattenherzen wurde die Ballongröße 5/6 gewählt. Zu Versuchsbeginn erfolgt eine

luftblasenfreie Füllung des Ballons mit destilliertem Wasser, sodass der enddiastolische Druck 10-12 mmHg beträgt.

Mithilfe der gewonnenen Parameter lassen sich weitere Funktionsparameter ermitteln. Hierzu zählt der sogenannte left ventricular developed pressure (LVDP), der sich aus der Differenz zwischen systolischem und diastolischem linksventrikulärem Druck ergibt. Aus der ersten Ableitung des LVDP pro Zeiteinheit kann zum einen die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit ( $dLVP/dt_{max}$ ), zum anderen die maximale Relaxationsgeschwindigkeit ( $dLVP/dt_{min}$ ) berechnet werden.

Insgesamt werden mithilfe der Software folgende Parameter kontinuierlich während des gesamten Versuchsablaufs graphisch dargestellt: die Herzfrequenz, der systolische und diastolische linksventrikuläre Druck, die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit, die maximale Relaxationsgeschwindigkeit, die AP und die Temperatur in °C.

Neben diesen Funktionsparametern erfolgte weiterhin die Bestimmung des Koronarflusses (CF) zu definierten Zeitpunkten des Versuchs, nämlich vor der Ischämiephase sowie 10, 30, 60 und 90 Minuten nach Reperfusion. Dazu wurde vor der Ischämiephase kurz die Organkammer geöffnet und die aus dem Herzen austretenden Perfusats Tropfen für einen Zeitraum von 30 Sekunden gezählt und mit einem Messzylinder aufgefangen. Durch Ablesen des Volumens konnte der Koronarfluss pro Minute berechnet werden. Zu den anderen Zeitpunkten mussten dann lediglich die Tropfen über denselben Zeitraum von 30 Sekunden gezählt werden, da die Berechnung des Koronarflusses per Dreisatz aus den Angaben vor Ischämiebeginn erfolgte. Dafür wurde ein konstantes Tropfenvolumen angenommen. Die Organkammer konnte so während des eigentlichen Versuchs geschlossen gehalten werden, um die Umgebungstemperatur des Herzens konstant zu halten.

### Datenerfassung biochemischer Parameter

Zur Erfassung einiger biochemischer Parameter wurden bei jedem Versuch vor Ischämiebeginn, 10 und 90 Minuten nach Reperfusion sowohl arterielle als auch venöse Blutproben entnommen. Mithilfe eines Blutgasanalysegerätes der Firma Siemens Healthcare, 65760 Eschborn, erfolgte dann die Bestimmung des pH-Wertes, des Sauerstoffpartialdrucks, der Sauerstoffsättigung, der Hämoglobinkonzentration sowie verschiedener Elektrolytwerte. Zusätzlich wurde durch die Verwendung eines Laktatphotometers der Firma Diagnostics, 12555 Berlin, der Laktatwert ermittelt.

Jeweils 5 ml der arteriellen und venösen Proben jedes Zeitpunkts wurden bei 4 °C und 3000 G für 20 Minuten zentrifugiert. Von dem entstehenden Überstand wurden 900 µl bei -80 °C tiefgefroren und so für eine spätere Bestimmung von Troponin I aufbewahrt.

Diese wurde durch die Firma Biocontrol, Bioscientia Healthcare GmbH in 55128 Ingelheim, mithilfe der CLIA-Methode (Chemilumineszenz-Immunoassay) durchgeführt.

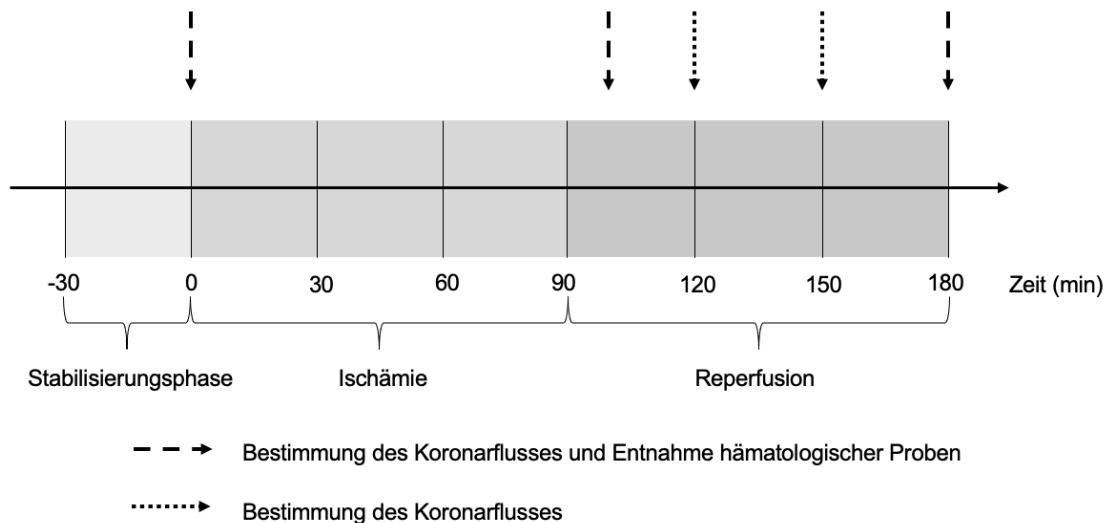


Abbildung 9: Versuchsablauf

## Sauerstoffverbrauch und Laktatproduktion

Durch die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration, Sauerstoffsättigung und des Sauerstoffpartialdrucks mithilfe des BGA-Gerätes in den arteriellen und venösen Perfusatproben war es möglich, den myokardialen Sauerstoffverbrauch ( $MVO_2$ ) zu bestimmen. Dafür wurde zunächst der arterielle sowie der venöse Sauerstoffgehalt mittels folgender Formel ermittelt:

$$C_x O_2 \left[ \frac{ml O_2}{dl} \right] = P_x O_2 [mmHg] \times 0,0031 \left[ \frac{ml O_2}{dl \times mmHg} \right] + S_x O_2 \left[ \frac{\%}{100} \right] \times 1,34 \left[ \frac{ml O_2}{g} \right] \times cHb \left[ \frac{g}{dl} \right]$$

$C_x O_2$  = venöser bzw. arterieller Sauerstoffgehalt;  $P_x O_2$  = venöser bzw. arterieller Sauerstoffpartialdruck,  $S_x O_2$  = venöse bzw. arterielle Sauerstoffsättigung;  $cHb$  = venöse bzw. arterielle Hämoglobinkonzentration

Aufgrund eines für weitere Berechnungen sinnvolleren Nutzens erfolgte noch eine Einheitenkorrektur des Sauerstoffgehalts:

$$C_x O_2 \left[ \frac{ml O_2}{ml} \right] = \frac{C_x O_2 \left[ \frac{ml O_2}{dl} \right]}{100}$$

Der Sauerstoffgehalt im Blut setzt sich aus zwei Komponenten zusammen: zum einen aus dem an Hämoglobin gebundenen Sauerstoff, welcher den größeren Anteil ausmacht, zum anderen aus dem physikalisch im Blut gelösten Sauerstoff. In der Formel zur Berechnung des Sauerstoffgehalts kommen zwei Konstanten zum Einsatz. Die

sogenannte Hüfner-Zahl ist definiert als die maximale Sauerstoffbindungskapazität von Hämoglobin, das heißt, in vivo bindet 1 g Hämoglobin 1,34 ml Sauerstoff. Der Wert 0,0031 beschreibt die Löslichkeit von Sauerstoff im Blut (Gutierrez & Theodorou, 2021).

Mithilfe der gewonnenen Werte lässt sich dann der myokardiale Sauerstoffverbrauch berechnen:

$$MVO_2 \left[ \frac{ml O_2}{min} \right] = \left( C_a O_2 \left[ \frac{ml O_2}{ml} \right] - C_v O_2 \left[ \frac{ml O_2}{ml} \right] \right) \times CF \left[ \frac{ml}{min} \right]$$

$C_a O_2$  = arterieller Sauerstoffgehalt;  $C_v O_2$  = venöser Sauerstoffgehalt;  $CF$  = Koronarfluss

Es existieren verschiedene Faktoren, die den Sauerstoffverbrauch des Myokards beeinflussen. Dazu zählen die Herzfrequenz, die Nachlast sowie die Vorlast und die Inotropie des Herzens (Klabunde, 2012).

Neben dem Sauerstoffverbrauch erfolgte zusätzlich eine Bestimmung der Laktatproduktion (MVLac). Dazu wurden zunächst die arteriellen und venösen Proben mithilfe des Laktatphotometers auf ihre Laktatkonzentration untersucht. Die entsprechende Formel lautet:

$$MVLac \left[ \frac{\mu mol}{min} \right] = \left( cLac_v \left[ \frac{\mu mol}{ml} \right] - cLac_a \left[ \frac{\mu mol}{ml} \right] \right) \times CF \left[ \frac{ml}{min} \right]$$

$cLac_v$  = venöse Laktatkonzentration;  $cLac_a$  = arterielle Laktatkonzentration;  $CF$  = Koronarfluss

Die gewonnenen Daten über Sauerstoffverbrauch und Laktatproduktion erlauben Rückschlüsse auf den myokardialen Metabolismus. Diesbezüglich liefern die Werte der Laktatproduktion Hinweise auf eine anaerobe Stoffwechsellage der Myozyten, beziehungsweise eine ungenügende Sauerstoffversorgung, während der Sauerstoffverbrauch ein Anhaltspunkt für einen aeroben Metabolismus ist (Gutierrez & Theodorou, 2021).

## Stabilisierungsphase

Nach Tötung der Tiere, Organentnahme, Präparation und Aufhängung des Herzens über eine Kanülierung der Aorta in der Langendorff-Apparatur erfolgte zunächst eine Stabilisierungsphase. Diese endete, sobald der left ventricular developed pressure (LVDP) konstante Werte zeigte, das heißt ein „steady state“ eintrat. Grundsätzlich diente diese Phase der Anpassung des Herzens an die veränderten Umweltbedingungen, insbesondere die veränderten Druckverhältnisse sowie den Umstieg von Rattenblut auf das Blutperfusat, bestehend aus Rindererythrozyten und Langendorff-Puffer. Weiterhin

sollte sich das Herz von der Stressexposition durch die Exstirpation des Herzens erholen.

Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn wurden im Zustand des „steady state“ die ersten arteriellen und venösen Perfusatproben entnommen. Die Entnahme der arteriellen Proben erfolgte präkardial aus dem Aortenblock, die der venösen Proben postkardial. Weiterhin erfolgte in dieser Zeit eine Errechnung des Koronarflusses (CF) durch 30-sekündiges Abzählen der austretenden Perfusats tropfen mit anschließender Volumenbestimmung. Danach wurde die Organkammer zum Schutz des Herzens nicht mehr geöffnet.

## Versuchsgruppen

Die Versuche teilten sich in zwei Gruppen auf, eine Del Nido-Gruppe und eine Calafiore-Gruppe. In beiden Gruppen erfolgte die Durchführung der Versuche in der Langendorff-Apparatur an 10 Herzen, sodass insgesamt 20 Herzen verwendet wurden.

In der Del Nido-Gruppe (n=10) erfolgte nach einmaliger Kardioplegie-Gabe eine 90-minütige Ischämiephase, gefolgt von 90 Minuten Reperfusion.

In der Calafiore-Gruppe (n=10) wurde die Kardioplegie in der 90-minütigen Ischämiephase alle 20 Minuten verabreicht, danach folgte ebenfalls eine 90-minütige Reperfusion.

### Del Nido-Gruppe

Von 20 Versuchsherzen wurden 10 einer Kardioplegie mit der Del Nido-Lösung unterzogen. Diese enthält als Basislösung 100 ml Plasmalyte A. Zusätzliche Bestandteile sind 2 ml Mannitol 15 %, 0,4 ml MgSO<sub>4</sub> 50 %, 1,3 ml NaHCO<sub>3</sub> 8,4 %, 1,3 ml KCl 14,9 % und 0,65 ml Lidocain 2 %.

Die angefertigte Del Nido Kardioplegie wurde nach der Stabilisierungsphase mit einer Dosis von 20 ml/kg Körpergewicht und einer Temperatur von 4 °C als Bolus verabreicht.

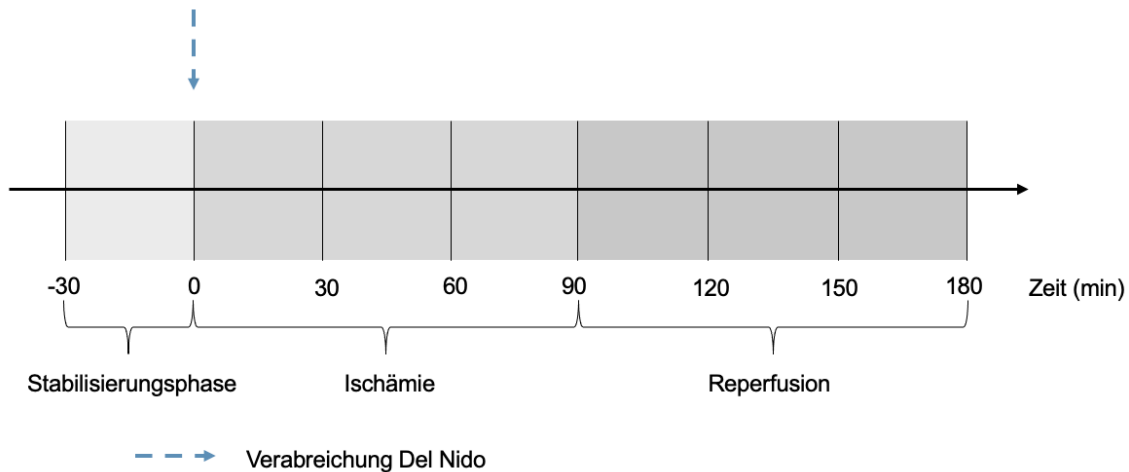


Abbildung 10: Versuchsablauf Del Nido-Gruppe

### Calafiore-Gruppe

Als Vergleichsgruppe dienten Versuche an 10 Herzen, die, während der 90-minütigen Ischämiephase alle 20 Minuten Blutkardioplegie nach Calafiore verabreicht bekamen.

Die Kardioplegie wird wie folgt angesetzt: 10 ml KCl (14,9 %) werden mit 2 ml  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  vermischt und auf 37 °C erwärmt. Auf Grundlage dieser Ausgangslösung werden nun zwei Calafiore-Lösungen erstellt, die im Laufe der Ischämiephase appliziert werden. Für die erste wurden 20 ml des Blutperfusats mit 150 µl der angesetzten Kardioplegie vermischt. Die zweite setzt sich aus 42 ml Perfusat und 225 µl Kardioplegie zusammen.

Nach der Stabilisierungsphase erfolgt dann initial eine Bolusgabe von 150 µl reiner Kardioplegielösung über einen Dreiwegehahn. Zusätzlich zu diesem Bolus wurde über einen Perfusor die erste Calafiore-Lösung in den Langendorff-Apparat auf Höhe des Aortenblocks verabreicht. Dies geschah über einen Zeitraum von 2 Minuten bei 1,3-facher Perfusionsgeschwindigkeit, bezogen auf den errechneten Koronarfluss vor Versuchsbeginn. Die folgenden Applikationen der Kardioplegie erfolgten im Abstand von 20 Minuten mit der zweiten angesetzten Lösung ebenfalls über zwei Minuten, allerdings mit dem im „steady state“ gemessenen Koronarfluss als Perfusionsgeschwindigkeit.

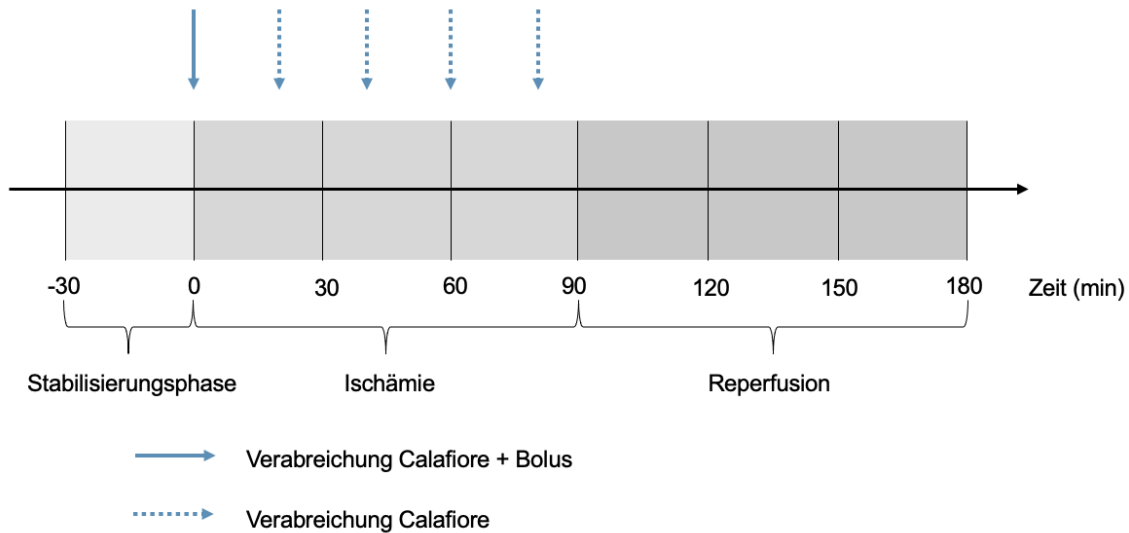


Abbildung 11: Versuchsablauf Calafiore-Gruppe

## Stereologie und Elektronenmikroskopie

Nach den Versuchen in der Langendorff-Apparatur wurde jedes Herz einer Perfusionsfixation zur Vorbereitung auf die Elektronenmikroskopie unterzogen. Dafür erfolgte zunächst die Herstellung von 25 %igem Paraformaldehyd. Hierfür werden 15 g Paraformaldehyd mit 40 mL Aqua dest unter Rühren auf 65 °C erwärmt und anschließend so viele Tropfen 1n NaOH hinzugegeben, bis die Lösung klar ist. Das Gemisch wird mit Aqua dest auf 60 mL aufgefüllt, um auf Raumtemperatur abzukühlen. Für das benötigte Fixierungsgemisch werden 500 mL eines 0,3 molaren Hepes-Puffers mit 60 mL 25%igem Glutardialdehyd sowie 60 mL des zuvor angefertigten 25 %igem Paraformaldehyd vermischt. Anschließend wird die Flüssigkeit mit Aqua dest auf 900 mL aufgefüllt. Die Herzen wurden in der Langendorff-Apparatur mit 20 mL des Fixierungsgemischs und einem Fluss von circa 5mL/Minute gespült und bis zur weiteren Verarbeitung bei 8 °C in einem Gefäß bedeckt mit Fixierungsgemisch gelagert.

Für die Elektronenmikroskopie erfolgte dann unter dem Abzug eine Isolierung des linken Ventrikels. Dieser wurde im Anschluss zunächst in dünne Scheiben und anschließend in circa 2x2x2 mm Stücke geschnitten. Von diesen wurden dann drei Stücke ausgewählt und in Mikroreaktionsgefäßen, gefüllt mit 0,15 molaren Hepes-Puffer, gelagert.

Die Auswahl der Stücke erfolgte entsprechend des sogenannten randomisierten Samplings. Mithilfe dieses Verfahrens ist es möglich, per Zufallsprinzip Stichproben zu generieren, die repräsentativ den gesamten linken Ventrikel abbilden. Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass jeder Teil des linken Ventrikels dieselbe Chance hat,

stellvertretend für die interessierende Struktur in die Analyse einzugehen (Mühlfeld et al., 2010).

Die Einbettung der Herzen erfolgte im Anatomischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen, Abteilung Elektronenmikroskopie. Die Proben wurden zunächst dreimal für eine Zeit von zehn Minuten in 0,15 molarem Hepes-Puffer gewaschen und anschließend zum Zweck einer Nachfixation sowie Kontrastierung für zwei Stunden mit 1 % Osmiumsäure behandelt. Im Anschluss erfolgte eine Waschung mit Aqua dest, dreimal für zehn Minuten. Über Nacht wurden die Proben dann zur weiteren Kontrastierung in 1 % Uranyl-Acetat-Lösung lichtgeschützt gelagert. Am nächsten Tag erfolgte eine erneute dreimalige Waschung mit Aqua dest für jeweils zehn Minuten. Anschließend wurde die Entwässerung der Proben vorgenommen. Hierfür wurden die Proben hintereinander für jeweils zehn bis fünfzehn Minuten 30 %, 50 %, 70 %, 90 % und 100 % Ethanol ausgesetzt. Darauffolgend wurden die Proben in einem Gemisch aus 100 % Ethanol und Propylen-Oxid als Intermedium im Verhältnis 1:1 für circa 15 Minuten inkubiert, Propylenoxid pur für 10 Minuten, sowie in einem Gemisch aus Propylen-Oxid und Epon ebenfalls im Verhältnis 1:1 für 60 Minuten. Nachdem die Proben dann über Nacht in Epon gelagert wurden, erfolgte am folgenden Tag eine Entgasung im Exsikkator. Schließlich wurde erneut Epon aufgetragen und die Proben zur endgültigen Trocknung für 48 Stunden im Trockenschrank bei circa 60 °C gelagert. Das Schneiden der Blöcke erfolgte dann am Ultracut S von Leica auf eine Dicke von circa 80 nm.

Es fand anschließend die elektronenmikroskopische Begutachtung der angefertigten Schnitte unter Verwendung eines Transmissionselektronenmikroskops Zeiss LEO 906 statt. Hierbei wurden pro Herz 105 Bilder mit einer Bildgröße von 2048x2093 als JPEG-Datei abgespeichert und anschließend mithilfe der PC-Programms STEPanizer analysiert. Dieses ermöglicht eine stereologische Auswertung digitaler Bilder durch Überlagerung dieser mit einem Testsystem bestehend aus 16 Punkten und acht Linien. Anhand dieses Testsystems erfolgte sowohl die Zählung der Punkte, die auf Myofibrillen, Mitochondrien, Sarkoplasma oder Nuklei fallen, als auch die Zählung der Schnittpunkte der Linien mit der äußeren Mitochondrienmembran.

Prinzipiell bedeutet Stereologie die räumliche Strukturanalyse von Gewebeschnitten. Das Ziel stereologischer Methoden ist es, anhand von zweidimensionalen Schnitten Informationen über dreidimensionale Quantitäten, beispielsweise über Volumen oder Oberfläche von Strukturen innerhalb eines festgelegten Referenzraumes, zu erlangen. Durch die Zählung der Punkte, die auf eine zu interessierende Struktur fallen, lässt sich deren Volumen ermitteln, während das Zählen der Anzahl der Linienschnittpunkte mit

einer zu interessierenden Struktur Rückschlüsse auf deren Oberfläche erlaubt (Mühlfeld et al., 2010).

