

**Esmolol-basierte Kardioplegie als Alternative zu hyperkaliämischer  
Blutkardioplegie bei akuter Myokardischämie im Rattenmodell**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Veitinger, Alexander Bernd

aus Heilbronn

Gießen 2024

**Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Klinik für Herz-, Kinderherz und Gefäßchirurgie

Gutachter: Prof. Dr. Böning, Andreas

Gutachter: PD Dr. Troidl, Christian

Tag der Disputation: 08.03.2024

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>I</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>1</b>	<b>Atherosklerose und Koronare Herzkrankheit (KHK)</b> .....	<b>1</b>
1.1	Relevanz der Erkrankung .....	1
1.2	Risikofaktoren .....	1
1.3	Pathophysiologie der koronaren Herzkrankheit .....	2
<b>2</b>	<b>Myokardischämie</b> .....	<b>4</b>
2.1	Chronische Myokardischämie .....	4
2.2	Akute Myokardischämie .....	5
2.3	Pathophysiologie der akuten Myokardischämie .....	6
2.4	Einfluss von Myokardischämie auf die Herzerregung .....	7
2.5	Einfluss von Myokardischämie auf den Energiestoffwechsel .....	12
<b>3</b>	<b>Therapie der Myokardischämie</b> .....	<b>14</b>
3.1	Koronararterien-Bypass (CABG) .....	15
3.2	Grundzüge der koronaren Bypassoperation .....	16
3.3	Extrakorporale Zirkulation .....	17
<b>4</b>	<b>Ischämie-Reperfusionsschaden</b> .....	<b>18</b>
<b>5</b>	<b>Intraoperative Myokardprotektion</b> .....	<b>20</b>
5.1	Prinzip der Kardioplegie .....	21
5.2	Optimierungspotential der Kardioplegie .....	24
<b>6</b>	<b>Esmolol-basierte Kardioplegie</b> .....	<b>25</b>
6.1	Einfluss von Esmolol und Kalium auf das Aktionspotenzial .....	26
<b>7</b>	<b>Problemstellung</b> .....	<b>30</b>
<b>II</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>32</b>
<b>8</b>	<b>Chemikalien</b> .....	<b>32</b>
<b>9</b>	<b>Pharmaka</b> .....	<b>33</b>
<b>10</b>	<b>Geräte</b> .....	<b>34</b>
<b>11</b>	<b>Versuchstiere</b> .....	<b>37</b>
<b>12</b>	<b>Krebs-Henseleit Pufferlösung</b> .....	<b>37</b>

12.1	Herstellung der Krebs-Henseleit Pufferlösung .....	37
12.2	Zusammensetzung der Krebs-Henseleit Pufferlösung.....	38
<b>13</b>	<b>Erythrozytenperfusat .....</b>	<b>38</b>
13.1	Herstellung des Erythrozytenkonzentrats.....	38
13.2	Herstellung des Erythrozytenperfusats .....	39
13.3	Zusammensetzung des Erythrozytenperfusats .....	39
<b>14</b>	<b>Organperfusion im Langendorff Apparat.....</b>	<b>40</b>
14.1	Aufbau des Langendorff Apparats.....	40
14.2	Organpräparation .....	42
14.3	Organperfusion.....	42
<b>15</b>	<b>Versuchsgruppen .....</b>	<b>43</b>
15.1	Herstellung der Kardioplegielösungen .....	44
15.2	Protokoll der Versuche .....	49
<b>16</b>	<b>Blutgasanalyse der Kardioplegielösungen.....</b>	<b>52</b>
<b>17</b>	<b>Messparameter der isolierten Organperfusion.....</b>	<b>52</b>
17.1	Hämodynamische Messparameter.....	52
17.2	Metabolische Messparameter .....	53
<b>18</b>	<b>Infarktfärbung der Herzschnitte .....</b>	<b>54</b>
18.1	Herstellung der Herzschnitte .....	54
18.2