Mithilfe der Verwendung des Testsystems erfolgte dann die Berechnung zweier Parameter, zum einen des CEI (zellulärer Ödemindex), zum anderen der VSratio (Verhältnis von Volumen der Mitochondrien zu deren Oberfläche).

Zunächst fand hierfür die Berechnung der Volumen-Dichte ( $V_v$ ) der einzelnen Strukturen statt. Die Formel lautet am Beispiel der Mitochondrien (Mühlfeld et al., 2010):

$$V_v\left(\frac{mito}{mz}\right) = \frac{P(mito)}{P(mf) + P(mito) + P(sp) + P(nuc)}$$

$P(mito)$ = Anzahl der Punkte, die auf Mitochondrien fallen;  $P(mf)$ = Anzahl der Punkte, die auf Myofibrillen fallen;  $P(sp)$ = Anzahl der Punkte, die auf Sarkoplasma fallen;  $P(nuc)$ = Anzahl der Punkte, die auf Nuclei fallen

Mithilfe der gewonnenen Parameter lässt sich nun der zelluläre Ödemindex berechnen (Mühlfeld et al., 2010):

$$CEI = \frac{V_v\left(\frac{mito}{mz}\right) + V_v\left(\frac{sp}{mz}\right)}{V_v\left(\frac{mf}{mz}\right)}$$

$V_v\left(\frac{mito}{mz}\right)$ = Volumendichte der Mitochondrien;  $V_v\left(\frac{sp}{mz}\right)$ = Volumendichte des Sarkoplasma;  
 $V_v\left(\frac{mf}{mz}\right)$ = Volumendichte der Myofibrillen

Der CEI erlaubt Rückschlüsse über die Schwellung der Myozyten (DiBona & Powell, 1980).

Um die VSratio berechnen zu können, musste zunächst die Oberflächendichte der Mitochondrien ermittelt werden. Die Formel lautet (Mühlfeld et al., 2010):

$$S_v\left(\frac{mito}{mz}\right) = \frac{2 \times I}{L_t}$$

$I$ = Anzahl der Schnittpunkte mit Mitochondrien;  $L_t$ = Länge einer Testlinie;  $S_v\left(\frac{mito}{mz}\right)$ = Oberflächendichte der Mitochondrien

Wie oben bereits beschrieben, wird jedes Bild mit einem Testsystem überlagert, bei dem es acht Linien und 16 Punkte gibt. Eine am Ende des Zählvorgangs durch die Software STEPanizer erstellte Ergebnistabelle zeigte unter anderem den Wert  $I(p)$  an. Dieser bezeichnet die Länge einer halben Testlinie. Multipliziert mit der Anzahl der Testpunkte erhält man die Gesamtestlinienlänge (Tschanz et al., 2011). Bei jedem Bild erfolgte allerdings nur die Zählung der Linienschnittpunkte mit Mitochondrien bei einer Linie. Insgesamt wurde die Formel daher folgendermaßen angepasst:

$$Sv\left(\frac{mito}{mz}\right) = \frac{2 \times I \times 8}{P(mz) \times l(p)}$$

$Sv\left(\frac{mito}{mz}\right)$  = Oberflächendichte der Mitochondrien;  $I$  = Anzahl der Schnittpunkte mit Mitochondrien;  
 $P(mz)$  = Anzahl der Punkte, die auf Myofibrillen, Mitochondrien, Sarkoplasma oder Nuclei fallen;  
 $l(p)$  = Länge einer halben Testlinie

Durch die Berechnung der Oberflächendichte der Mitochondrien ist es nun auch möglich die VSratio zu bestimmen:

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

$VSratio$  = Verhältnis von Volumen der Mitochondrien zu deren Oberfläche;  $Vv\left(\frac{mito}{mz}\right)$  =  
 Volumendichte der Mitochondrien;  $Sv\left(\frac{mito}{mz}\right)$  = Oberflächendichte der Mitochondrien

## Statistik

Die vorliegenden Daten wurden mithilfe des Programms SAS University Edition, SAS Institute GmbH, D-Heidelberg, statistisch ausgewertet.

Zunächst wurden dafür die entsprechenden Daten mittels des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung untersucht. Von Normalverteilung wurde ausgegangen, wenn der Test Werte  $>0,05$  generierte. Zur Überprüfung der statistischen Unterschiede zwischen den zwei Gruppen wurde anschließend in Abhängigkeit von vorhandener Normalverteilung entweder der Zweistichproben-t-Test oder der Mann-Whitney-U-Test angewendet. Als signifikant wurde hierbei ein Wert von  $p \leq 0,05$  gewertet.

Die Graphen zeigen die Daten als Mittelwerte (MW).

## Ergebnisse

Zu insgesamt jeweils drei Versuchszeitpunkten erfolgte ein Vergleich der oben genannten biochemischen und physiologischen Parameter sowie des Sauerstoffverbrauchs und der Laktatproduktion.

Die ersten, sogenannten „Baseline-Werte“ (BL) wurden nach erfolgter Stabilisierungsphase zu Versuchsbeginn bestimmt. Um trotz individueller Unterschiede eine Vergleichbarkeit der Herzen zu ermöglichen, wurden die nachfolgend bestimmten Parameter in Prozent zur Baseline normiert. Zu den Folgeparametern zählen zum einen die Werte des Reperfusionstartes (RS), die nach 10 Minuten Reperfusion gemessen wurden, zum anderen die Werte des Reperfusionsendes (RE) nach 90-minütiger Reperfusion.

### Baseline-Werte

Baseline-Werte	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Herzfrequenz [bpm]	255 ± 47	261 ± 42	0,7705
Koronarfluss [ml/min]	4,36 ± 0,61	3,68 ± 0,70	0,0326
LVDP [mmHg]	70,2 ± 21,2	68,4 ± 19,3	0,8440
LVPsys [mmHg]	74,8 ± 19	77,6 ± 20,2	0,7484
LVPdia [mmHg]	4,6 ± 4,2	9,2 ± 2,1	0,0073
dLVP/dt <sub>max</sub> [mmHg/min]	2024 ± 647,5	1999,2 ± 475,4	0,9232
dLVP/dt <sub>min</sub> [mmHg/min]	-1258,8 ± 479,7	-1342,8 ± 556,1	0,7216
MVLac [µmol/ml]	0,52 ± 0,43	0,34 ± 0,36	0,3371
MVO <sub>2</sub> [ml O <sub>2</sub> /min]	0,081 ± 0,018	0,064 ± 0,007	0,0165
Troponin [ng/ml]	11,4 ± 9,7	7,1 ± 3,6	0,9698

Tabelle 1: Absolute Baseline-Werte (Mittelwert ± Standardabweichung)

Die Baseline-Werte zeigen beim Koronarfluss, diastolischen linksventrikulären Druck und Sauerstoffverbrauch bereits signifikante Unterschiede. Da diese Werte vor Verabreichung von Del Nido- beziehungsweise Calafiore Kardioplegie bestimmt wurden,

kann die Ursache nicht in der kardioplegischen Lösung liegen. Viel eher muss hier von individuellen Unterschieden zwischen den Herzen und nicht standardisierbarer Rahmenbedingungen als Grund ausgegangen werden. Wie oben bereits beschrieben werden zum Ausgleich der Unterschiede die Folgeparameter in Prozent zur Baseline normiert angegeben.

## Physiologische Parameter

### Herzfrequenz

Herzfrequenz [%]	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Reperfusionstart	25,7 ± 24,6	86,8 ± 25,1	0,001
Reperfusionsende	51,7 ± 33,3	79,6 ± 42,3	0,0695

Tabelle 2: Herzfrequenz [%] am RS und RE (Mittelwert ± Standardabweichung)

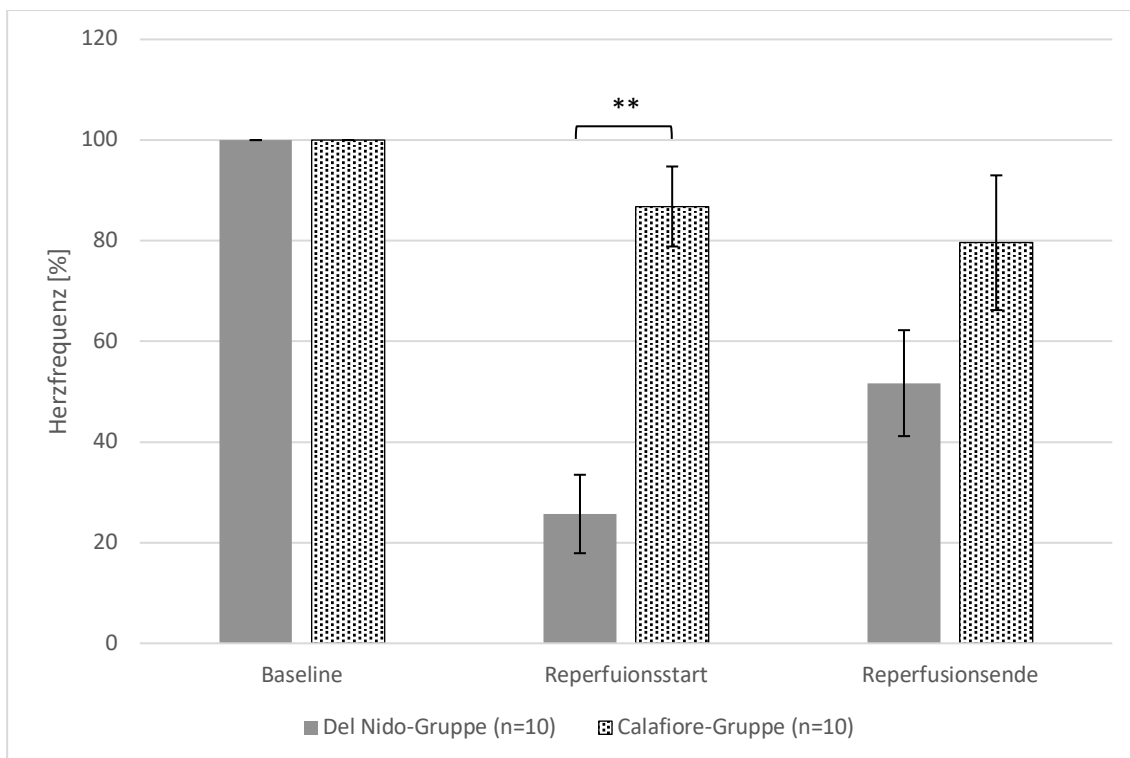


Abbildung 12: Herzfrequenz [%] am RS und RE; Mittelwerte und Standardfehler; Mann-Whitney-U-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$

Die Herzfrequenz in der Del Nido-Gruppe fiel in der Frühphase der Reperfusion auf circa 25% des Baseline-Wertes ab, erholte sich jedoch im Verlauf der Reperfusion. Unter Verwendung von Calafiore kam es in der Reperusionsphase zu einem konstanten Absinken der Herzfrequenz auf circa 80% des Baseline-Wertes am Reperfusionsende.

Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bestand lediglich zu Beginn der Reperfusion ( $p=0,001$ ).

### Koronarfluss

Koronarfluss [%]	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Reperfusionstart	115 ± 54,4	75 ± 22,3	0,0524
Reperfusionsende	24,3 ± 11,5	48 ± 26,6	0,0235

Tabelle 3: Koronarfluss [%] am RS und RE (Mittelwerte ± Standardabweichung)

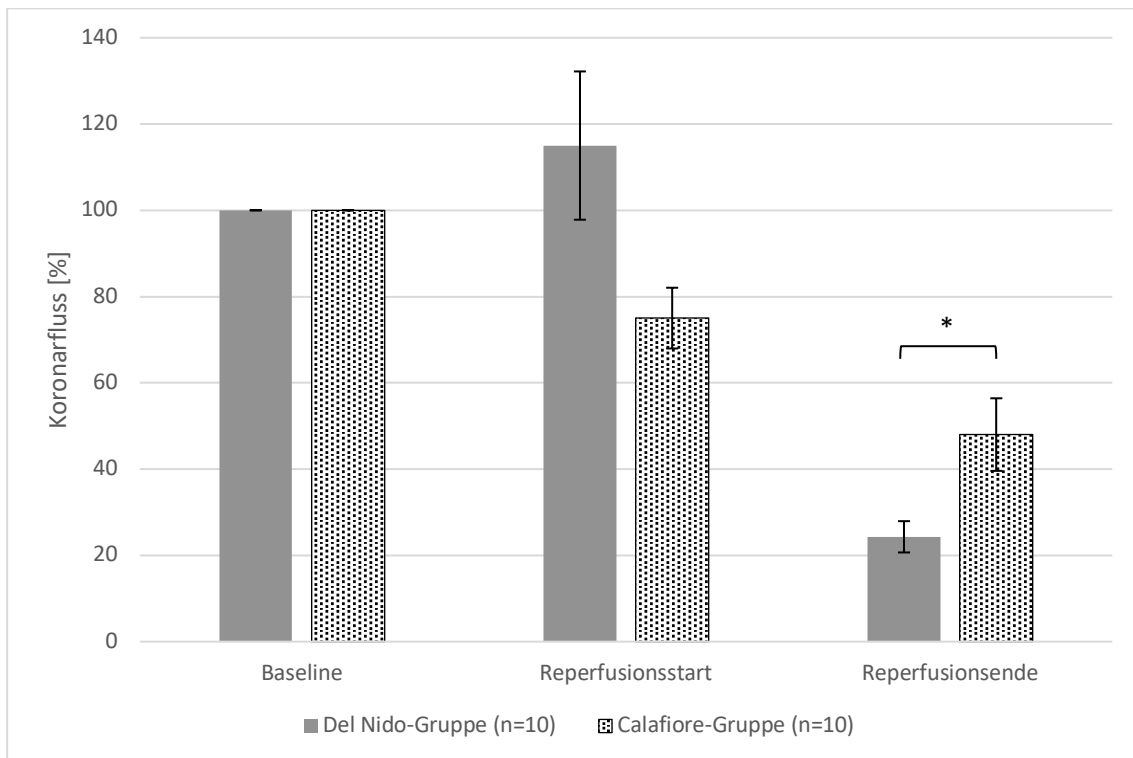


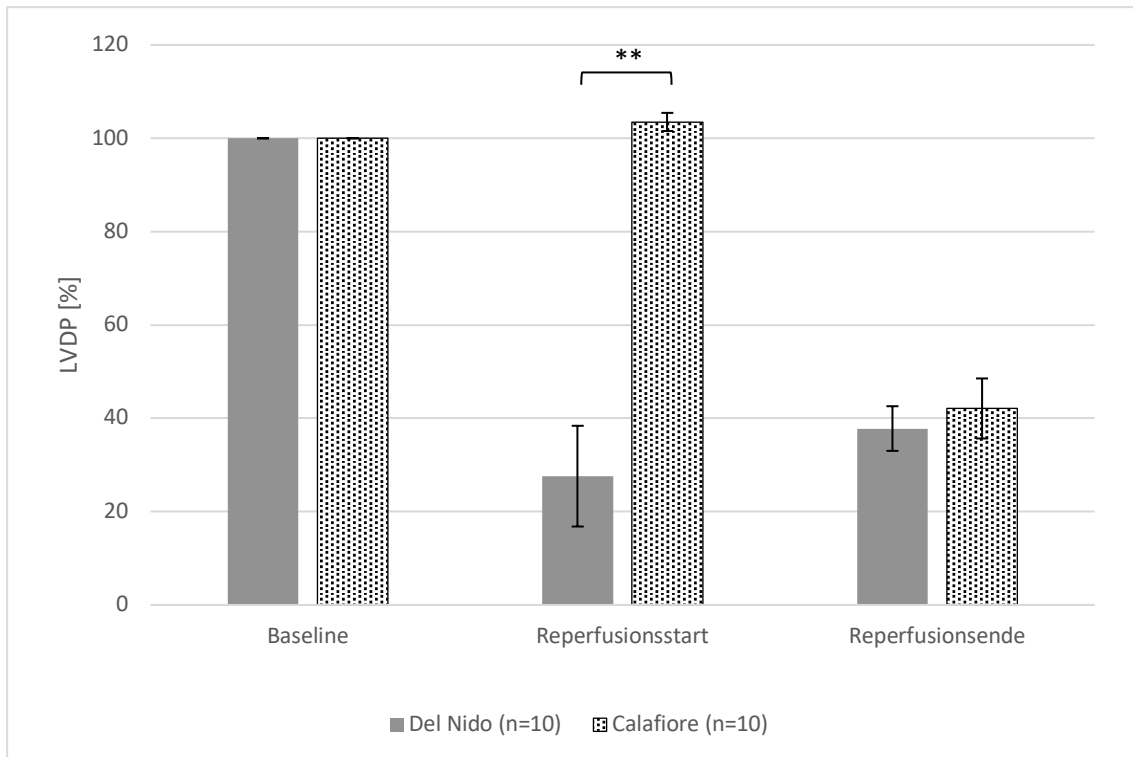
Abbildung 13: CF [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$

Bei Verwendung der Calafiore Kardioplegie zeigte sich in der Reperusionsphase ein konstantes Absinken des Koronarflusses. Im Gegensatz dazu stieg die Koronarperfusion in der Del Nido-Gruppe zunächst an und fiel erst im Verlauf deutlich ab. Trotz der initialen Hyperämie in der Del Nido-Gruppe gab es am Reperfusionstart keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Am Reperfusionsende zeigte sich die Calafiore-Gruppe signifikant überlegen ( $p=0,0235$ ).

LVDP

LVDP [%]	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Reperfusionstart	27,6 ± 34,1	103,5 ± 6,2	0,0002
Reperfusionsende	37,8 ± 15,1	42,1 ± 20,3	0,5983

Tabelle 4: LVDP [%] am RS und RE (Mittelwerte ± Standardabweichung)

Abbildung 14: LVDP [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; RS: Mann-Whitney-U-Test; RE: Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$ 

Bei Verwendung der Calafiore Kardioplegie stieg der LVDP am Reperfusionstart im Vergleich zum Baseline-Wert minimal an, während er bei der Del Nido Kardioplegie auf nahezu  $\frac{1}{4}$  des Baseline-Wertes absank. Dieser signifikante Unterschied ( $p=0,0002$ ) ist möglicherweise ein Grund für die bessere Erholung der Herztätigkeit unter Calafiore.

Am Reperfusionsende konnte kein signifikanter Unterschied des LVDP zwischen den beiden Versuchsgruppen nachgewiesen werden, da die LVDP-Werte der Calafiore-Gruppe im Verlauf der Reperfusion abfielen und die der Del Nido-Gruppe anstiegen.

**dLVP/dt<sub>max</sub>**

dLVP/dt <sub>max</sub> [%]	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Reperfusionstart	18,8 ± 15	111,3 ± 29,5	0,0002
Reperfusionsende	32,9 ± 13,1	63,2 ± 39,7	0,0426

Tabelle 5: dLVP/dtmax [%] am RS und RE (Mittelwerte ± Standardabweichung)

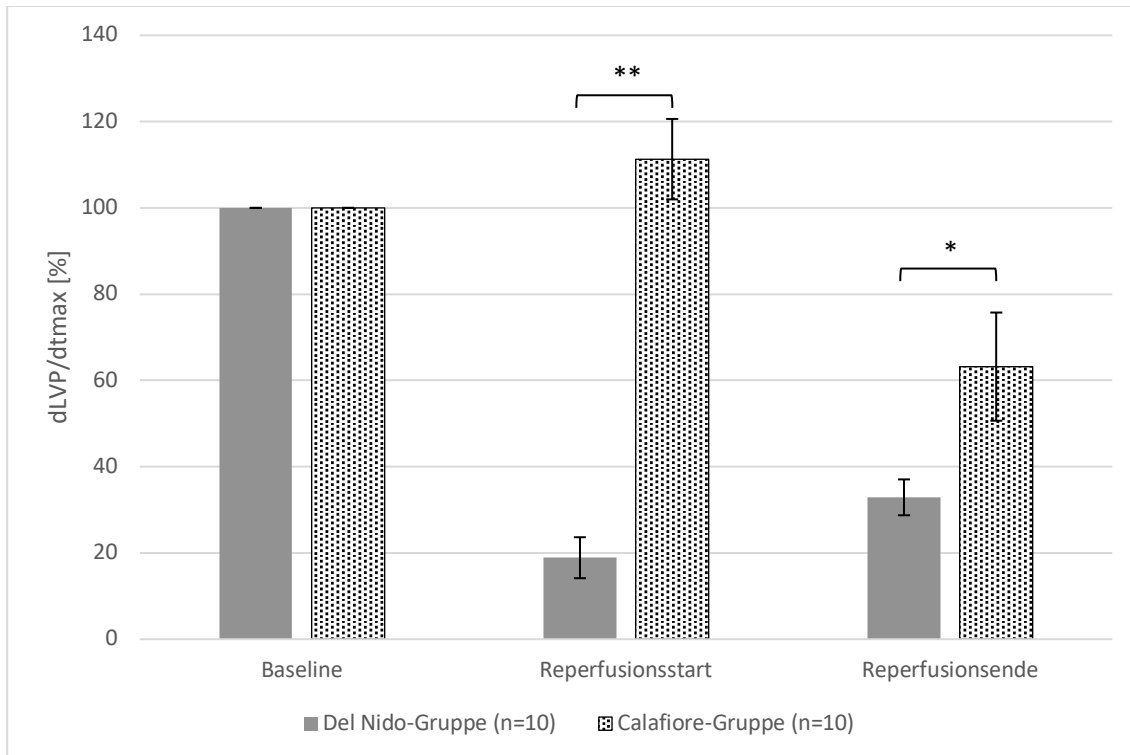


Abbildung 15: dLVP/dtmax [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; RS: Mann-Whitney-U-Test; RE: Zweistichproben-T-Test; \*p≤0,05, \*\*p≤0,001, \*\*\*p≤0,0001

Die dLVP/dt<sub>max</sub> ist ein Maß für die maximale linksventrikuläre Kontraktionsgeschwindigkeit. Während der Reperfusionphase wies die Calafiore-Gruppe zu beiden Messzeitpunkten signifikant höhere Kontraktionsgeschwindigkeiten auf als die Del Nido-Gruppe. Die Signifikanz war jedoch am Reperfusionstart höher (p=0,0002) als am Reperfusionsende (p=0,426).

dLVP/dt<sub>min</sub>

dLVP/dt <sub>min</sub> [%]	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Reperfusionstart	34,2 ± 30,9	103,2 ± 23,5	0,001
Reperfusionsende	38,7 ± 21,8	45,2 ± 19,6	0,4918

Tabelle 6: dLVP/dt<sub>min</sub> [%] am RS und RE (Mittelwerte ± Standardabweichung)

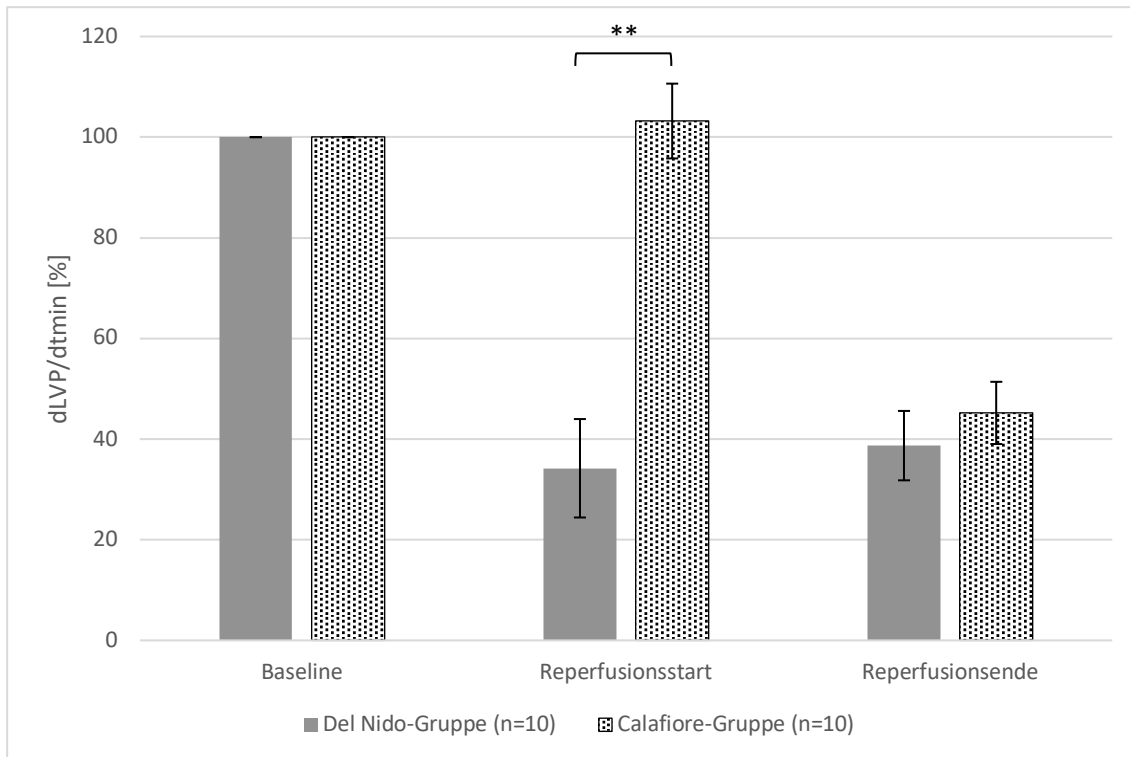


Abbildung 16: dLVP/dt<sub>min</sub> [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; RS: Mann-Whitney-U-Test; RE: Zweistichproben-T-Test; \*p≤0,05, \*\*p≤0,001, \*\*\*p≤0,0001

Vergleicht man die Abbildungen der dLVP/dt<sub>max</sub> und dLVP/dt<sub>min</sub> fällt die Ähnlichkeit des Diagramms auf. Wie bereits die dLVP/dt<sub>max</sub> fällt auch die dLVP/dt<sub>min</sub> als Maß für die maximale Relaxationsgeschwindigkeit am Reperfusionstart in der Del Nido-Gruppe ab, während sie in der Calafiore-Gruppe ansteigt. Am Reperfusionsende nähern sich die Werte für die maximale Relaxationsgeschwindigkeit an, wobei die der Del Nido-Gruppe denen der Calafiore-Gruppe unterlegen bleiben. Ein signifikanter Unterschied bezüglich der Lusitropie besteht zwischen den Gruppen lediglich zu Beginn der Reperfusion (p=0,001).

## Biochemische Parameter

### Sauerstoffverbrauch

MVO <sub>2</sub> [%]	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Reperfusionstart	126,2 ± 48,1	93 ± 39,1	0,1071
Reperfusionsende	24,4 ± 14,3	61,6 ± 32,6	0,0113

Tabelle 7: MVO<sub>2</sub> [%] am RS und RE (Mittelwerte ± Standardabweichung)

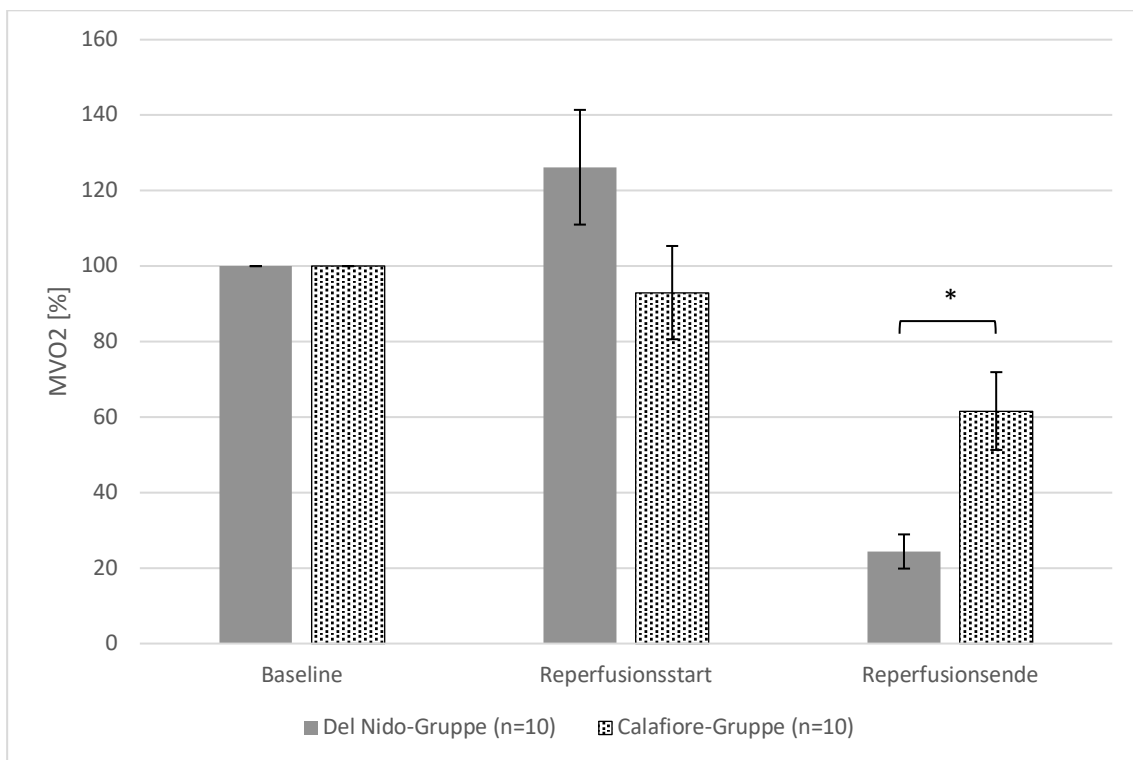


Abbildung 17: MVO<sub>2</sub> [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; RS: Zweistichproben-T-Test; RE: Mann-Whitney-U-Test; \*p≤0,05, \*\*p≤0,001, \*\*\*p≤0,0001

Der Sauerstoffverbrauch stieg in der Del Nido-Gruppe zu Beginn der Reperfusion zunächst an, fiel aber im Verlauf deutlich ab. Im Gegensatz dazu sank der Sauerstoffverbrauch unter Verwendung von Calafiore Kardioplegie kontinuierlich ab. Am Reperfusionsbeginn war die Del Nido-Gruppe der Calafiore-Gruppe zwar bezüglich der aeroben Stoffwechselleistung überlegen, der Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Eine statistische Signifikanz konnte allerdings am Ende der Reperfusion detektiert werden. Hier war die Calafiore-Gruppe führend (p=0,0113).

## Laktatproduktion

MVLac [ $\mu\text{mol}/\text{min}$ ]	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Reperfusionstart	1,24 $\pm$ 0,88	0,33 $\pm$ 0,68	0,0257
Reperfusionsende	0,77 $\pm$ 0,45	0,82 $\pm$ 0,68	1

Tabelle 8: MVLac [ $\mu\text{mol}/\text{min}$ ] am RS und RE (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

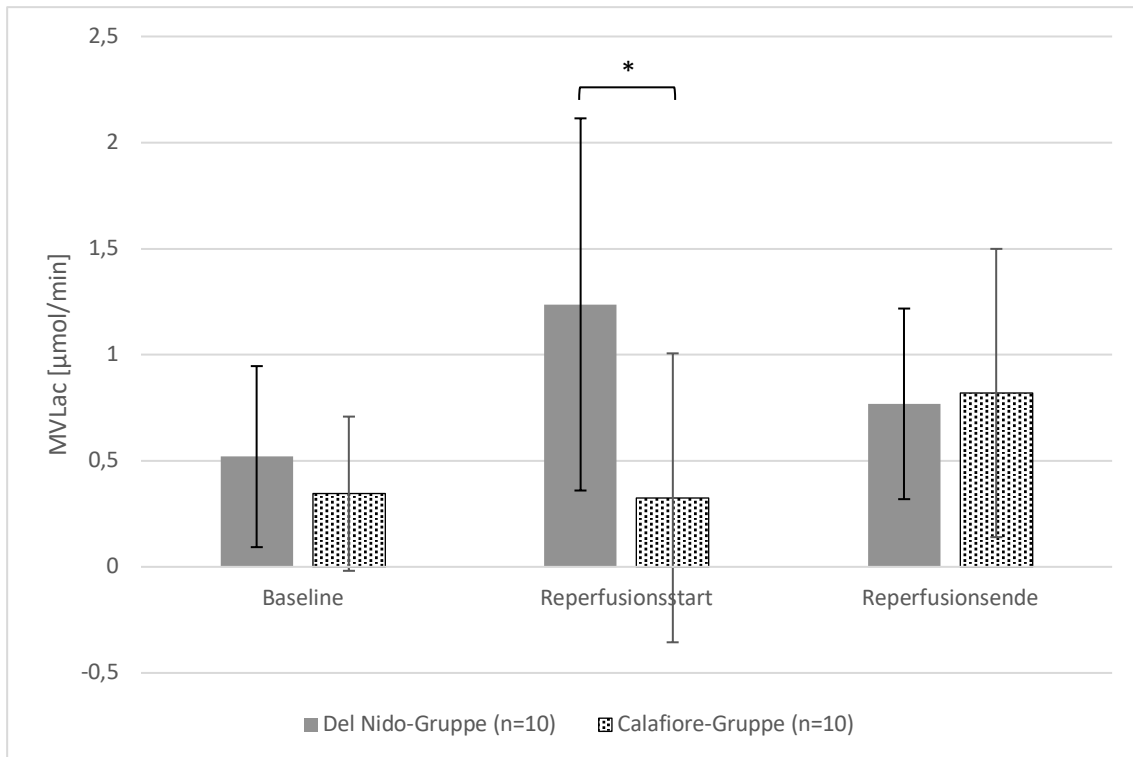


Abbildung 18: MVLac [ $\mu\text{mol}/\text{min}$ ] am RS und RE; Mittelwerte und Standardabweichung; Mann-Whitney-U-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$

Zu Beginn der Reperfusion konnte eine signifikant höhere Laktatproduktion in der Del Nido-Gruppe verglichen mit der Calafiore-Gruppe detektiert werden. Dies lässt auf eine Nutzung anaerober Stoffwechselprozesse in der Del Nido-Gruppe schließen. In der Spätphase der Reperfusion näherte sich die Laktatproduktion der beiden Gruppen einander an, sodass zu dem Zeitpunkt keine Über- oder Unterlegenheit einer der beiden Gruppen bezüglich des Laktatmetabolismus festgestellt werden konnte.

## Troponin

Troponin [%]	Del Nido-Gruppe (n=10)	Calafiore-Gruppe (n=10)	p-Wert
Reperfusionstart	701,6 ± 385,7	1478,4 ± 1388,1	0,1405
Reperfusionsende	3660,7 ± 2942,8	1382,2 ± 1390,8	0,0211

Tabelle 9: Troponin-Werte [%] am RS und RE (Mittelwert ± Standardabweichung)

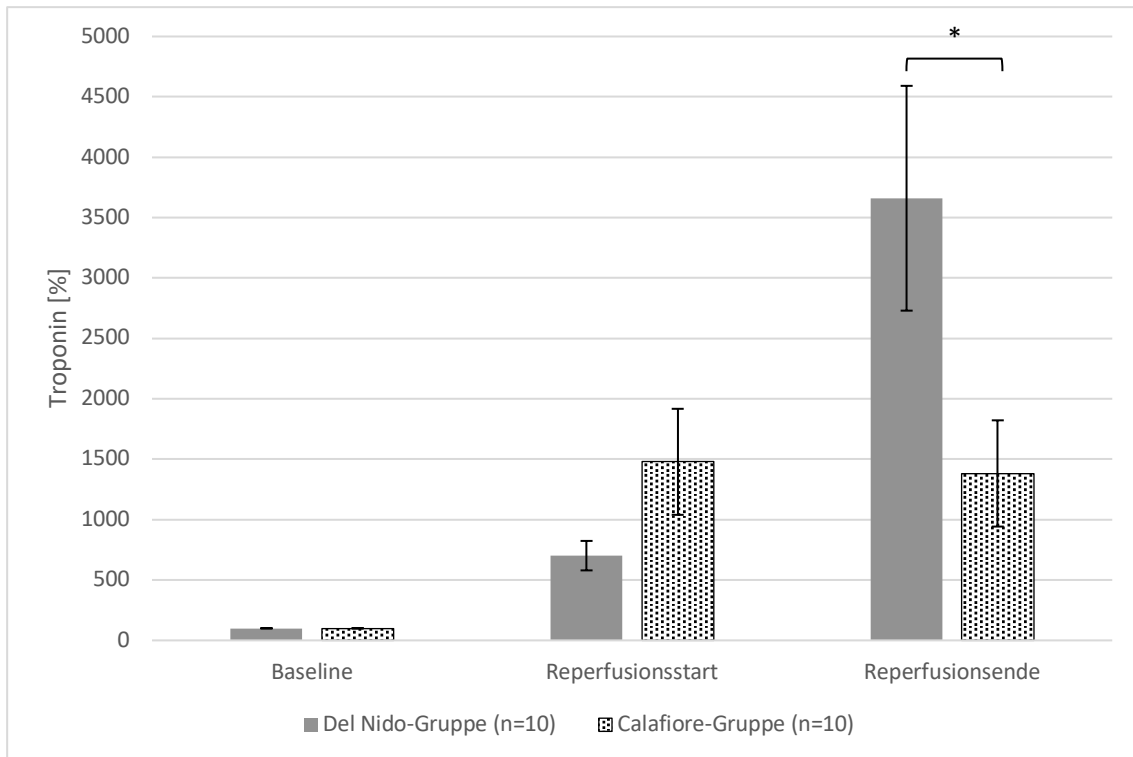


Abbildung 19: Troponin [%] am RS und RE; Mittelwerte und Standardfehler; Mann-Whitney-U-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$

Unter Verwendung von Del Nido Kardioplegie stiegen die Troponin-Werte im Laufe der Reperusionsphase exponentiell an. In der Calafiore-Gruppe ließen sich am Reperusionsstart höhere Troponin-Werte bestimmen als in der Del Nido-Gruppe, wobei der Unterschied nicht statistisch signifikant ist. Zum Ende der Reperusion fielen die Troponin-Werte bei Verwendung von Calafiore wieder leicht ab, woraus sich eine signifikante Überlegenheit im Vergleich zur Del Nido-Gruppe ergibt ( $p=0,0211$ ).

## Elektronenmikroskopie

### Zellulärer Ödemindex

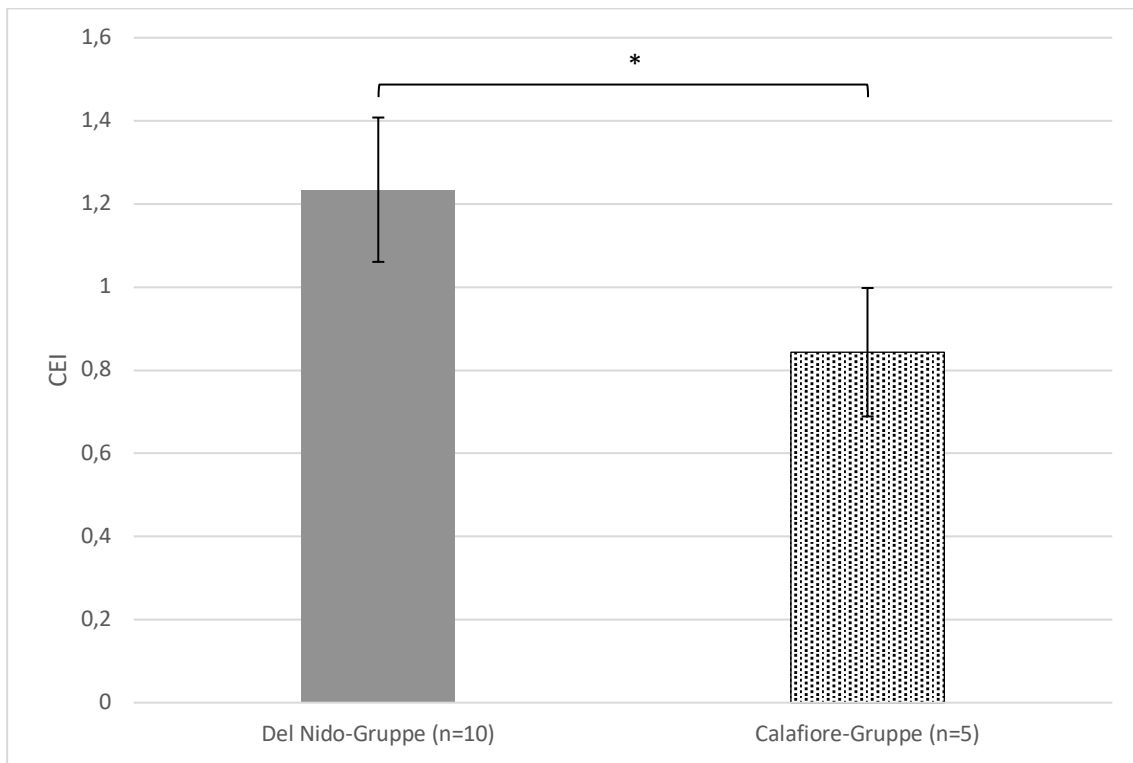


Abbildung 20: CEI nach erfolgtem Langendorff-Versuch; Mittelwerte und Standardabweichung; Mann-Whitney-U-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$

Nach Verwendung von Del Nido Kardioplegie zeigte sich eine stärkere Ödem-bedingte Myozytenschwellung im Vergleich zur Verwendung von Calafiore Kardioplegie. Die Calafiore-Gruppe lieferte demnach einen signifikanten Vorteil bezüglich der ultrastrukturellen Unversehrtheit gegenüber der Del Nido-Gruppe ( $p=0,0059$ ).

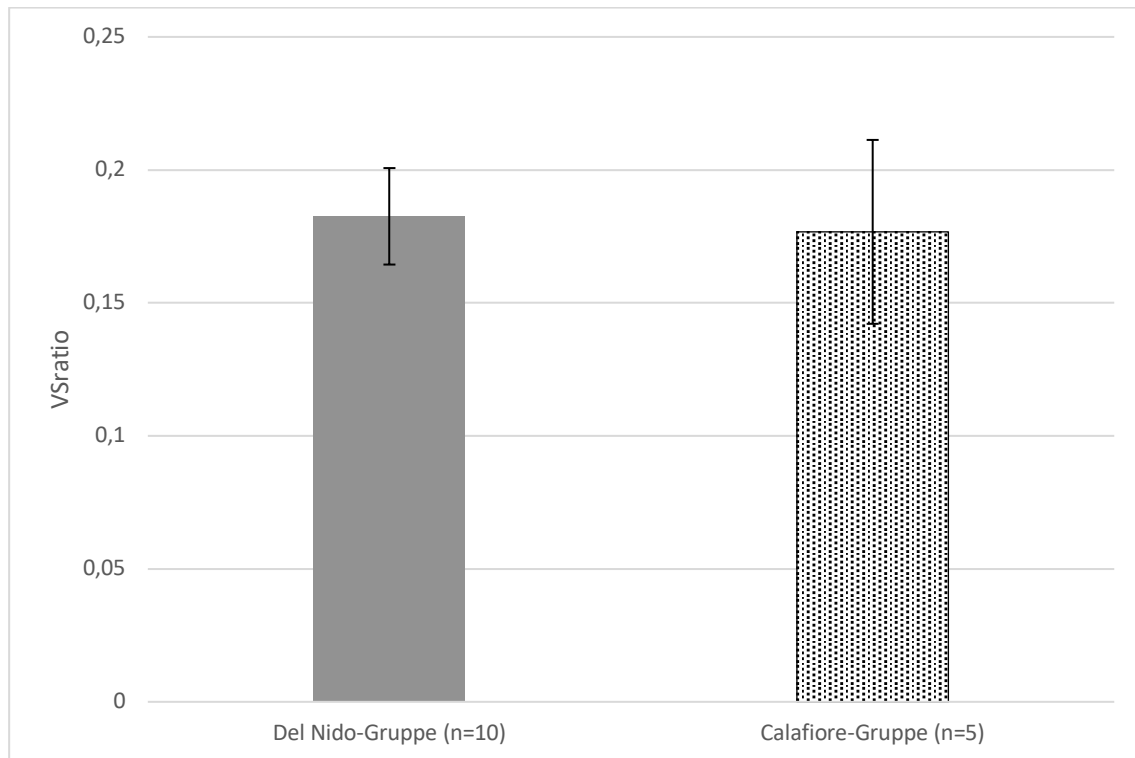
VSratio

Abbildung 21: VSratio nach erfolgtem Langendorff-Versuch; Mittelwerte und Standardabweichung; Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$

In der Del Nido-Gruppe trat ein minimal größeres Maß mitochondrialer Veränderungen auf als in der Calafiore-Gruppe. Eine signifikante Überlegenheit einer der beiden Gruppen konnte jedoch nicht detektiert werden ( $p=0,6691$ ).

## Ultrastrukturelle Auswertung

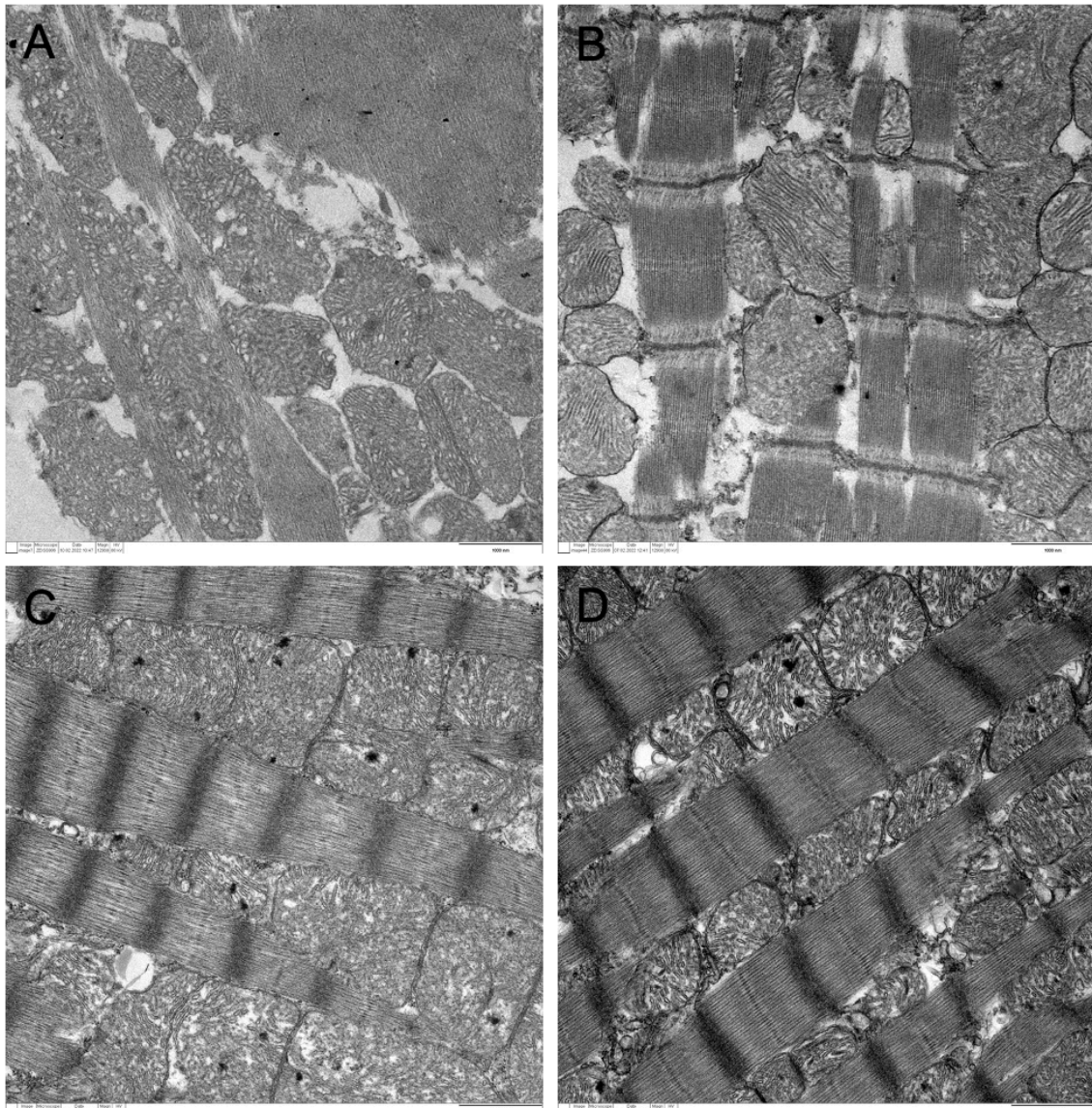


Abbildung 22: Übersicht repräsentativer elektronenmikroskopischer Aufnahmen der Ventrikel: Del Nido (A+B), Calafiore (C+D), Vergrößerung: 12930x

Die qualitative Auswertung der elektronenmikroskopischen Bilder zeigt einen besseren Strukturhalt der Myozyten bei Verwendung der Calafiore Kardioplegie. Zusätzlich fällt im Vergleich eine Schwellung sowie unscharfe Begrenzung der Mitochondrien nach Verwendung der Del Nido Kardioplegie auf, welche sich in der Calafiore-Gruppe nicht beobachten lässt. Die Ergebnisse decken sich demnach mit denen des zellulären Ödemindex.

## Myokardkontraktionen

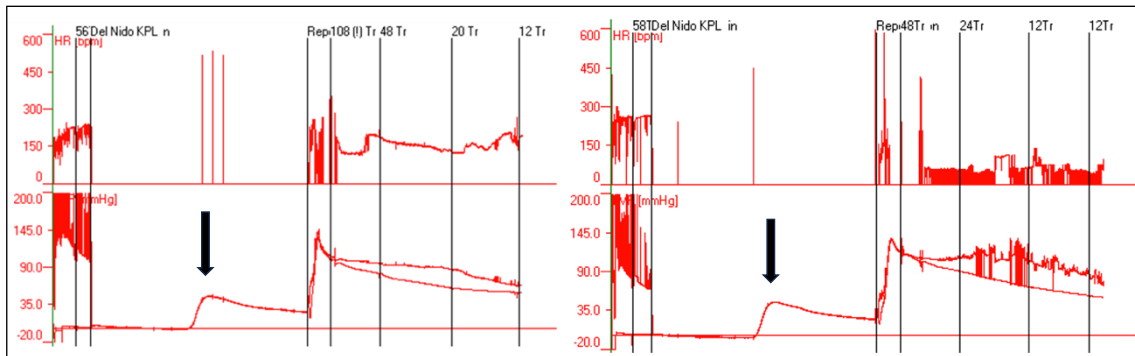


Abbildung 23: Software-Aufzeichnung zweier Versuche bei der Verwendung von Del Nido Kardioplegie

Die Abbildung 23 zeigt stellvertretend die Software-Aufzeichnung zweier Langendorff-Versuche bei Verwendung der Del Nido Kardioplegie. Oben ist jeweils die Herzfrequenz [bpm] und unten der LVDP [mmHg] dargestellt.

Auffällig ist, dass bei allen 10 Versuchen, bei denen die Del Nido Kardioplegie zum Einsatz kam nach circa 30 Minuten Ischämie-Zeit myokardiale Kontraktionen auftraten.

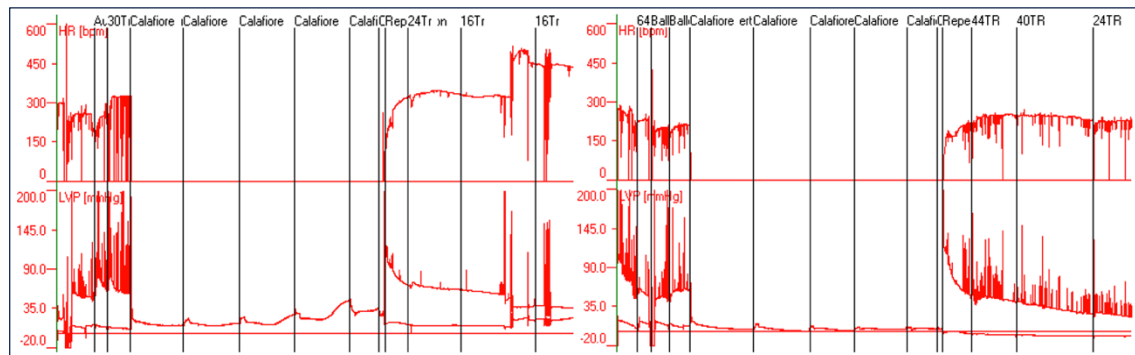


Abbildung 24: Software-Aufzeichnung zweier Versuche bei Verwendung von Calafiore Kardioplegie

Diese myokardialen Kontraktionen konnten bei Verwendung der Calafiore Kardioplegie nicht nachgewiesen werden. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die unter Del Nido Kardioplegie während der Ischämie-Zeit auftretenden Kontraktionen negativen Einfluss auf die myokardiale Erholung in der Reperfusionzeit haben.

## Diskussion

Im Laufe der Zeit hat sich die Kardioprotektion von der reinen Gabe einer kaliumreichen Lösung zu einem komplexen Forschungsbereich entwickelt, in dem verschiedenste Strategien erforscht wurden: von der Zusammensetzung (blutbasiert vs. kristalloid), der Art der Verabreichung (antegrad vs. retrograd), der Temperatur (kalt vs. warm) bis hin zur Verabreichungsart (einmalig vs. intermittierend) (Habertheuer et al., 2014). Trotz umfangreicher Literatur zu diesem Thema scheint eine optimale, universell einsetzbare Kardioplegielösung noch lange nicht gefunden. Eine weltweite Umfrage zwischen Juni 2015 und Mai 2016 ergab jedoch, dass die Blutkardioplegie die am häufigsten verwendete Arrestmethode war (Ali et al., 2018). Zu diesen gehört unter anderem die Del Nido Kardioplegie, die in den 1990er Jahren an der Universität Pittsburgh speziell für den Einsatz in der Säuglings- und Kinderchirurgie entwickelt wurde, nachdem Forscher die Notwendigkeit einer Kardioplegielösung sahen, die den Besonderheiten und Bedürfnissen eines pädiatrischen Herzens gerecht wird (Matte & del Nido, 2012). Im Umkehrschluss ist es daher fraglich, ob die Del Nido Kardioplegie auch zum Schutz des Myokards Erwachsener geeignet ist, da sich das gesunde Myokard pädiatrischer und neonataler Herzen von dem älteren und kränkeren Myokard erwachsener Herzen in einigen Punkten unterscheidet. Während das adulte Myokard im Zustand geringer Belastung circa 95% seiner Energie aus der Fettsäureoxidation zieht (Goodwin et al., 1998), verwendet das neonatale Myokard als Hauptsubstrat zur ATP-Produktion Glukose (Lopaschuk et al., 1991). Zusätzlich verfügt es über höhere Glykogenspeicher, die insbesondere die Energiebereitstellung während hypoxischer Perioden unter der Geburt sichern sollen (Johnson, 2017). Andererseits besteht beim pädiatrischen Myokard eine stärkere Anfälligkeit für Kalziumschäden, die in der unreifen Myofibrillenstruktur und unzureichend entwickelter T-Tubuli begründet liegt (Pouard & Bojan, 2013). Das adulte Myokard hingegen reagiert empfindlicher auf Ischämieperioden, was durch eine geringere Fähigkeit zur Nutzung anaerober Stoffwechselprozesse während der Ischämie erklärt werden kann (Valooran et al., 2016). Die altersbedingten Unterschiede bezüglich der Ischämietoleranz sowie der postischämischen Erholung der myokardialen Funktion werden in verschiedenen Studien allerdings kontrovers diskutiert. Auf der einen Seite wird berichtet, das pädiatrische Herz regeneriere nach einer Ischämieperiode besser als das adulte Herz (Grice et al., 1987; Magovern et al., 1989). Bove et al. untersuchten in diesem Zusammenhang die Regeneration der linksventrikulären Funktion von Kaninchenherzen verschiedener Altersklassen nach hypothermer globaler Ischämie. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass das Herz neugeborener Kaninchen während einer 90-minütigen

Ischämieperiode durch Hypothermie allein ausreichend geschützt ist, während das Myokard erwachsener Herzen unter gleichen Bedingungen erheblichen Schaden davonträgt. Dies deutet darauf hin, dass bei in Hypothermie durchgeführten Herzoperationen bei Erwachsenen die Verwendung etwaiger Kardioplegielösungen von größerer Bedeutung ist (Bove & Stammers, 1986). Auf der anderen Seite legen Arbeiten von Chiu et al. und Wittnich et al. eine höhere Anfälligkeit unreifer Herzen gegenüber ischämischer Schäden als reifer Herzen dar (Chiu & Bindon, 1987; Wittnich et al., 1987). Die Forschungsgruppen nutzen als Kriterium für den Vergleich der durch die Ischämie verursachten Schäden die Zeit bis zum Auftreten ischämischer Kontrakturen. Die Wiederherstellung der Herzfunktion nach Reperfusion wurde allerdings nicht beurteilt, sodass die Relevanz des Modells für die Anfälligkeit für Ischämieschäden fragwürdig erscheint.

Mit der rasanten Entwicklung herzchirurgischer Verfahren, insbesondere bezüglich Invasivität und Komplexität, wurde die Del Nido Kardioplegie dennoch nach und nach auch in der Erwachsenen Chirurgie eingesetzt (Marzouk et al., 2020; O'Donnell et al., 2019). Durch Verwendung von Hypothermie und den spezifischen Zusätze bewirkt die Del Nido Kardioplegie gemäß O'Blenes et al. eine Reduktion der durch die Kalzium-Überladung ausgelösten Myokardkontraktur auch bei reifen Herzen und scheint daher auch bei Älteren eine geeignete Option zur Myokardprotektion zu sein (O'Blenes et al., 2011).

Anhand unserer tierexperimentellen Ergebnisse isolierter adulter Rattenherzen lassen sich folgende Aussagen treffen:

1. Die Verwendung der Del Nido Kardioplegie führte zu einer schlechteren hämodynamischen Erholung in der Reperfusionsphase verglichen mit der Verwendung von Calafiore Kardioplegie.
2. In der Del Nido-Gruppe kam es zu einer höheren Laktatproduktion, einem niedrigeren Sauerstoffverbrauch und höheren Troponin-Werten.
3. Das zelluläre Ödem nach dem erfolgten Langendorff-Versuch war nach Verwendung von Del Nido Kardioplegie stärker ausgeprägt.

Bei ausnahmslos allen Del Nido-Versuchen konnte in der Zeit der Ischämie nach circa 30 Minuten ein Anstieg des LVDP detektiert werden (vgl. Abbildung 23). Humphrey et al. definierten einen solchen Anstieg der Ruhespannung des linken Ventrikels bei konstantem Volumen als ischämische Kontraktur und verwiesen auf einen Zusammenhang zwischen der generierten Kraft während der ischämischen Kontrakturen und hierdurch entstehenden Reperfusionsdefekten (Humphrey et al.,

1980). Henderson et al. konnten zeigen, dass die ischämischen Kontrakturen durch ein Energiedefizit bedingt sind und das Ausmaß dieser zum einen von der Schwere und Dauer der Hypoxie, zum anderen von der Spezies abhängt (Henderson et al., 1971). Die genauen Mechanismen, die zu einer ischämischen Kontraktur führen, werden kontrovers diskutiert und scheinen komplex. Auf der einen Seite wird als Ursache der Kontrakturen eine ischämiebedingte Störung der Kalziumhomöostase angenommen, da es während einer Ischämie zu einem Anstieg intrazellulären Kalziums kommt (Humphrey et al., 1980; Kurkji et al., 1973). Laut Steenbergen et al. ist dieser ein bedeutender Faktor in der Entstehung ischämiebedingter Myokardschäden (Steenbergen et al., 1990). Auf der anderen Seite wird davon ausgegangen, dass die Verringerung myokardialer ATPs durch die anaerobe Erschöpfung der myokardialen Energiespeicher, die wiederum eine starre Bindung zwischen Aktin- und Myosinfilamenten erzeugt, eine wesentliche Rolle in der Entstehung ischämischer Kontrakturen spielt (Katz & Tada, 1972). Hearse et al. unterstützten diese Hypothese und zeigten, dass die Kontraktion des Myokards bei einem Absinken der mittleren zellulären ATP-Konzentration auf  $12 \mu\text{mol/g}$  Trockengewicht beginnt. Sie verwiesen jedoch gleichzeitig darauf, dass dies durch eine Kompartimentierung des ATP möglicherweise nicht die kritische Konzentration im Bereich des Myofilaments darstellt (Hearse et al., 1977). Katz et al. schlussfolgerten, dass die Prävention und Therapie demnach auf eine Regulierung von Energieangebot und -nachfrage abzielen müsse, beispielsweise durch die Gabe von negativ inotrop wirkenden Agenzien (Katz & Tada, 1972). Der Fakt, dass in der Calafiore-Versuchsgruppe keine ischämischen Kontrakturen beobachtet wurden, deutet auf einen wirksamen Schutz des Myokards hin. Im Gegensatz dazu scheint die Del Nido Kardioplegie keine ausreichende Kardioprotektion zu gewährleisten, wobei die genauen Mechanismen durch fehlende Messungen der ATP- oder Kalziumkonzentrationen während der Ischämie unklar bleiben. Histopathologisch kommt es im Rahmen einer ischämischen Kontraktur zu degenerativen Veränderungen der Myofibrillen (Baroldi et al., 1974). Das Auftreten ischämischer Kontrakturen in der Del Nido-Gruppe ist somit eine mögliche Ursache für die schlechtere Erholung des Myokards in der Reperfusionphase.

Die signifikant höheren Werte von LVDP,  $dLVP/dt_{\text{max}}$ ,  $dLVP/dt_{\text{min}}$  und Herzfrequenz bei Verwendung der Calafiore Kardioplegie sind die Grundlage für die bessere kardiale Erholung der Herzen in der Reperfusionphase (vgl. Abbildungen 12, 14, 15 und 16). Der LVDP-Wert errechnet sich aus der Differenz zwischen dem linksventrikulären endsystolischen und enddiastolischen Druck und ist als Maß für die Herzkraft zu interpretieren (Dhein et al., 2005). Höhere Werte gehen demnach mit einer besseren

systolischen und diastolischen Funktion einher. Diesbezüglich scheint die Calafiore Kardioplegie der Del Nido Kardioplegie insbesondere am Reperfusionbeginn überlegen (vgl. Abbildung 14). Ob die schlechtere kardiale Regeneration unter Verwendung von Del Nido Kardioplegie eher auf eine systolische oder diastolische Funktionsstörung zurückgeführt werden kann, wird im Folgenden erörtert.

Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit kann als Maß für die Inotropie herangezogen werden, wobei niedrige  $dLVP/dt_{max}$ -Werte eine negative Inotropie bedeuten. Sowohl zu Beginn als auch zum Ende der Reperfusion konnten in der Del Nido-Versuchsgruppe verglichen mit der Calafiore-Versuchsgruppe signifikant niedrigere  $dLVP/dt_{max}$ -Werte detektiert werden. Um den Einfluss der Ischämie auf die Inotropie des Herzens zu verstehen, ist es notwendig, sich mit der elektromechanischen Kopplung der Herzaktion zu befassen. Die Myokardzelle wird zunächst durch eine Depolarisation der Zellmembran erregt. Dies bedingt einen Kalziumeinstrom aus dem Extrazellularraum ins Zytosol durch L-Typ-Kalziumkanäle, was wiederum zu einer Öffnung der Ryanodin-Rezeptoren des sarkoplasmatischen Retikulums führt. Diese Kalzium-induzierte Kalziumfreisetzung führt zu einer deutlichen Erhöhung von Kalzium im Zytosol. Dieses bindet dort an Troponin C, verursacht eine Konformationsänderung der kontraktilen Proteine, wodurch es zur Interaktion von Aktin und Myosin kommt (Crampin & Smith, 2006). Die im Rahmen einer Ischämie entstehende Azidose beeinflusst den Erregungs-Kontraktions-Signalweg durch Hemmung der Kalzium-Bereitstellung an die Myofilamente (Orchard & Kentish, 1990) und führt so zu einer Beeinträchtigung der Auswurfleistung des Herzens. Im Rahmen einer ungenügenden Kardioprotektion während einer ischämischen Periode kommt es somit zu funktionellen Einbußen im Sinne einer Beeinträchtigung der Inotropie des Herzens.

Die maximale Relaxationsgeschwindigkeit kann als Maß für die Lusitropie herangezogen werden und ermöglicht eine Beurteilung der diastolischen Funktion des Myokards (Klabunde, 2012). Auch hier zeigt sich die Del Nido Kardioplegie der Calafiore Kardioplegie unterlegen (vgl. Abbildung 16). Eine verringerte Lusitropie führt zu einer geringeren diastolischen ventrikulären Füllung und in der Folge zu einer Reduktion des Schlagvolumens (Klabunde, 2012).

Summa summarum ist die schlechtere kardiale Erholung unter Verwendung der Del Nido Kardioplegie sowohl durch eine systolische als auch durch eine diastolische Dysfunktion bedingt.

Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen zeigen sich allerdings nicht nur bei den physiologischen bzw. Leistungsparametern, sondern auch bei den

biochemischen Parametern. Das gesunde erwachsene Herz verwendet als Energiequelle zur Aufrechterhaltung der Herzfunktion hauptsächlich Glukose und Fettsäuren (Bing et al., 1954; Depre et al., 1999). Acetyl-CoA wird in den Krebs-Zyklus eingeschleust und stammt unter regulären Umständen zu 60-90 % aus der beta-Oxidation von Fettsäuren und zu 10-40 % aus der Oxidation von Pyruvat. Letzteres entsteht im Zytosol aus Glukose. Unter aeroben Bedingungen wird Pyruvat durch die Pyruvat-Dehydrogenase zu Acetyl-CoA umgewandelt, entsprechend fungiert diese Reaktion als Bindeglied zwischen der Glykolyse und dem Krebs-Zyklus. In Abwesenheit von Sauerstoff allerdings wird Pyruvat durch die Laktat-Dehydrogenase zu Laktat reduziert (Stanley & Chandler, 2002). In diesem Zusammenhang sei insbesondere die signifikant höhere Laktatproduktion in der Del Nido-Gruppe zu Beginn der Reperfusion zu nennen (vgl. Abbildung 18). Diese deutet auf eine verzögerte Erholung des aeroben Energiemetabolismus hin und ist somit mit einer insuffizienten Myokardprotektion assoziiert (Rao et al., 2001). Dass die Laktatproduktion im Laufe der Reperfusion abnimmt und am Ende sogar deskriptiv niedriger ist als in der Calafiore-Gruppe ist insbesondere in Zusammenschau mit den anderen Metabolismusparametern, wie Sauerstoffverbrauch und Troponinfreisetzung am ehesten mit einer irreversiblen Zellschädigung in Verbindung zu bringen und keinesfalls Ausdruck einer Regenerierung des Metabolismus im Laufe der Reperfusion.

Kardiales Troponin I ist hochspezifisch für eine Myokardschädigung (Adams et al., 1993; Bertinchant et al., 1996). Seine Freisetzung ist bedingt durch einen Zerfall von Myofilamenten im Rahmen einer Zellschädigung (Bertinchant et al., 1999). Die Troponinfreisetzung in der Del Nido-Gruppe steigt im Rahmen der Reperfusion exponentiell an und ist am Reperfusionsende signifikant höher als in der Calafiore-Gruppe. Chocron et al. konnten einen linearen Zusammenhang zwischen der Dauer der Ischämie und der Troponinfreisetzung nachweisen (Chocron et al., 1996). Algarni et al. verglichen das klinische Outcome bei Verwendung kalter Blutkardioplegie und Del Nido Kardioplegie bei einem breiten Spektrum herzchirurgischer Eingriffe mit dem Ergebnis signifikant niedriger Troponin-Level bei Einsatz der Del Nido Kardioplegie (Algarni, 2020). Diverse andere Forschungsgruppen heben in ihren Studien ebenfalls eine Überlegenheit der Del Nido Kardioplegie bezüglich der Troponinausschüttung hervor (Kuserli et al., 2020). Eine mögliche Erklärung liegt in der Zusammensetzung der Del Nido Kardioplegie. Lidocain als Natriumkanalblocker und Magnesium als Kalzium-Konkurrent führen zu einer Senkung des intrazellulären Kalziumspiegels und bewirken darüber eine Reduktion der kardialen Erregbarkeit sowie des zellulären Stoffwechsels (Ataka et al., 1993; Dobson & Jones, 2004; Matte & del Nido, 2012). Zu einem anderen

Ergebnis kamen Gorjipour et al. bei dem Vergleich der Del Nido Kardioplegie mit einer Mehrfach-Dosis-St.-Thomas-Kardioplegie bei operativen Korrekturen einer Fallot'schen Tetralogie. Zwar konnten sie bezüglich der postoperativen Troponin I-Werte keine signifikanten Unterschiede feststellen, dennoch zeigten sich die Werte bei Verwendung der Del Nido Kardioplegie höher (Gorjipour et al., 2017).

Die Ergebnisse der physiologischen und biochemischen Parameter stehen ebenfalls in Einklang mit den ultrastrukturellen Beobachtungen des Myokards nach erfolgtem Langendorff-Versuch. Zwar konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen bezüglich mitochondrialer Veränderungen beobachtet werden (vgl. Abbildung 21), jedoch zeigt sich die Calafiore-Gruppe im Hinblick auf den zellulären Ödemindex der Del Nido-Gruppe überlegen (vgl. Abbildung 20). Der Mechanismus der Entstehung postischämischer Ödeme wird im Folgenden erläutert. Im ischämischen Gewebe kommt es zu einem schnellen Verbrauch von Energiereserven. Jennings et al. konnten zeigen, dass sich der ATP-Gehalt im ischämischen Gewebe nach 15 Minuten um 65 % reduziert und nach 40 Minuten nur noch weniger als 10 % vorhanden ist (Jennings et al., 1978). Bedingt durch dieses Energiedefizit ist die Arbeit verschiedener Ionenpumpen, insbesondere der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase beeinträchtigt, sodass es zu intrazellulären Elektrolytverschiebungen kommt. Eine wesentliche Rolle spielt dabei ein Anstieg der Konzentration von Natrium und Chlorid in der Zelle (Jennings et al., 1964). Zusätzlich steigt im ischämischen Myokard die Gewebeosmolarität durch den Abbau von Glykogen zu Laktat und die Hydrolyse energiereicher Phosphate an. An Experimenten mit Schweineherzen konnten Tranum-Jensen et al. einen Anstieg der Osmolarität um 40 mOsm/kg nach 50-minütiger Ischämie verzeichnen. Parallel dazu stieg der Wassergehalt um durchschnittlich 16,5 % (Tranum-Jensen et al., 1981). Mit der Reperfusion aggraviert sich die Zellschwellung durch das rasche Auswaschen osmotisch wirksamer Moleküle (Garcia-Dorado et al., 2012). Folge dieses Myokardödems ist, wie auch in unserer Studie beobachtet, eine verminderte systolische und diastolische Herzleistung (Laine & Allen, 1991) und linksventrikuläre Compliance (Desai et al., 2008).

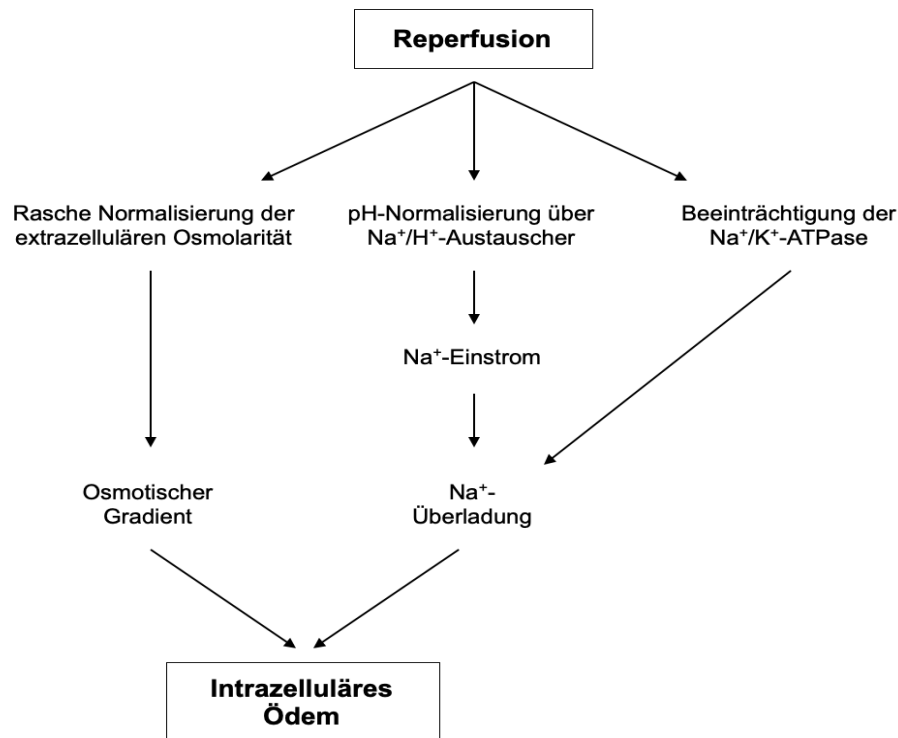


Abbildung 25: Schlüsselfaktoren der reperfusionsbedingten Schwellung der Myozyten (in Anlehnung an Garcia-Dorado et al., 2012)

Xue et al. verglichen die Del Nido Kardioplegie mit HTK-Kardioplegie sowie einer Kombination aus Blutkardioplegie und HTK-Kardioplegie an isolierten Rattenherzen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die Verwendung von Del Nido Kardioplegie eine bessere Erholung des Myokards während der Reperfusionszeit ermöglicht, was sich in einem höheren LVDP sowie einer besseren maximalen Kontraktions- und Relaxationsgeschwindigkeit widerspiegelt hat. Jedoch gelang unter HTK und HTK plus Blutkardioplegie ein überlegener Schutz der koronaren Endothelfunktion, belegt durch eine maximale Erhaltung der endothelabhängigen Relaxation. Interessanterweise beschrieben Xue et al. keine myokardialen Kontraktionen während der Ischämiezeit, die typischerweise während der Experimente dieser Arbeit gesehen wurden (Xue et al., 2022). Zwar wurde die Endothelfunktion in dieser Arbeit nicht gemessen, es kann jedoch indirekt über die Parameter des Koronarflusses und des Sauerstoffverbrauchs auf sie geschlossen werden. Katz et al. befassten sich bereits in den 50er Jahren mit der Beziehung dieser beider Parameter. Sie legten dar, dass die Korrelation zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch des Herzens durch eine Anpassung des koronaren Blutflusses konstant gehalten werden kann (Katz & Feinberg, 1958). In der Del Nido-Gruppe kam es zu Beginn der Reperfusion sowohl zu einem Anstieg des Koronarflusses als auch zu einem Anstieg des Sauerstoffverbrauchs (vgl. Abbildung 13 und 17). Der koronare Blutfluss kann angelehnt an das Ohm'sche Gesetz wie folgt definiert werden:

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

Die Formel zeigt einen Zusammenhang zwischen der Koronarperfusion CF, dem bestehenden Blutdruck  $\Delta P$  und dem Gefäßwiderstand R. Da in unserem experimentellen Setting ein konstanter Druck von 70 mmHg herrschte, wird der koronare Blutfluss maßgeblich von dem vaskulären Widerstand beeinflusst. Die Regulation des koronaren Gefäßwiderstandes ist das Ergebnis eines Zusammenwirkens einer Vielzahl vasodilatierender und -konstringierender Effekte, die es dem Herzmuskel ermöglichen, die koronare Durchblutung an den Sauerstoff- und Nährstoffbedarf anzupassen. Zu den vasomotorischen Einflüssen zählen beispielsweise neurohumorale Faktoren durch das sympathische und parasympathische Nervensystem, vom Endothel stammende Faktoren (NO, Endothelin) oder metabolische Botenstoffe der Herzmuskelzellen (Duncker & Bache, 2008). Der Anstieg des Koronarflusses nach erfolgter Ischämie zu Beginn der Reperfusion wird als reaktive Hyperämie bezeichnet. Die Gründe für eine reaktive Hyperämie sind dabei vielfältig und komplex und scheinen in ihrer Gesamtheit noch nicht endgültig erforscht. Sie reichen von der Freisetzung von Histamin (Anrep et al., 1944) und anderer vasodilatatorischer Metabolite aus dem ischämischen Gewebe (Anrep & Saalfeld, 1935), über einen Abfall des pH-Wertes (Kester et al., 1952) bis hin zu einem CO<sub>2</sub>-Überschuss und O<sub>2</sub>-Mangel (Katz & Feinberg, 1958). Crawford et al. zeigten tierexperimentell einen nahezu proportionalen Zusammenhang zwischen dem Grad der Hypoxie und dem Blutfluss und kamen so zu dem Ergebnis, dass möglicherweise die Hypoxie des Gewebes der Auslöser für die Freisetzung vasodilatierender Substanzen ist (Crawford et al., 1959). Der zu Beginn der Reperfusion detektierte Anstieg des Koronarflusses sowie des Sauerstoffverbrauchs in der Del Nido-Gruppe deutet dementsprechend auf eine ischämiebedingte Akkumulation vasodilatatorischer Substanzen hin. Im Verlauf der Reperfusion sanken beide Parameter bei Verwendung der Del Nido Kardioplegie ab, sodass am Reperfusionsende ein signifikanter Unterschied zur Calafiore-Gruppe bestand. Entsprechend der zuvor dargelegten Zusammenhänge ist der verminderte Koronarfluss Ausdruck eines erhöhten Gefäßwiderstandes. Rubboli et al. konnten mittels Experimenten am isolierten Rattenherzen darlegen, dass ein erhöhter Gefäßwiderstand Ausdruck eines myokardialen Ödems ist (Rubboli et al., 1994). Dieses führt über die Reduktion des Koronarflusses zu einer verminderten Blutversorgung und somit zu einem Fortbestehen ischämischer Verhältnisse. Durch elektronenmikroskopische Begutachtung des Myokards nach erfolgtem Langendorff-Versuch mit anschließender Bestimmung des CEI konnte gezeigt werden, dass es nach Verwendung der Del Nido Kardioplegie zu einer signifikant stärkeren Myozytenschwellung kommt als nach Calafiore Kardioplegie

(vgl. Abbildung 20). Das myokardiale Ödem wirkt sich jedoch nicht nur auf den Koronarfluss aus, sondern führt ebenfalls zu einer Beeinträchtigung der systolischen und diastolischen Herzfunktion (Laine & Allen, 1991). Studien konnten zeigen, dass ein Myokardödem die Steifigkeit des Papillarmuskels erhöht und hierüber zu einer verminderten Compliance des linken Ventrikels führt (Detwiler et al., 1994; Pogátsa et al., 1976).

Neben einem verminderten vaskulären Widerstand als Ursache des zu Beginn der Reperfusion erhöhten koronaren Blutflusses sei zusätzlich ein Absinken des LVDP zu nennen. Hierdurch kommt es zu einer verminderten Kompression der Koronargefäße während der Systole, die wiederum in einer ungehinderten Koronarperfusion resultiert.

Eine Erklärung für die Überlegenheit der Calafiore Kardioplegie könnte in der Mehrfachverabreichung im Abstand von 20 Minuten während der Ischämiephase liegen, da die Gabe mehrerer Dosen mit einem intermittierenden Ausschwemmen von während der Ischämie akkumulierten Stoffwechselendprodukten einhergeht (Lucas et al., 1980). Allerdings hat die Einmalgabe klinisch den entscheidenden Vorteil, wiederholte Unterbrechungen der chirurgischen Eingriffe zu umgehen, einen reibungslosen operativen Ablauf zu gewährleisten und die Dauer des kardiopulmonalen Bypasses sowie der Abklemmzeit der Aorta zu reduzieren, sodass das Risiko postoperativer Komplikationen und die Mortalität sinkt (Doenst et al., 2008; Salis et al., 2008). Der Frage, ob die mehrfache Verabreichung der Del Nido Kardioplegie Vorteile gegenüber der Einmalgabe bietet, stellten sich Govindapillai et al.. Sie zeigten allerdings, dass die Einmalgabe auch bei reifen Rattenherzen mit einer besseren funktionellen Erholung des Myokards nach 60-minütiger Ischämie einhergeht (Govindapillai et al., 2016). Da in unserem experimentellen Setting allerdings eine 90-minütige Ischämie durchgeführt wurde, sind weitere Studien nötig, um eine mögliche Überlegenheit einer Mehrfachgabe zu evaluieren. Bisherige klinische Studien zu der Anwendung der Del Nido Kardioplegie in der Erwachsenen Chirurgie legen 60-90 Minuten als optimalen Zeitpunkt für eine erneute Dosierung nahe (Mishra et al., 2016; Ota et al., 2016; Timek et al., 2016; Yerebakan et al., 2014).

Govindapillai et al. verglichen die Del Nido Kardioplegie mit einer „Standard“-4:1-Blutkardioplegie an isolierten Rattenherzen. Sie fanden heraus, dass die Verwendung der Del Nido Kardioplegie zu einer besseren Herzmuskelerholung und signifikant verringerter Troponinfreisetzung führt. Weiterhin beschrieben sie eine Verhinderung spontaner Kontraktionen während der Ischämiezeit. Die Resultate widersprechen den Ergebnissen dieser Arbeit, wobei eine konkrete Vergleichbarkeit durch unterschiedliche Versuchsbedingungen erschwert ist. Insbesondere zu nennen ist in diesem

Zusammenhang, dass Govindapillai et al. zum Vergleich eine 4:1-verdünnte Blutkardioplegie verwendeten, lediglich eine 60-minütige Ischämiezeit bei Raumtemperatur (22-23 °C) durchführten und die Kardioplegien gekühlt (1,9 °C ± 0,4 °C) verabreichten. Bei ihrem Vergleich stellten sie weiterhin fest, dass die Verwendung von Del Nido Kardioplegie in der frühen Reperfusionphase mit einer vorübergehenden kardialen Inaktivität assoziiert ist. Während der Herzschlag in der „Standard“-Blutkardioplegie-Gruppe nach durchschnittlich 32 s wiedereinsetzte, war diese Zeit in der Del Nido-Gruppe doppelt so lang (Govindapillai et al., 2013). Die verzögerte Erholung der ventrikulären Funktion ist Ausdruck niedriger postischämischer ATP-Konzentrationen (Bolling et al., 1991), was wiederum eine mangelhafte Myokardprotektion durch die Del Nido Kardioplegie bedeuten würde. Den Erhalt beziehungsweise die Wiederherstellung der ATP-Speicher ist zum einen abhängig von mitochondrialen Mechanismen zur Phosphorylierung von ATP, zum anderen vom Substratangebot (Pasque & Wechsler, 1984). Da in beiden Versuchsgruppen die gleiche Reperfusionlösung verwendet wurde, kann geschlossen werden, dass möglicherweise eine stärkere ischämiebedingte Schädigung der Mitochondrien in der Del Nido-Gruppe zu der verzögerten myokardialen Erholung führt. Diesbezüglich zeigten Cunningham et al. einen Zusammenhang zwischen der Abnahme der ATP-Konzentration und schweren ultrastrukturellen mitochondrialen Schäden auf (Cunningham et al., 1979). Elektronenmikroskopisch konnten wir eine Überlegenheit der Calafiore Kardioplegie gegenüber der Del Nido Kardioplegie bezüglich der mitochondrialen Unversehrtheit feststellen. Zusätzlich besitzt PlasmaLyte A als Basislösung der Del Nido Kardioplegie lediglich einen niedrigen Kaloriengehalt von 21 kcal/L (Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL), der durch den Zusatz von Blut zwar erhöht wird, jedoch trotzdem mit nachteiligen Wirkungen auf die Regeneration des Myokards assoziiert sein könnte.

Neben zahlreichen tierexperimentellen Arbeiten zu den kardioprotektiven Eigenschaften der Del Nido Kardioplegie existieren mittlerweile auch einige klinische Studien zu der Anwendbarkeit in der Erwachsenen Chirurgie. Eine Meta-Analyse von Misra et al. aus dem Jahr 2020 konnte zeigen, dass die Del Nido Kardioplegie in der adulten Herzchirurgie eine brauchbare und sichere Alternative zu Blutkardioplegie darstellt. Auch wenn sich kein signifikanter Unterschied in der Mortalität feststellen ließ, so gelang der Nachweis von intra- und postoperativen Vorteilen, beispielsweise bezüglich der Troponinausschüttung, Transfusionsbedürftigkeit und der Glukosehomöostase (Misra et al., 2021). Lenoir et al. verglichen retrospektiv ebenfalls die Del Nido Kardioplegie mit einer Blutkardioplegie bei komplexen Aortenwurzeloperationen. Sie kamen zu dem

Ergebnis, dass beide Kardioplegien vergleichbare klinische Outcomes erzielen, verwiesen jedoch auf den effizienteren chirurgischen Work-Flow bei Verwendung von Del Nido Kardioplegie begründet durch die einmalige Verabreichung (Lenoir et al., 2021). Diese ermöglicht jedoch lediglich einen adäquaten Myokardschutz für bis zu 120 Minuten (Guim et al., 2020), sodass von längeren Ischämiezeiten abgesehen werden sollte (Lenoir et al., 2021). Die klinische Anwendung der Del Nido Kardioplegie beschränkt sich jedoch größtenteils auf die Durchführung von Standardoperationen, beispielsweise Koronararterienbypass- (Guajardo Salinas et al., 2017; Timek et al., 2016) oder Aortenklappenersatzoperationen (Ota et al., 2016; Ucak & Uncu, 2019). Die Übertragung dieser Ergebnisse auf komplexere Operationen bei multimorbiden Patienten erfordert dementsprechend weitere klinische Studien.

Den klinischen Vergleich der Del Nido Kardioplegie mit der Calafiore Kardioplegie stellen dem Wissen der Autorin nach lediglich Ucak et al. an. Sie verglichen die Verwendung der beiden Lösungen während elektiver Bypass-Operationen, konnten dabei jedoch keinen klinisch signifikanten Unterschied eruieren. Auch die postoperative Bestimmung der kardialen Enzyme CK-MB und Troponin I lieferten vergleichbare Ergebnisse, sodass sie die Del Nido Kardioplegie für eine geeignete Methode zur Kardioprotektion in der Erwachsenen Chirurgie halten. Die Cross-Clamp-Zeit betrug jedoch durchschnittlich lediglich 43,7 Minuten (Ucak & Uncu, 2019). Es sind dementsprechend weitere tierexperimentelle Studien mit kürzerer Ischämiezeit nötig, um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten und den zeitlichen Rahmen einer optimalen Kardioprotektion unter Verwendung der Del Nido Kardioplegie zu eruieren.

In Hinblick auf die Relevanz der Resultate dieser Studie für den klinischen Kontext sei darauf hingewiesen, dass eine Übertragung von Daten aus Tierversuchen auf den Menschen nur begrenzt möglich ist. Nichts desto trotz hat sich das Langendorff-Modell als unentbehrliches Instrument für die Erforschung kontraktile, elektrischer und metabolischer Eigenschaften sowie der Untersuchung kardioprotektiver Maßnahmen gegen Ischämie-Reperfusionsschäden bewährt (Bell et al., 2011). Dabei ist diese Methode nicht nur kostengünstig, sondern liefert in hohem Maße reproduzierbare Ergebnisse. Die Isolierung des Herzens ermöglicht zusätzlich den Ausschluss peripherer Einflüsse auf die Herzfunktion, beispielsweise des autonomen und zentralen Nervensystems, anderer Organe oder des systemischen Kreislaufs (Skrzypiec-Spring et al., 2007). Die Kombination aus Rinder-Erythrozytenkonzentrat und Krebs-Henseleit-Puffer als Perfusionsmedium ermöglicht darüber hinaus die Imitation physiologischer Perfusionsbedingungen (Sutherland & Hearse, 2000). In Anbetracht dieser Tatsachen eröffnet dieses Versuchsmodell richtungsweisende Perspektiven für weiterführende

Forschungsarbeiten und ebnet den Weg für einen besseren Transfer der Ergebnisse in den klinischen Kontext. Die Wahl ausschließlich männlicher Ratten als Versuchstiere limitiert allerdings die Übertragbarkeit, da es nachgewiesen geschlechtsspezifische Unterschiede in der kardialen Toleranz gegenüber Ischämie gibt (Booth & Lucchesi, 2008; Ostadal et al., 2009). In einer Studie von Lagranha et al. konnte nachgewiesen werden, dass Östrogene einen wesentlichen Einfluss auf die höhere Toleranz des weiblichen Herzens ausüben. Dabei wurde festgestellt, dass eine Ovariectomie bei Frauen zu einer erheblichen Vergrößerung des Infarkts führt, während die Verabreichung von Östrogenen bei Männern eine deutliche Reduktion der Infarktgröße bewirkt (Lagranha et al., 2010).

Summa summarum lassen die bisherigen Untersuchungen keine eindeutigen Rückschlüsse auf den Sicherheitsrahmen der Del Nido Kardiooplegie für den Einsatz in der Erwachsenen Chirurgie zu. Die Durchführung weiterer Studien mit verschiedenen Patientengruppen und Anwendungsmodifikationen könnte die Grundlage für die Entwicklung eines evidenzbasierten Protokolls für die zuverlässige und sichere Nutzung dieser kostengünstigen Technik des Myokardschutzes sein. Insbesondere bezüglich optimaler Dosierungsintervalle und der Anwendung der Del Nido Kardiooplegie bei komplexen Operationen multimorbider Patienten bedarf es weiterer Forschung.

## Zusammenfassung

Die Del Nido Kardioplegie wurde in den 90er Jahren speziell für den Einsatz in der Kinderherzchirurgie entwickelt. Als modifizierte depolarisierende Lösung erlangte sie insbesondere durch ihre single-shot Verabreichung große Beachtung und wurde im Laufe der Zeit zunehmend und mit vielversprechenden Ergebnissen auch in der Erwachsenen Chirurgie eingesetzt.

In dieser Arbeit erfolgte der experimentelle Vergleich der kardioprotektiven Eigenschaften der Del Nido Kardioplegie und der warmen Calafiore Blutkardioplegie während einer 90-minütigen Ischämie an 20 adulten Rattenherzen mittels isolierter Organperfusion im Langendorff-Modell. Nach einer Stabilisierungsphase wurde der Herzstillstand durch die Verabreichung von Calafiore- oder Del Nido Kardioplegie ausgelöst. Die Calafiore-Lösung wurde dabei warm und intermittierend verabreicht, während die Gabe von Del Nido als single shot erfolgte. Im Zuge der 90-minütigen Reperfusion wurden die Herzfunktion und der kardiale Metabolismus bewertet sowie biochemische Parameter gemessen. Im Anschluss an die Durchführung des Experiments erfolgte die Vorbereitung der Herzen für die nachfolgende elektronenmikroskopische Untersuchung.

Die mit Calafiore Kardioplegie behandelten Herzen zeigten während der Reperfusion eine schnellere Erholung und einen höheren LVDP als die mit Del Nido behandelten Herzen. Ischämische Kontraktionen traten in der Del Nido-Gruppe bereits nach 30 Minuten Ischämie auf, während in der Calafiore-Gruppe kein Anstieg des diastolischen Drucks beobachtet wurde. Infolgedessen wurde eine höhere Laktatproduktion zu Beginn der Reperfusion nach Del Nido im Vergleich zu Calafiore beobachtet. Die Troponin-I-Werte am Ende der Reperfusion wiesen nach der Del-Nido-Behandlung höhere Werte auf. Die Ergebnisse der Elektronenmikroskopie zeigten, dass der zelluläre Ödemindex in erwachsenen Del Nido-Herzen höher war als in erwachsenen Calafiore-Herzen, während die VS-Ratio ähnlich war.

Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit schließen, dass die Calafiore Kardioplegie einen besseren Schutz des Myokards vor ischämie-/reperusionsbedingten Schäden in isoliert perfundierten Herzen erwachsener Ratten bietet als die Del Nido Kardioplegie.

## Summary

Del Nido cardioplegia was developed in the 1990s specifically for use in paediatric cardiac surgery. As a modified depolarising solution, it attracted a great deal of attention, particularly due to its single-shot administration, and was also increasingly used in adult surgery over time with promising results.

We compared the cardioprotective capacity of Del Nido cardioplegia and warm Calafiore blood cardioplegia in an experimental setting during 90 min of ischaemia. 20 adult rat hearts were isolated and mounted on a blood-perfused, pressure-controlled Langendorff apparatus. After a stabilization period, cardiac arrest (90 min) was induced by the administration of either Calafiore or Del Nido solution. While Cala was given warm and intermittently, DNS was given as a cold single shot. During 90 min of reperfusion, cardiac function and metabolism were evaluated and biomarker levels were measured. After the end of the experiment, hearts were prepared for electronmicroscopic investigation.

Hearts exposed to Calafiore recovered faster during reperfusion compared with hearts administered Del Nido group and positive derived left ventricular pressure over time was better in Calafiore group than in the Del Nido group. Ischaemic contractures were seen in the Del Nido group starting after 30 min of ischaemia, whereas no rise in diastolic pressure was observed for the Calafiore group. Accordingly, lactate production was higher after Del Nido than after Calafiore at the beginning of reperfusion. Troponin I levels at the end of reperfusion were higher after Del Nido treatment. Electron microscopy showed that the cellular oedema index was higher in adult DNS hearts than in adult Cala hearts, whereas the VS ratio was similar.

In conclusion, Calafiore cardioplegia offers better myocardial protection from ischaemia/reperfusion-related damage in isolated perfused adult rat hearts than Del Nido cardioplegia.

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Myokardialer Energiestoffwechsel (in Anlehnung an Stanley & Chandler, 2002).....	- 2 -
Abbildung 2: Wichtige am zellulären Antioxidationsystem beteiligte Enzyme; SOD=Superoxiddismutase, CAT=Katalase, GPX=Glutathionperoxidase, GSH=Glutathion; GSSG=Glutathiondisulfid (in Anlehnung an Chazelas et al., 2021) .....	- 5 -
Abbildung 3: Elektrolytkonzentrationen innerhalb und außerhalb des Myozyten bei Ruhemembranpotential (in Anlehnung an Klabunde, 2012) .....	- 11 -
Abbildung 4: Kardiales Aktionspotential (in Anlehnung an Klabunde, 2012) .....	- 12 -
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Wirkweise des depolarisierten Arrestes auf zellulärer Ebene (in Anlehnung an Chambers & Hearse, 2001) .....	- 14 -
Abbildung 6: Schematische Darstellung der Wirkweise des polarisierten Arrestes auf zellulärer Ebene (in Anlehnung an Chambers & Hearse, 2001) .....	- 17 -
Abbildung 7: Schematische Darstellung der Wirkweise des Arrestes durch Hemmung des Kalziumeinstroms auf zellulärer Ebene (in Anlehnung an Chambers & Hearse, 2001) .....	- 19 -
Abbildung 8: Schematische Darstellung der Langendorff-Apparatur (Veitinger et al., 2021) .....	- 30 -
Abbildung 9: Versuchsablauf .....	- 32 -
Abbildung 10: Versuchsablauf Del Nido-Gruppe .....	- 35 -
Abbildung 11: Versuchsablauf Calafiore-Gruppe .....	- 36 -
Abbildung 12: Herzfrequenz [%] am RS und RE; Mittelwerte und Standardfehler; Mann-Whitney-U-Test; * $p \leq 0,05$ , ** $p \leq 0,001$ , *** $p \leq 0,0001$ .....	- 41 -
Abbildung 13: CF [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; Zweistichproben-T-Test; * $p \leq 0,05$ , ** $p \leq 0,001$ , *** $p \leq 0,0001$ .....	- 42 -
Abbildung 14: LVDP [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; RS: Mann-Whitney-U-Test; RE: Zweistichproben-T-Test; * $p \leq 0,05$ , ** $p \leq 0,001$ , *** $p \leq 0,0001$ .....	- 43 -
Abbildung 15: dLVP/dtmax [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; RS: Mann-Whitney-U-Test; RE: Zweistichproben-T-Test; * $p \leq 0,05$ , ** $p \leq 0,001$ , *** $p \leq 0,0001$ .....	- 44 -
Abbildung 16: dLVP/dtmin [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; RS: Mann-Whitney-U-Test; RE: Zweistichproben-T-Test; * $p \leq 0,05$ , ** $p \leq 0,001$ , *** $p \leq 0,0001$ .....	- 45 -
Abbildung 17: MVO <sub>2</sub> [%] am RS und RE; Mittelwert und Standardfehler; RS: Zweistichproben-T-Test; RE: Mann-Whitney-U-Test; * $p \leq 0,05$ , ** $p \leq 0,001$ , *** $p \leq 0,0001$ .....	- 46 -
Abbildung 18: MVLac [ $\mu\text{mol}/\text{min}$ ] am RS und RE; Mittelwerte und Standardabweichung; Mann-Whitney-U-Test; * $p \leq 0,05$ , ** $p \leq 0,001$ , *** $p \leq 0,0001$ .....	- 47 -
Abbildung 19: Troponin [%] am RS und RE; Mittelwerte und Standardfehler; Mann-Whitney-U-Test; * $p \leq 0,05$ , ** $p \leq 0,001$ , *** $p \leq 0,0001$ .....	- 48 -

Abbildung 20: CEI nach erfolgtem Langendorff-Versuch; Mittelwerte und Standardabweichung; Mann-Whitney-U-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$  ..... - 49 -

Abbildung 21: VSratio nach erfolgtem Langendorff-Versuch; Mittelwerte und Standardabweichung; Zweistichproben-T-Test; \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,001$ , \*\*\* $p \leq 0,0001$  ..... - 50 -

Abbildung 22: Übersicht repräsentativer elektronenmikroskopischer Aufnahmen der Ventrikel: Del Nido (A+B), Calafiore (C+D), Vergrößerung: 12930x. - 51 -

Abbildung 23: Software-Aufzeichnung zweier Versuche bei der Verwendung von Del Nido Kardioplegie..... - 52 -

Abbildung 24: Software-Aufzeichnung zweier Versuche bei Verwendung von Calafiore Kardioplegie ..... - 52 -

Abbildung 25: Schlüsselfaktoren der reperfusionsbedingten Schwellung der Myozyten (in Anlehnung an Garcia-Dorado et al., 2012) ..... - 59 -

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Absolute Baseline-Werte (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) .....	- 40 -
Tabelle 2: Herzfrequenz [%] am RS und RE (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) ...	- 41 -
Tabelle 3: Koronarfluss [%] am RS und RE (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung)...	- 42 -
Tabelle 4: LVDP [%] am RS und RE (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung) .....	- 43 -
Tabelle 5: dLVP/dtmax [%] am RS und RE (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung) ...	- 44 -
Tabelle 6: dLVP/dtmin [%] am RS und RE (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung) ....	- 45 -
Tabelle 7: MVO2 [%] am RS und RE (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).....	- 46 -
Tabelle 8: MVLac [ $\mu$ mol/min] am RS und RE (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) ..	- 47 -
Tabelle 9: Troponin-Werte [%] am RS und RE (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) -	- 48 -

## Literaturverzeichnis

Abbo, K. M., Dooris, M., Glazier, S., O'Neill, W. W., Byrd, D., Grines, C. L. & Safian, R. D. (1995). Features and outcome of no-reflow after percutaneous coronary intervention. *The American journal of cardiology*, 75(12), 778–782. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(99\)80410-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(99)80410-x)

Adams, J. E., Bodor, G. S., Dávila-Román, V. G., Delmez, J. A., Apple, F. S., Ladenson, J. H. & Jaffe, A. S. (1993). Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation*, 88(1), 101–106. <https://doi.org/10.1161/01.cir.88.1.101>

Algarni, K. D. (2020). Routine use of del Nido cardioplegia compared with blood cardioplegia in all types of adult cardiac surgery procedures. *Journal of cardiac surgery*, 35(12), 3340–3346. <https://doi.org/10.1111/jocs.15060>

Ali, J. M., Miles, L. F., Abu-Omar, Y., Galhardo, C. & Falter, F. (2018). Global Cardioplegia Practices: Results from the Global Cardiopulmonary Bypass Survey. *The Journal of Extra-corporeal Technology*, 50(2), 83–93.

Allen, D. G. & Orchard, C. H. (1987). Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circulation research*, 60(2), 153–168. <https://doi.org/10.1161/01.res.60.2.153>

Anrep, G. V., Barsoum, G. S., Salama, S. & Souidan, Z. (1944). Liberation of histamine during reactive hyperaemia and muscle contraction in man. *The Journal of physiology*, 103(3), 297–305. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1944.sp004078>

Anrep, G. V. & Saalfeld, E. von (1935). The blood flow through the skeletal muscle in relation to its contraction. *The Journal of physiology*, 85(3), 375–399. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1935.sp003326>

Ataka, K., Chen, D., McCully, J., Levitsky, S. & Feinberg, H. (1993). Magnesium cardioplegia prevents accumulation of cytosolic calcium in the ischemic myocardium. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 25(12), 1387–1390. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1993.1155>

Baig, M. A. R., Sher-I-Murtaza, M., Iqbal, A., Ahmad, M. Z., Farhan Ali Rizvi, H. M., Ahmed, N., Shair, A. & Ijaz, A. (2015). Clinical outcomes of intermittent antegrade warm versus cold blood cardioplegia. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 65(6), 593–596.

Barner, H. B. (1991). Blood cardioplegia: a review and comparison with crystalloid cardioplegia. *The Annals of thoracic surgery*, 52(6), 1354–1367. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(91\)90034-n](https://doi.org/10.1016/0003-4975(91)90034-n)

- Baroldi, G., Milam, J. D., Wukasch, D. C., Sandiford, F. M., Romagnoli, A. & Cooley, D. A. (1974). Myocardial cell damage in "stone hearts". *Journal of molecular and cellular cardiology*, 6(4), 395–399. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(74\)90080-7](https://doi.org/10.1016/0022-2828(74)90080-7)
- Belardinelli, L., Giles, W. R. & West, A. (1988). Ionic mechanisms of adenosine actions in pacemaker cells from rabbit heart. *The Journal of physiology*, 405, 615–633. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017352>
- Bell, G. I., Kayano, T., Buse, J. B., Burant, C. F., Takeda, J., Lin, D., Fukumoto, H. & Seino, S. (1990). Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes care*, 13(3), 198–208. <https://doi.org/10.2337/diacare.13.3.198>
- Bell, R. M., Mocanu, M. M. & Yellon, D. M. [Derek M.] (2011). Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 50(6), 940–950. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.02.018>
- Bertinchant, J. P., Larue, C., Pernel, I., Ledermann, B., Fabbro-Peray, P., Beck, L., Calzolari, C., Trinquier, S., Nigond, J. & Pau, B. (1996). Release kinetics of serum cardiac troponin I in ischemic myocardial injury. *Clinical biochemistry*, 29(6), 587–594. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(96\)00105-1](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(96)00105-1)
- Bertinchant, J. P., Polge, A., Robert, E., Sabbah, N., Fabbro-Peray, P., Poirey, S., Laprade, M., Pau, B., Juan, J. M., Bali, J. P., La Coussaye, J. E. de & Dautzat, M. (1999). Time-course of cardiac troponin I release from isolated perfused rat hearts during hypoxia/reoxygenation and ischemia/reperfusion. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 283(1-2), 43–56. [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(99\)00029-7](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(99)00029-7)
- Bhakri, K. P., Mulholland, J. & Punjabi, P. P. (2014). Understanding innovations in the evolving practice of blood and crystalloid cardioplegia. *Perfusion*, 29(6), 505–510. <https://doi.org/10.1177/0267659114524977>
- Bigelow, W. G. & Lindsay, W. K. (1950). Oxygen transport and utilization in dogs at low body temperatures. *The American journal of physiology*, 160(1), 125–137. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1949.160.1.125>
- Bigelow, W. G., Lindsay, W. K. & GREENWOOD, W. F. (1950). Hypothermia; its possible role in cardiac surgery: an investigation of factors governing survival in dogs at low body temperatures. *Annals of surgery*, 132(5), 849–866. <https://doi.org/10.1097/00000658-195011000-00001>
- Bilic, M. & Witzel, S. (2013). *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 2014* (265. Auflage). Walter de Gruyter GmbH.

- Bing, R. J., Siegel, A., Ungar, I. & Gilbert, M. (1954). Metabolism of the human heart. II. Studies on fat, ketone and amino acid metabolism. *The American journal of medicine*, 16(4), 504–515. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(54\)90365-4](https://doi.org/10.1016/0002-9343(54)90365-4)
- Bolli, R. (1990). Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation*, 82(3), 723–738. <https://doi.org/10.1161/01.cir.82.3.723>
- Bolling, S. F., Bove, E. L. & Gallagher, K. P. (1991). ATP precursor depletion and postischemic myocardial recovery. *The Journal of surgical research*, 50(6), 629–633. [https://doi.org/10.1016/0022-4804\(91\)90053-o](https://doi.org/10.1016/0022-4804(91)90053-o)
- Böning, A., Hagmüller, S., Heep, M., Rohrbach, S., Niemann, B. & Mühlfeld, C. (2014). Is warm or cold Calafiore blood cardioplegia better? Hemodynamic, metabolic, and electron microscopic differences. *The Thoracic and cardiovascular surgeon*, 62(8), 683–689. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1383722>
- Booth, E. A. & Lucchesi, B. R. [Benedict R.] (2008). Estrogen-mediated protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovascular toxicology*, 8(3), 101–113. <https://doi.org/10.1007/s12012-008-9022-2>
- Bove, E. L. & Stammers, A. H. (1986). Recovery of left ventricular function after hypothermic global ischemia. Age-related differences in the isolated working rabbit heart. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 91(1), 115–122.
- Braunwald, E. & Kloner, R. A. (1985). Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *The Journal of clinical investigation*, 76(5), 1713–1719. <https://doi.org/10.1172/JCI112160>
- Brown, P. S., Holland, F. W., Parenteau, G. L. & Clark, R. E. (1991). Magnesium ion is beneficial in hypothermic crystalloid cardioplegia. *The Annals of thoracic surgery*, 51(3), 359-66; discussion 367. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(91\)90845-h](https://doi.org/10.1016/0003-4975(91)90845-h)
- Buckberg, G. D. (1979). A proposed "solution" to the cardioplegic controversy. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 77(6), 803–815.
- Burt, J. M. (1982). Electrical and contractile consequences of Na<sup>+</sup> or Ca<sup>2+</sup> gradient reduction in cultured heart cells. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 14(2), 99–110. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(82\)90198-5](https://doi.org/10.1016/0022-2828(82)90198-5)
- Butterworth, J. F. (2013). Cardiovascular Drugs. In F. A. Hensley, D. E. Martin & G. P. Gravlee (Hrsg.), *A practical approach to cardiac anesthesia* (5. edition, S. 23–88). Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health.

Calafiore, A. M., Teodori, G., Di Giammarco, G., Bosco, G., Mezzetti, A., Lapenna, D. & Verna, A. M. (1994). Intermittent antegrade cardioplegia: warm blood vs cold crystalloid. A clinical study. *The Journal of cardiovascular surgery*, 35(6 Suppl 1), 179–184.

Calafiore, A. M., Teodori, G., Mezzetti, A., Bosco, G., Verna, A. M., Di Giammarco, G. & Lapenna, D. (1995). Intermittent antegrade warm blood cardioplegia. *The Annals of thoracic surgery*, 59(2), 398–402. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(94\)00843-v](https://doi.org/10.1016/0003-4975(94)00843-v)

Caputo, M., Bryan, A. J., Calafiore, A. M., Suleiman, M. S. & Angelini, G. D. (1998). Intermittent antegrade hyperkalaemic warm blood cardioplegia supplemented with magnesium prevents myocardial substrate derangement in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 14(6), 596–601. [https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(98\)00247-4](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(98)00247-4)

Chambers, D. J [D. J.] & Hearse, D. J [D. J.] (1999). Developments in cardioprotection: "polarized" arrest as an alternative to "depolarized" arrest. *The Annals of thoracic surgery*, 68(5), 1960–1966. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(99\)01020-6](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(99)01020-6)

Chambers, D. J [D. J.] & Hearse, D. J [D. J.]. (2001). Cardioplegia and Surgical Ischemia. In N. Sperelakis, Y. Kurachi, M. V. Cohen & A. Terzic (Hrsg.), *Heart Physiology and Pathophysiology* (S. 887–925). Academic Press San Diego.

Chambers, D. J [David J.] & Fallouh, H. B. (2010). Cardioplegia and cardiac surgery: pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion. *Pharmacology & therapeutics*, 127(1), 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.04.001>

Chang, C., Varghese, P. J., Downey, J. & Bloom, S. (1985). Magnesium deficiency and myocardial infarct size in the dog. *Journal of the American College of Cardiology*, 5(2 Pt 1), 280–289. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(85\)80048-6](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(85)80048-6)

Chapman, R. A., Rodrigo, G. C., Tunstall, J., Yates, R. J. & Busselen, P. (1984). Calcium paradox of the heart: a role for intracellular sodium ions. *The American journal of physiology*, 247(5 Pt 2), H874-9. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1984.247.5.H874>

Chapman, R. A. & Tunstall, J. (1987). The calcium paradox of the heart. *Progress in biophysics and molecular biology*, 50(2), 67–96. [https://doi.org/10.1016/0079-6107\(87\)90004-6](https://doi.org/10.1016/0079-6107(87)90004-6)

Chazelas, P., Steichen, C., Favreau, F., Trouillas, P., Hannaert, P., Thuillier, R., Giraud, S., Hauet, T. & Guillard, J. (2021). Oxidative Stress Evaluation in Ischemia

Reperfusion Models: Characteristics, Limits and Perspectives. *International journal of molecular sciences*, 22(5). <https://doi.org/10.3390/ijms22052366>

Chi, L., Uprichard, A. C. & Lucchesi, B. R. [B. R.] (1990). Profibrillatory actions of pinacidil in a conscious canine model of sudden coronary death. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 15(3), 452–464. <https://doi.org/10.1097/00005344-199003000-00016>

Chiu, R. C. & Bindon, W. (1987). Why are newborn hearts vulnerable to global ischemia? The lactate hypothesis. *Circulation*, 76(5 Pt 2), V146-9.

Chocron, S., Alwan, K., Toubin, G., Kantelip, B., Clement, F., Kantelip, J. P. & Etievent, J. P. (1996). Effects of myocardial ischemia on the release of cardiac troponin I in isolated rat hearts. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 112(2), 508–513. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(96\)70279-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(96)70279-9)

Cohen, N. M., Wise, R. M., Wechsler, A. S. & Damiano, R. J. (1993). Elective cardiac arrest with a hyperpolarizing adenosine triphosphate-sensitive potassium channel opener. A novel form of myocardial protection? *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 106(2), 317–328.

Comentale, G., Giordano, R. & Palma, G. (2018). Comparison of the different cardioplegic strategies in cardiac valves surgery: who wins the "arm-wrestling"? *Journal of thoracic disease*, 10(2), 714–717. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.01.133>

Crampin, E. J. & Smith, N. P. (2006). A dynamic model of excitation-contraction coupling during acidosis in cardiac ventricular myocytes. *Biophysical journal*, 90(9), 3074–3090. <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.070557>

Crawford, D. G., Fairchild, H. M. & Guyton, A. C. (1959). Oxygen lack as a possible cause of reactive hyperemia. *The American journal of physiology*, 197, 613–616. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1959.197.3.613>

Crome, R., Hearse, D. J. [D. J.] & Manning, A. S. (1983). Relationship between cellular cyclic AMP content and the incidence of ventricular fibrillation upon reperfusion after varying periods of regional ischaemia. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 15, 60. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(83\)90952-5](https://doi.org/10.1016/0022-2828(83)90952-5)

Cunningham, J. N., Adams, P. X., Knopp, E. A., Baumann, F. G., Snively, S. L., Gross, R. I., Nathan, I. M. & Spencer, F. C. (1979). Preservation of ATP, ultrastructure, and ventricular function after aortic cross-clamping and reperfusion. Clinical use of blood potassium cardioplegia. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 78(5), 708–720.

- del Nido, P. J. [P. J.], Wilson, G. J., Mickle, D. A., Bush, B. G., Rebeyka, I. M., Klement, P., Harding, R. & Tait, G. A. (1985). The role of cardioplegic solution buffering in myocardial protection. A biochemical and histopathological assessment. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 89(5), 689–699.
- Dennis, S. C., Gevers, W. & Opie, L. H. [L. H.] (1991). Protons in ischemia: where do they come from; where do they go to? *Journal of molecular and cellular cardiology*, 23(9), 1077–1086. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(91\)91642-5](https://doi.org/10.1016/0022-2828(91)91642-5)
- Dennis, S. C., Yellon, D. M. [D. M.], Frasch, F., Anderson, G. J. & Hearse, D. J. [D. J.] (1983). The effects of ischemia on metabolism and reperfusion arrhythmias. *International journal of cardiology*, 2(5-6), 461–478. [https://doi.org/10.1016/0167-5273\(83\)90147-x](https://doi.org/10.1016/0167-5273(83)90147-x)
- Depre, C., Vanoverschelde, J. L. & Taegtmeyer, H. (1999). Glucose for the heart. *Circulation*, 99(4), 578–588. <https://doi.org/10.1161/01.cir.99.4.578>
- Desai, K. V., Laine, G. A., Stewart, R. H. & Cox, C. S., Jr. (2008). Mechanics of the left ventricular myocardial interstitium: effects of acute and chronic myocardial edema. *The American journal of physiology*, 2428–2434. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00860.2007>
- Detwiler, P. W., Nicolosi, A. C., Weng, Z. C. & Spotnitz, H. M. (1994). Effects of perfusion-induced edema on diastolic stress-strain relations in intact swine papillary muscle. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 108(3), 467–476.
- Dhalla, N. S., Alto, L. E. & Singal, P. K. (1983). Role of Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchange in the development of cardiac abnormalities due to calcium paradox. *European heart journal*, 4 Suppl H, 51–56. [https://doi.org/10.1093/eurheartj/4.suppl\\_h.51](https://doi.org/10.1093/eurheartj/4.suppl_h.51)
- Dhein, S., Mohr, F. W. & Delmar, M. (2005). *Practical Methods in Cardiovascular Research*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/b137833>
- DiBona, D. R. & Powell, W. J. (1980). Quantitative correlation between cell swelling and necrosis in myocardial ischemia in dogs. *Circulation research*, 47(5), 653–665. <https://doi.org/10.1161/01.res.47.5.653>
- Dobson, G. P. & Jones, M. W. (2004). Adenosine and lidocaine: a new concept in nondepolarizing surgical myocardial arrest, protection, and preservation. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 127(3), 794–805. [https://doi.org/10.1016/s0022-5223\(03\)01192-9](https://doi.org/10.1016/s0022-5223(03)01192-9)
- Doenst, T., Borger, M. A., Weisel, R. D., Yau, T. M., Maganti, M. & Rao, V [Vivek] (2008). Relation between aortic cross-clamp time and mortality--not as straightforward as expected. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European*

*Association for Cardio-thoracic Surgery*, 33(4), 660–665.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2008.01.001>

Dorweiler, B., Pruefer, D., Andradi, T. B., Maksan, S. M., Schmiedt, W., Neufang, A. & Vahl, C. F. (2007). Ischemia-Reperfusion Injury : Pathophysiology and Clinical Implications. *European journal of trauma and emergency surgery : official publication of the European Trauma Society*, 33(6), 600–612. <https://doi.org/10.1007/s00068-007-7152-z>

Drasner, K. (2012). Local Anesthetics. In B. G. Katzung, S. B. Masters & A. J. Trevor (Hrsg.), *Lange medical book. Basic & clinical pharmacology* (12th ed., S. 449–464). McGraw-Hill Medical; McGraw-Hill [distributor].

Duncker, D. J. & Bache, R. J. (2008). Regulation of coronary blood flow during exercise. *Physiological reviews*, 88(3), 1009–1086. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2006>

Ellis, H. (2017). The early days of surgery for cardiac injuries. *Journal of perioperative practice*, 27(11), 268. <https://doi.org/10.1177/175045891702701106>

Ernster, L. (1988). Biochemistry of reoxygenation injury. *Critical care medicine*, 16(10), 947–953. <https://doi.org/10.1097/00003246-198810000-00005>

Fiore, A. C., Naunheim, K. S., Taub, J., Braun, P., McBride, L. R., Pennington, D. G., Kaiser, G. C., Willman, V. L. & Barner, H. B. (1990). Myocardial preservation using lidocaine blood cardioplegia. *The Annals of thoracic surgery*, 50(5), 771–775. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(90\)90683-w](https://doi.org/10.1016/0003-4975(90)90683-w)

Fish, F. A., Prakash, C. & Roden, D. M. (1990). Suppression of repolarization-related arrhythmias in vitro and in vivo by low-dose potassium channel activators. *Circulation*, 82(4), 1362–1369. <https://doi.org/10.1161/01.cir.82.4.1362>

Fleckenstein, A. & Fleckenstein-Grün, G. (1988). Mechanism of action of calcium antagonists in heart and vascular smooth muscle. *European heart journal*, 9 Suppl H, 95–99. [https://doi.org/10.1093/eurheartj/9.suppl\\_h.95](https://doi.org/10.1093/eurheartj/9.suppl_h.95)

Follette, D. M., Mulder, D. G., Maloney, J. V. & Buckberg, G. D. (1978). Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion or intermittent ischemia. Experimental and clinical study. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 76(5), 604–619.

Franke, U. F. W., Korsch, S., Wittwer, T., Albes, J. M., Wippermann, J., Kaluza, M., Rahmanian, P. B. & Wahlers, T. (2003). Intermittent antegrade warm myocardial protection compared to intermittent cold blood cardioplegia in elective coronary surgery-  
-do we have to change? *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of*

*the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 23(3), 341–346.  
[https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(02\)00828-x](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(02)00828-x)

Garcia-Dorado, D., Andres-Villarreal, M. & Ruiz-Meana, M. (2012). Myocardial edema: a translational view. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 931–939.  
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.01.010>

Gibbon, J. H. (1978). The development of the heart-lung apparatus. *American journal of surgery*, 135(5), 608–619. [https://doi.org/10.1016/0002-9610\(78\)90119-8](https://doi.org/10.1016/0002-9610(78)90119-8)

Goldberg, S., Greenspon, A. J., Urban, P. L., Muza, B., Berger, B., Walinsky, P. & Maroko, P. R. (1983). Reperfusion arrhythmia: a marker of restoration of antegrade flow during intracoronary thrombolysis for acute myocardial infarction. *American heart journal*, 105(1), 26–32. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(83\)90274-0](https://doi.org/10.1016/0002-8703(83)90274-0)

Goodwin, G. W., Ahmad, F., Doenst, T. & Taegtmeyer, H. (1998). Energy provision from glycogen, glucose, and fatty acids on adrenergic stimulation of isolated working rat hearts. *The American journal of physiology*, 274(4), H1239-47.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1998.274.4.H1239>

Gorjipour, F [Farhad], Dehaki, M. G [Maziar Gholampour], Totonchi, Z., Hajimiresmaiel, S. J., Azarfarin, R., Pazoki-Toroudi, H., Mahdavi, M., Korbi, M., Dehaki, M. G [Mahyar Gholampour], Soltani, B. & Gorjipour, F [Fazel] (2017). Inflammatory cytokine response and cardiac troponin I changes in cardiopulmonary bypass using two cardioplegia solutions; del Nido and modified St. Thomas': a randomized controlled trial. *Perfusion*, 32(5), 394–402.  
<https://doi.org/10.1177/0267659117691119>

Govindapillai, A., Hancock Friesen, C. & O'Blenes, S. B. (2016). Protecting the aged heart during cardiac surgery: single-dose del Nido cardioplegia is superior to multi-dose del Nido cardioplegia in isolated rat hearts. *Perfusion*, 31(2), 135–142.  
<https://doi.org/10.1177/0267659115588633>

Govindapillai, A., Hua, R., Rose, R., Friesen, C. H. & O'Blenes, S. B. (2013). Protecting the aged heart during cardiac surgery: use of del Nido cardioplegia provides superior functional recovery in isolated hearts. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 146(4), 940–948. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2013.05.032>

Greenberg, J. J., Edmunds, L. H. & Brown, R. B. (1960). Myocardial metabolism and postarrest function in the cold and chemically arrested heart. *Surgery*, 48, 31–42.

- Grice, W. N., Konishi, T. & Apstein, C. S. (1987). Resistance of neonatal myocardium to injury during normothermic and hypothermic ischemic arrest and reperfusion. *Circulation*, 76(5 Pt 2), V150-5.
- Grover, G. J., Newburger, J., Sleph, P. G., Dzwonczyk, S., Taylor, S. C., Ahmed, S. Z. & Atwal, K. S. (1991). Cardioprotective effects of the potassium channel opener cromakalim: stereoselectivity and effects on myocardial adenine nucleotides. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 257(1), 156–162.
- Grover, G. J., Sleph, P. G. & Dzwonczyk, S. (1990). Pharmacologic profile of cromakalim in the treatment of myocardial ischemia in isolated rat hearts and anesthetized dogs. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 16(6), 853–864. <https://doi.org/10.1097/00005344-199012000-00001>
- Guajardo Salinas, G. E., Nutt, R. & Rodriguez-Araujo, G. (2017). Del Nido cardioplegia in low risk adults undergoing first time coronary artery bypass surgery. *Perfusion*, 32(1), 68–73. <https://doi.org/10.1177/0267659116661051>
- Guim, G. S., Wah Hoon, C. G., Lim, C. A., Chay-Nancy, H. S., Li Ler, A. A., Lim, Q. X., Jaafar, N. B., Lim, C., Sazzad, F. & Kofidis, T. (2020). Use of del Nido Cardioplegia for Adult Heart Surgery: How Long Is Not Too Long? *The Journal of Extra-corporeal Technology*, 52(4), 272–278. <https://doi.org/10.1182/ject-2000025>
- Guru, V., Omura, J., Alghamdi, A. A., Weisel, R. & Fremes, S. E. (2006). Is blood superior to crystalloid cardioplegia? A meta-analysis of randomized clinical trials. *Circulation*, 114(1 Suppl), 1331-8. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.001644>
- Gutierrez, J. A. & Theodorou, A. A. (2021). Oxygen Delivery and Oxygen Consumption in Pediatric Critical Care. In S. E. Lucking, F. A. Maffei, R. F. Tamburro & A. Zaritsky (Hrsg.), *Pediatric Critical Care: Text and Study Guide* (2nd ed. 2021, S. 19–38). Springer International Publishing; Imprint Springer. [https://doi.org/10.1007/978-0-85729-923-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-0-85729-923-9_2)
- Habertheuer, A., Kocher, A., Laufer, G., Andreas, M., Szeto, W. Y., Petzelbauer, P., Ehrlich, M. & Wiedemann, D. (2014). Cardioprotection: a review of current practice in global ischemia and future translational perspective. *BioMed research international*, 2014, 325725. <https://doi.org/10.1155/2014/325725>
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *The Biochemical journal*, 219(1), 1–14. <https://doi.org/10.1042/bj2190001>

- Harlan, B. J., Starr, A. & Harwin, F. M. (1996). Myocardial Preservation. In B. J. Harlan (Hrsg.), *Illustrated Handbook of Cardiac Surgery* (S. 31–48). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2324-5\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2324-5_5)
- Haverkamp, W., Borggrefe, M. & Breithardt, G. (1995). Electrophysiologic effects of potassium channel openers. *Cardiovascular drugs and therapy*, 9 Suppl 2, 195–202. <https://doi.org/10.1007/BF00878466>
- Hearse, D. J [D. J.] (1983). Cardioplegia. *Postgraduate medical journal*, 59 Suppl 2, 11–24.
- Hearse, D. J [D. J.], Garlick, P. B. & Humphrey, S. M. (1977). Ischemic contracture of the myocardium: mechanisms and prevention. *The American journal of cardiology*, 39(7), 986–993. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(77\)80212-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(77)80212-9)
- Hearse, D. J [D. J.], O'Brien, K. & Braimbridge, M. V. (1981). Protection of the myocardium during ischemic arrest. Dose-response curves for procaine and lignocaine in cardioplegic solutions. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 81(6), 873–879.
- Hearse, D. J [D. J.], Stewart, D. A. & Braimbridge, M. V. (1976a). Cellular protection during myocardial ischemia: the development and characterization of a procedure for the induction of reversible ischemic arrest. *Circulation*, 54(2), 193–202. <https://doi.org/10.1161/01.cir.54.2.193>
- Hearse, D. J [D. J.], Stewart, D. A. & Braimbridge, M. V. (1976b). Myocardial protection during bypass and arrest. A possible hazard with lactate-containing infusates. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 72(6), 880–884.
- Hearse, D. J [D. J.], Stewart, D. A. & Braimbridge, M. V. (1978a). Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. Possible deleterious effects of glucose and mannitol in coronary infusates. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 76(1), 16–23.
- Hearse, D. J [D. J.], Stewart, D. A. & Braimbridge, M. V. (1978b). Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. The importance of magnesium in cardioplegic infusates. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 75(6), 877–885.
- Henderson, A. H., Parmley, W. W. & Sonnenblick, E. H. (1971). The series elasticity of heart muscle during hypoxia. *Cardiovascular Research*, 5(1), 10–14. <https://doi.org/10.1093/cvr/5.1.10>
- Heyndrickx, G. R., Millard, R. W., McRitchie, R. J., Maroko, P. R. & Vatner, S. F. (1975). Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary

artery occlusion in conscious dogs. *The Journal of clinical investigation*, 56(4), 978–985.  
<https://doi.org/10.1172/JCI108178>

Hinder, R. A. & Stein, H. J. (1991). Oxygen-derived free radicals. *Archives of surgery (Chicago, Ill. : 1960)*, 126(1), 104–105.  
<https://doi.org/10.1001/archsurg.1991.01410250112019>

Hosoda, H., Sunamori, M. & Suzuki, A. (1994). Effect of pinacidil on rat hearts undergoing hypothermic cardioplegia. *The Annals of thoracic surgery*, 58(6), 1631–1636.  
[https://doi.org/10.1016/0003-4975\(94\)91649-7](https://doi.org/10.1016/0003-4975(94)91649-7)

Hove, M. ten, Jansen, M. A., Nederhoff, M. G. J. & van Echteld, C. J. A. (2007). Combined blockade of the Na<sup>+</sup> channel and the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger virtually prevents ischemic Na<sup>+</sup> overload in rat hearts. *Molecular and cellular biochemistry*, 297(1-2), 101–110. <https://doi.org/10.1007/s11010-006-9334-0>

Humphrey, S. M., Gavin, J. B. & Herdson, P. B. (1980). The relationship of ischemic contracture of vascular reperfusion in the isolated rat heart. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 12(12), 1397–1406. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(80\)90124-8](https://doi.org/10.1016/0022-2828(80)90124-8)

Huxley, A. F. & Niedergerke, R. (1954). Structural changes in muscle during contraction; interference microscopy of living muscle fibres. *Nature*, 173(4412), 971–973.  
<https://doi.org/10.1038/173971a0>

Huxley, H. & Hanson, J. (1954). Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature*, 173(4412), 973–976.  
<https://doi.org/10.1038/173973a0>

Ibrahim, M. F., Venn, G. E., Young, C. P. & Chambers, D. J. [D. J.] (1999). A clinical comparative study between crystalloid and blood-based St Thomas' hospital cardioplegic solution. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 15(1), 75–83. [https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(98\)00287-5](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(98)00287-5)

Iseri, L. T. & French, J. H. (1984). Magnesium: nature's physiologic calcium blocker. *American heart journal*, 108(1), 188–193. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(84\)90572-6](https://doi.org/10.1016/0002-8703(84)90572-6)

Jennings, R. B., Hawkins, H. K., Lowe, J. E., Hill, M. L., Klotman, S. & Reimer, K. A. (1978). Relation between high energy phosphate and lethal injury in myocardial ischemia in the dog. *The American journal of pathology*, 92(1), 187–214.

Jennings, R. B., Sommers, H. M., Kaltenbach, J. P. & West, J. J. (1964). Electrolyte Alterations in Acute Myocardial Ischemic Injury. *Circulation research*. Vorab-Onlinepublikation. <https://doi.org/10.1161/01.res.14.3.260>

Johnson, M. H. (2017). *Essential Reproduction* (8th ed.). *Essentials*. John Wiley & Sons Incorporated.

<https://livivo.idm.oclc.org/login?url=https://ebookcentral.proquest.com/lib/zbmed-ebooks/detail.action?docID=5219467>

Jong, J. W. de, van der Meer, P., van Loon, H., Owen, P. & Opie, L. H [L. H.] (1990). Adenosine as adjunct to potassium cardioplegia: effect on function, energy metabolism, and electrophysiology. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 100(3), 445–454.

Jynge, P. (1980). Protection of the ischemic myocardium calcium-free cardioplegic infusates and the additive effects of coronary infusion and ischemia in the induction of the calcium paradox. *The Thoracic and cardiovascular surgeon*, 28(5), 303–309. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1022100>

Jynge, P., Hearse, D. J [D. J.] & Braimbridge, M. V. (1977). Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. A possible hazard with calcium-free cardioplegic infusates. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 73(6), 848–855.

Jynge, P., Hearse, D. J [D. J.] & Braimbridge, M. V. (1978). Protection of the ischemic myocardium. Volume-duration relationships and the efficacy of myocardial infusates. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 76(5), 698–705.

Karmazyn, M. & Moffat, M. P. (1993). Role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange in cardiac physiology and pathophysiology: mediation of myocardial reperfusion injury by the pH paradox. *Cardiovascular Research*, 27(6), 915–924. <https://doi.org/10.1093/cvr/27.6.915>

Katz, A. M. & Tada, M. (1972). The "stone heart": a challenge to the biochemist. *The American journal of cardiology*, 29(4), 578–580. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(72\)90455-9](https://doi.org/10.1016/0002-9149(72)90455-9)

Katz, L. N. & Feinberg, H. (1958). The relation of cardiac effort to myocardial oxygen consumption and coronary flow. *Circulation research*, 6(5), 656–669. <https://doi.org/10.1161/01.res.6.5.656>

Kerbey, A. L., Randle, P. J., Cooper, R. H., Whitehouse, S., Pask, H. T. & Denton, R. M. (1976). Regulation of pyruvate dehydrogenase in rat heart. Mechanism of regulation of proportions of dephosphorylated and phosphorylated enzyme by oxidation of fatty acids and ketone bodies and of effects of diabetes: role of coenzyme A, acetyl-coenzyme A

and reduced and oxidized nicotinamide-adenine dinucleotide. *The Biochemical journal*, 154(2), 327–348. <https://doi.org/10.1042/bj1540327>

Kerr, M. J., Wilson, R. & Shanks, R. G. (1985). Suppression of ventricular arrhythmias after coronary artery ligation by pinacidil, a vasodilator drug. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 7(5), 875–883. <https://doi.org/10.1097/00005344-198509000-00010>

Kester, N. C., Richardson, A. W. & Green, H. D. (1952). Effect of controlled hydrogen-ion concentration on peripheral vascular tone and blood flow in innervated hind leg of the dog. *The American journal of physiology*, 169(3), 678–687. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1952.169.3.678>

Klabunde, R. E. (2012). *Cardiovascular physiology concepts* (2. ed.). Wolters Kluwer.

Kloner, R. A., Ganote, C. E. & Jennings, R. B. (1974). The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *The Journal of clinical investigation*, 54(6), 1496–1508. <https://doi.org/10.1172/JCI107898>

Kurkji, H. S., Buckberg, G., Maloney, J. V. & DeLand, E. C. (1973). Prevention of ischemic myocardial contracture (stone heart). *Surgical forum*, 24, 146–148.

Kuserli, Y., Turkyilmaz, S., Turkyilmaz, G. & Kavala, A. A. (2020). Comparison of del Nido Cardioplegia and Blood Cardioplegia in Aortic Root Surgery. *The heart surgery forum*, 23(3), E376-E384. <https://doi.org/10.1532/hcf.2861>

Lagranha, C. J., Deschamps, A., Aponte, A., Steenbergen, C [Charles] & Murphy, E [Elizabeth] (2010). Sex differences in the phosphorylation of mitochondrial proteins result in reduced production of reactive oxygen species and cardioprotection in females. *Circulation research*, 106(11), 1681–1691. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.213645>

Laine, G. A. & Allen, S. J. (1991). Left ventricular myocardial edema. Lymph flow, interstitial fibrosis, and cardiac function. *Circulation research*, 68(6), 1713–1721. <https://doi.org/10.1161/01.res.68.6.1713>

Lawton, J. S., Sepic, J. D., Allen, C. T., Hsia, P. W. & Damiano, R. J. (1996). Myocardial protection with potassium-channel openers is as effective as St. Thomas' solution in the rabbit heart. *The Annals of thoracic surgery*, 62(1), 31-8; discussion 38-9. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(96\)00260-3](https://doi.org/10.1016/0003-4975(96)00260-3)

Ledingham, S. J., Braimbridge, M. V. & Hearse, D. J [D. J.] (1987). The St. Thomas' Hospital cardioplegic solution. A comparison of the efficacy of two formulations. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 93(2), 240–246.

- Lenoir, M., Bouhout, I., Jelassi, A., Cartier, R., Poirier, N., El-Hamamsy, I. & Demers, P. (2021). Del Nido cardioplegia versus blood cardioplegia in adult aortic root surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 162(2), 514-522.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2020.01.022>
- Lichtenstein, S. V., Ashe, K. A., el Dalati, H., Cusimano, R. J., Panos, A. & Slutsky, A. S. (1991). Warm heart surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 101(2), 269–274.
- Lopaschuk, G. D [G. D.], Spafford, M. A. & Marsh, D. R. (1991). Glycolysis is predominant source of myocardial ATP production immediately after birth. *The American journal of physiology*, 261(6 Pt 2), H1698-705. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1991.261.6.H1698>
- Lopaschuk, G. D [Gary D.], Ussher, J. R., Folmes, C. D. L., Jaswal, J. S. & Stanley, W. C [William C.] (2010). Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiological reviews*, 90(1), 207–258. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2009>
- López, J. R., Jahangir, R., Jahangir, A., Shen, W. K. & Terzic, A. (1996). Potassium channel openers prevent potassium-induced calcium loading of cardiac cells: possible implications in cardioplegia. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 112(3), 820–831. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(96\)70070-3](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(96)70070-3)
- Lucas, S. K., Elmer, E. B., Flaherty, J. T., Prodromos, C. C., Bulkley, B. H., Gott, B. L. & Gardner, T. J. (1980). Effect of multiple-dose potassium cardioplegia on myocardial ischemia, return of ventricular function, and ultrastructural preservation. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 80(1), 102–110.
- Magovern, J. A., Pae, W. E., Miller, C. A. & Waldhausen, J. A [J. A.] (1989). The mature and immature heart: response to normothermic ischemia. *The Journal of surgical research*, 46(4), 366–369. [https://doi.org/10.1016/0022-4804\(89\)90203-5](https://doi.org/10.1016/0022-4804(89)90203-5)
- Manning, A. S. & Hearse, D. J [D. J.] (1984). Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 16(6), 497–518. [https://doi.org/10.1016/s0022-2828\(84\)80638-0](https://doi.org/10.1016/s0022-2828(84)80638-0)
- Marzouk, M., Lafreniere-Bessi, V., Dionne, S., Simard, S., Pigeon, C., Dagenais, F., Ad, N. & Jacques, F. (2020). Transitioning to Del Nido cardioplegia for all-comers: the next switching gear? *BMC cardiovascular disorders*, 20(1), 215. <https://doi.org/10.1186/s12872-020-01506-0>

- Matte, G. S. & del Nido, P. J [Pedro J.] (2012). History and Use of del Nido Cardioplegia Solution at Boston Children's Hospital. *The Journal of Extra-corporeal Technology*, 44(3), 98–103.
- McCord, J. M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England journal of medicine*, 312(3), 159–163. <https://doi.org/10.1056/NEJM198501173120305>
- McDonald, T. F., Hunter, E. G. & MacLeod, D. P. (1971). Adenosinetriphosphate partition in cardiac muscle with respect to transmembrane electrical activity. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 322(2), 95–108. <https://doi.org/10.1007/BF00592292>
- Melrose, D. G., Dreyer, B., Bentall, H. H. & Baker, J. B. (1955). Elective cardiac arrest. *Lancet (London, England)*, 269(6879), 21–22. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(55\)93381-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(55)93381-x)
- Menasché, P., Kural, S., Fauchet, M., Lavergne, A., Commin, P., Bercot, M., Touchot, B., Georgiopoulos, G. & Piwnica, A. (1982). Retrograde coronary sinus perfusion: a safe alternative for ensuring cardioplegic delivery in aortic valve surgery. *The Annals of thoracic surgery*, 34(6), 647–658. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(10\)60904-6](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(10)60904-6)
- Mezzetti, A., Calafiore, A. M., Lapenna, D., Deslauriers, R., Tian, G., Salerno, T. A., Verna, A. M., Bosco, G., Pierdomenico, S. D. & Caccurullo, F. (1995). Intermittent antegrade warm cardioplegia reduces oxidative stress and improves metabolism of the ischemic-reperfused human myocardium. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 109(4), 787–795. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(95\)70362-4](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(95)70362-4)
- Mishra, P., Jadhav, R. B., Mohapatra, C. K. R., Khandekar, J., Raut, C., Ammannaya, G. K., Seth, H. S., Singh, J. & Shah, V. (2016). Comparison of del Nido cardioplegia and St. Thomas Hospital solution - two types of cardioplegia in adult cardiac surgery. *Kardiochirurgia i torakochirurgia polska = Polish journal of cardio-thoracic surgery*, 13(4), 295–299. <https://doi.org/10.5114/kitp.2016.64867>
- Misra, S., Srinivasan, A., Jena, S. S. & Bellapukonda, S. (2021). Myocardial Protection in Adult Cardiac Surgery With del Nido Versus Blood Cardioplegia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Heart, lung & circulation*, 30(5), 642–655. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2020.10.016>
- Moens, A. L., Claeys, M. J., Timmermans, J. P. & Vrints, C. J. (2005). Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process.

*International journal of cardiology*, 100(2), 179–190.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2004.04.013>

Mühlfeld, C., Nyengaard, J. R. & Mayhew, T. M. (2010). A review of state-of-the-art stereology for better quantitative 3D morphology in cardiac research. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology*, 19(2), 65–82.  
<https://doi.org/10.1016/j.carpath.2008.10.015>

Murry, C. E., Jennings, R. B. & Reimer, K. A. (1986). Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 74(5), 1124–1136.  
<https://doi.org/10.1161/01.cir.74.5.1124>

Nakayama, K., Fan, Z., Marumo, F., Sawanobori, T. & Hiraoka, M. (1991). Action of nicorandil on ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel in guinea-pig ventricular myocytes. *British journal of pharmacology*, 103(3), 1641–1648. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1991.tb09841.x>

Neely, J. R. & Morgan, H. E. (1974). Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle. *Annual review of physiology*, 36, 413–459. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.36.030174.002213>

Newsholme, E. A., Randle, P. J. & Manchester, K. L. (1962). Inhibition of the phosphofructokinase reaction in perfused rat heart by respiration of ketone bodies, fatty acids and pyruvate. *Nature*, 193, 270–271. <https://doi.org/10.1038/193270a0>

Nichols, C. G. & Lederer, W. J. (1991). Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system. *The American journal of physiology*, 261(6 Pt 2), H1675-86. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1991.261.6.H1675>

Nicolini, F., Beghi, C., Muscari, C., Agostinelli, A., Maria Budillon, A., Spaggiari, I. & Gherli, T. (2003). Myocardial protection in adult cardiac surgery: current options and future challenges. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 24(6), 986–993.  
[https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(03\)00475-5](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(03)00475-5)

O'Blenes, S. B., Friesen, C. H., Ali, A. & Howlett, S. (2011). Protecting the aged heart during cardiac surgery: the potential benefits of del Nido cardioplegia. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 141(3), 762–770.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2010.06.004>

O'Donnell, C., Wang, H., Tran, P., Miller, S., Shuttleworth, P. & Boyd, J. H. (2019). Utilization of Del Nido Cardioplegia in Adult Coronary Artery Bypass Grafting - A

- Retrospective Analysis. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*, 83(2), 342–346. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-18-0780>
- Opie, L. H [Lionel H.]. (2004). *Heart physiology: From cell to circulation* (4. ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Orchard, C. H. & Kentish, J. C. (1990). Effects of changes of pH on the contractile function of cardiac muscle. *The American journal of physiology*, 258(6 Pt 1), C967-81. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1990.258.6.C967>
- Ostadal, B., Netuka, I., Maly, J., Besik, J. & Ostadalova, I. (2009). Gender differences in cardiac ischemic injury and protection--experimental aspects. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, 234(9), 1011–1019. <https://doi.org/10.3181/0812-MR-362>
- Ota, T., Yerebakan, H., Neely, R. C., Mongero, L., George, I., Takayama, H., Williams, M. R., Naka, Y., Argenziano, M., Bacha, E., Smith, C. R. & Stewart, A. S. (2016). Short-term outcomes in adult cardiac surgery in the use of del Nido cardioplegia solution. *Perfusion*, 31(1), 27–33. <https://doi.org/10.1177/0267659115599453>
- Pasque, M. K. & Wechsler, A. S. (1984). Metabolic intervention to affect myocardial recovery following ischemia. *Annals of surgery*, 200(1), 1–12. <https://doi.org/10.1097/00000658-198407000-00001>
- Patel, B., Kloner, R. A., Przyklenk, K. & Braunwald, E. (1988). Postischemic myocardial "stunning": a clinically relevant phenomenon. *Annals of internal medicine*, 108(4), 626–628. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-108-4-626>
- Piper, H. M., Balsler, C., Ladilov, Y. V., Schäfer, M., Siegmund, B., Ruiz-Meana, M. & Garcia-Dorado, D. (1996). The role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange in ischemia-reperfusion. *Basic research in cardiology*, 91(3), 191–202. <https://doi.org/10.1007/BF00788905>
- Piper, H. M. & García-Dorado, D. (1999). Prime causes of rapid cardiomyocyte death during reperfusion. *The Annals of thoracic surgery*, 68(5), 1913–1919. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(99\)01025-5](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(99)01025-5)
- Pogátsa, G., Dubecz, E. & Gábor, G. y. (1976). The role of myocardial edema in the left ventricular diastolic stiffness. *Basic research in cardiology*, 71(3), 263–269. <https://doi.org/10.1007/BF01906451>
- Pouard, P. & Bojan, M. (2013). Neonatal cardiopulmonary bypass. *Seminars in thoracic and cardiovascular surgery. Pediatric cardiac surgery annual*, 16(1), 59–61. <https://doi.org/10.1053/j.pcsu.2013.01.010>

- Powell, W. J., DiBona, D. R., Flores, J. & Leaf, A. (1976). The protective effect of hyperosmotic mannitol in myocardial ischemia and necrosis. *Circulation*, 54(4), 603–615. <https://doi.org/10.1161/01.cir.54.4.603>
- Qiu, Y., Galiñanes, M. & Hearse, D. J [David J.] (1995). Protective effect of nicorandil as an additive to the solution for continuous warm cardioplegia. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 110(4), 1063–1072. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(05\)80175-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(05)80175-8)
- Randle, P. J. (1986). Fuel selection in animals. *Biochemical Society transactions*, 14(5), 799–806. <https://doi.org/10.1042/bst0140799>
- Rao, V [V.], Ivanov, J [J.], Weisel, R. D [R. D.], Cohen, G., Borger, M. A. & Mickle, D. A. (2001). Lactate release during reperfusion predicts low cardiac output syndrome after coronary bypass surgery. *The Annals of thoracic surgery*, 71(6), 1925–1930. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(01\)02634-0](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(01)02634-0)
- Rich, T. L., Langer, G. A. & Klassen, M. G. (1988). Two components of coupling calcium in single ventricular cell of rabbits and rats. *The American journal of physiology*, 254(5 Pt 2), H937-46. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1988.254.5.H937>
- Ringer, S. (1883). A further Contribution regarding the influence of the different Constituents of the Blood on the Contraction of the Heart. *The Journal of physiology*, 4(1), 29-42.3. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1883.sp000120>
- Robertson, D. W. & Steinberg, M. I. (1990). Potassium channel modulators: scientific applications and therapeutic promise. *Journal of medicinal chemistry*, 33(6), 1529–1541. <https://doi.org/10.1021/jm00168a001>
- Robinson, L. A., Braimbridge, M. V. & Hearse, D. J [D. J.] (1984). Creatine phosphate: an additive myocardial protective and antiarrhythmic agent in cardioplegia. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 87(2), 190–200.
- Rovetto, M. J., Lamberton, W. F. & Neely, J. R. (1975). Mechanisms of glycolytic inhibition in ischemic rat hearts. *Circulation research*, 37(6), 742–751. <https://doi.org/10.1161/01.res.37.6.742>
- Rubboli, A., Sobotka, P. A. & Euler, D. E. (1994). Effect of acute edema on left ventricular function and coronary vascular resistance in the isolated rat heart. *The American journal of physiology*, 267(3 Pt 2), H1054-61. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.267.3.H1054>
- Sá, M. P. B. O., Rueda, F. G., Ferraz, P. E., Chalegre, S. T., Vasconcelos, F. P. & Lima, R. C. (2012). Is there any difference between blood and crystalloid cardioplegia

for myocardial protection during cardiac surgery? A meta-analysis of 5576 patients from 36 randomized trials. *Perfusion*, 27(6), 535–546. <https://doi.org/10.1177/0267659112453754>

Salis, S., Mazzanti, V. V., Merli, G., Salvi, L., Tedesco, C. C., Veglia, F. & Sisillo, E. (2008). Cardiopulmonary bypass duration is an independent predictor of morbidity and mortality after cardiac surgery. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*, 22(6), 814–822. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2008.08.004>

Sanetra, K., Pawlak, I. & Cisowski, M. (2018). Del Nido cardioplegia - what is the current evidence? *Kardiochirurgia i torakochirurgia polska = Polish journal of cardio-thoracic surgery*, 15(2), 114–118. <https://doi.org/10.5114/kitp.2018.76477>

Schlüter, K. D., Schwartz, P., Siegmund, B. & Piper, H. M. (1991). Prevention of the oxygen paradox in hypoxic-reoxygenated hearts. *The American journal of physiology*, 261(2 Pt 2), H416-23. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1991.261.2.H416>

Schrader, J., Rubio, R. & Berne, R. M. (1975). Inhibition of slow action potentials of guinea pig atrial muscle by adenosine: a possible effect on Ca<sup>2+</sup> influx. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 7(6), 427–433. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(75\)90048-6](https://doi.org/10.1016/0022-2828(75)90048-6)

Schubert, T., Vetter, H., Owen, P., Reichart, B. & Opie, L. H [L. H.] (1989). Adenosine cardioplegia. Adenosine versus potassium cardioplegia: effects on cardiac arrest and postischemic recovery in the isolated rat heart. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 98(6), 1057–1065.

Shattock, M. J., Hearse, D. J [D. J.] & Fry, C. H. (1987). The ionic basis of the anti-ischemic and anti-arrhythmic properties of magnesium in the heart. *Journal of the American College of Nutrition*, 6(1), 27–33. <https://doi.org/10.1080/07315724.1987.10720162>

Shen, A. C. & Jennings, R. B. (1972). Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury. *The American journal of pathology*, 67(3), 417–440.

Shine, K. I. & Douglas, A. M. (1974). Magnesium effects on ionic exchange and mechanical function in rat ventricle. *The American journal of physiology*, 227(2), 317–324. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1974.227.2.317>

Siegmund, B., Kliez, T., Schwartz, P. & Piper, H. M. (1991). Temporary contractile blockade prevents hypercontracture in anoxic-reoxygenated cardiomyocytes. *The American journal of physiology*, 260(2 Pt 2), H426-35. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1991.260.2.H426>

- Siegmund, B., Ladilov, Y. V. & Piper, H. M. (1994). Importance of sodium for recovery of calcium control in reoxygenated cardiomyocytes. *The American journal of physiology*, 267(2 Pt 2), H506-13. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.267.2.H506>
- Siegmund, B., Schlüter, K. D. & Piper, H. M. (1993). Calcium and the oxygen paradox. *Cardiovascular Research*, 27(10), 1778–1783. <https://doi.org/10.1093/cvr/27.10.1778>
- Siegmund, B., Zude, R. & Piper, H. M. (1992). Recovery of anoxic-reoxygenated cardiomyocytes from severe Ca<sup>2+</sup> overload. *The American journal of physiology*, 263(4 Pt 2), H1262-9. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1992.263.4.H1262>
- Skrzypiec-Spring, M., Grotthus, B., Szelag, A. & Schulz, R. (2007). Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 55(2), 113–126. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2006.05.006>
- Sperelakis, N., SUNAGAWA, M. & NAKAMURA, M. (2001). Electrogenesis of the Resting Potential. In N. Sperelakis, Y. Kurachi, M. V. Cohen & A. Terzic (Hrsg.), *Heart Physiology and Pathophysiology* (S. 175–198). Academic Press San Diego. <https://doi.org/10.1016/B978-012656975-9/50011-0>
- Stanley, W. C [W. C.], Lopaschuk, G. D [G. D.], Hall, J. L. & McCormack, J. G. (1997). Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions. Potential for pharmacological interventions. *Cardiovascular Research*, 33(2), 243–257. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(96\)00245-3](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(96)00245-3)
- Stanley, W. C [William C.] (2004). Myocardial energy metabolism during ischemia and the mechanisms of metabolic therapies. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*, 9 Suppl 1, S31-45. <https://doi.org/10.1177/107424840400900104>
- Stanley, W. C [William C.] & Chandler, M. P. (2002). Energy metabolism in the normal and failing heart: potential for therapeutic interventions. *Heart failure reviews*, 7(2), 115–130. <https://doi.org/10.1023/a:1015320423577>
- Steenbergen, C [C.], Murphy, E [E.], Watts, J. A. & London, R. E. (1990). Correlation between cytosolic free calcium, contracture, ATP, and irreversible ischemic injury in perfused rat heart. *Circulation research*, 66(1), 135–146. <https://doi.org/10.1161/01.res.66.1.135>
- Stewart, J. R., Blackwell, W. H., Crute, S. L., Loughlin, V., Greenfield, L. J. & Hess, M. L. (1983). Inhibition of surgically induced ischemia/reperfusion injury by oxygen free radical scavengers. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 86(2), 262–272.

- Suga, H. (1990). Ventricular energetics. *Physiological reviews*, 70(2), 247–277. <https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.2.247>
- Sun, D., Nguyen, N., DeGrado, T. R., Schwaiger, M. & Brosius, F. C. (1994). Ischemia induces translocation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 to the plasma membrane of cardiac myocytes. *Circulation*, 89(2), 793–798. <https://doi.org/10.1161/01.cir.89.2.793>
- Sutherland, F. J. & Hearse, D. J. [D. J.] (2000). The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacological research*, 41(6), 613–627. <https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0653>
- Taegtmeyer, H. (1994). Energy metabolism of the heart: from basic concepts to clinical applications. *Current problems in cardiology*, 19(2), 59–113. [https://doi.org/10.1016/0146-2806\(94\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0146-2806(94)90008-6)
- Tani, M. (1990). Mechanisms of Ca<sup>2+</sup> overload in reperfused ischemic myocardium. *Annual review of physiology*, 52, 543–559. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.52.030190.002551>
- Teoh, K. H., Christakis, G. T., Weisel, R. D., Femes, S. E., G. Mickle, D. A., Romaschin, A. D., Harding, R. S., Ivanov, J. [Joan], Madonik, M. M., Ross, I. M., McLaughlin, P. R. & Baird, R. J. (1986). Accelerated myocardial metabolic recovery with terminal warm blood cardioplegia. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 91(6), 888–895. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)35968-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)35968-9)
- Timek, T., Willekes, C., Hulme, O., Himelhoch, B., Nadeau, D., Borgman, A., Clousing, J., Kantén, D. & Wagner, J. (2016). Propensity Matched Analysis of del Nido Cardioplegia in Adult Coronary Artery Bypass Grafting: Initial Experience With 100 Consecutive Patients. *The Annals of thoracic surgery*, 101(6), 2237–2241. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2015.12.058>
- Tranum-Jensen, J., Janse, M. J., Fiolet, W. T., Krieger, W. J., D'Alnoncourt, C. N. & Durrer, D. (1981). Tissue osmolality, cell swelling, and reperfusion in acute regional myocardial ischemia in the isolated porcine heart. *Circulation research*, 364–381. <https://doi.org/10.1161/01.res.49.2.364>
- Tschanz, S. A., Burri, P. H. & Weibel, E. R. (2011). A simple tool for stereological assessment of digital images: the STEPanizer. *Journal of microscopy*, 243(1), 47–59. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2010.03481.x>

- Tyers, G. F., Todd, G. J., Niebauer, I. M., Manley, N. J. & Waldhausen, J. A [J. A.] (1975). The mechanism of myocardial damage following potassium citrate (Melrose) cardioplegia. *Surgery*, 78(1), 45–53.
- Ucak, H. A. & Uncu, H. (2019). Comparison of Del Nido and Intermittent Warm Blood Cardioplegia in Coronary Artery Bypass Grafting Surgery. *Annals of thoracic and cardiovascular surgery : official journal of the Association of Thoracic and Cardiovascular Surgeons of Asia*, 25(1), 39–45. <https://doi.org/10.5761/atcs.oa.18-00087>
- Valooran, G. J., Nair, S. K., Chandrasekharan, K., Simon, R. & Dominic, C. (2016). del Nido cardioplegia in adult cardiac surgery - scopes and concerns. *Perfusion*, 31(1), 6–14. <https://doi.org/10.1177/0267659115608936>
- Veitinger, A. B., Komguem, A., Assling-Simon, L., Heep, M., Schipke, J., Mühlfeld, C., Niemann, B., Grieshaber, P., Boengler, K. & Böning, A. (2021). Cardioprotection with esmolol-based cardioplegia for non-infarcted and infarcted rat hearts. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 60(4), 908–917. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezab117>
- Vouhé, P. R., Hélias, J. & Grondin, C. M. (1980). Myocardial protection through cold cardioplegia using diltiazem, a calcium channel blocker. *The Annals of thoracic surgery*, 30(4), 342–348. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(10\)61272-6](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(10)61272-6)
- Waldhausen, J. A [John A.], Braunwald, N. S., Bloodwell, R. D., Cornell, W. P. & Morrow, A. G. (1960). LEFT VENTRICULAR FUNCTION FOLLOWING ELECTIVE CARDIAC ARREST. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 39(6), 799–807. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(20\)31961-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(20)31961-9)
- Weisse, A. B. (2011). Cardiac surgery: a century of progress. *Texas Heart Institute journal*, 38(5), 486–490.
- Werner, O. J., Sohns, C., Popov, A. F., Haskamp, J. & Schmitto, J. D. (2012). Ludwig Rehn (1849-1930): the German surgeon who performed the worldwide first successful cardiac operation. *Journal of medical biography*, 20(1), 32–34. <https://doi.org/10.1258/jmb.2011.011002>
- Werns, S. W., Shea, M. J. & Lucchesi, B. R [B. R.] (1986). Free radicals and myocardial injury: pharmacologic implications. *Circulation*, 74(1), 1–5. <https://doi.org/10.1161/01.cir.74.1.1>
- Willerson, J. T., Powell, W. J., Guiney, T. E., Stark, J. J., Sanders, C. A. & Leaf, A. (1972). Improvement in myocardial function and coronary blood flow in ischemic

myocardium after mannitol. *The Journal of clinical investigation*, 51(12), 2989–2998. <https://doi.org/10.1172/JCI107126>

Wittnich, C., Peniston, C., Ianuzzo, D., Abel, J. G. & Salerno, T. A. (1987). Relative vulnerability of neonatal and adult hearts to ischemic injury. *Circulation*, 76(5 Pt 2), V156-60.

Woods, W. T., Urthaler, F. & James, T. N. (1981). Electrical Activity in canine sinus node cells during arrest produced by acetylcholine. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 13(4), 249–257. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(81\)90278-9](https://doi.org/10.1016/0022-2828(81)90278-9)

Xue, H.-M., Hou, H.-T., Sun, W.-T., Wang, S.-F., Guo, S., Yang, Q. & He, G.-W. (2022). del Nido cardioplegia better preserves cardiac diastolic function but histidine-tryptophan-ketoglutarate is better for endothelial function. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 61(6), 1368–1378. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezab559>

Yamamoto, F., Manning, A. S., Braimbridge, M. V. & Hearse, D. J. [D. J.] (1983a). Calcium antagonists and myocardial protection: diltiazem during cardioplegic arrest. *The Thoracic and cardiovascular surgeon*, 31(6), 369–373. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1022021>

Yamamoto, F., Manning, A. S., Braimbridge, M. V. & Hearse, D. J. [D. J.] (1983b). Cardioplegia and slow calcium-channel blockers. Studies with verapamil. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 86(2), 252–261.

Yamamoto, F., Manning, A. S., Braimbridge, M. V. & Hearse, D. J. [D. J.] (1983c). Nifedipine and cardioplegia: rat heart studies with the St Thomas' cardioplegic solution. *Cardiovascular Research*, 17(12), 719–727. <https://doi.org/10.1093/cvr/17.12.719>

Yerebakan, H., Sorabella, R. A., Najjar, M., Castillero, E., Mongero, L., Beck, J., Hossain, M., Takayama, H., Williams, M. R., Naka, Y., Argenziano, M., Bacha, E., Smith, C. R. & George, I. (2014). Del Nido Cardioplegia can be safely administered in high-risk coronary artery bypass grafting surgery after acute myocardial infarction: a propensity matched comparison. *Journal of cardiothoracic surgery*, 9, 141. <https://doi.org/10.1186/s13019-014-0141-5>

Zeng, J., He, W., Qu, Z., Tang, Y., Zhou, Q. & Zhang, B. (2014). Cold blood versus crystalloid cardioplegia for myocardial protection in adult cardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled studies. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*, 28(3), 674–681. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2013.06.005>

Zhao, Z.-Q., Corvera, J. S., Halkos, M. E., Kerendi, F., Wang, N.-P., Guyton, R. A. & Vinten-Johansen, J. (2003). Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 285(2), H579-88. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>

Zimmerman, A. N. & Hülsmann, W. C. (1966). Paradoxical influence of calcium ions on the permeability of the cell membranes of the isolated rat heart. *Nature*, 211(5049), 646–647. <https://doi.org/10.1038/211646a0>

Zweier, J. L., Flaherty, J. T. & Weisfeldt, M. L. (1987). Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(5), 1404–1407. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.5.1404>

## Publikationsverzeichnis

Böning A, Menzebach S, Heep M, et al. Calafiore cardioplegia offers better myocardial protection in adult and senescent rat hearts than Del Nido cardioplegia. *Perfusion*. Published online September 22, 2023. doi:10.1177/02676591231204290

## 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 die Grundsätze 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 Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. 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 all jenen meinen aufrichtigen Dank aussprechen, die mich während des Prozesses der Erstellung meiner Dissertation auf vielfältige Weise unterstützt und begleitet haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Andreas Böning für die wertvolle Unterstützung und hervorragende Betreuung. Ihre fachliche Expertise und ihr Engagement haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau Martina Heep für die angenehme Zusammenarbeit im Labor bedanken. Ihre Hilfsbereitschaft und Fachkompetenz waren für den Erfolg meiner Arbeit von entscheidender Bedeutung.

Zuletzt spreche ich meine persönliche Dankbarkeit meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, Großeltern und meiner Schwester sowie meinen Freunden für ihren Rückhalt und ihre grenzenlose Unterstützung aus.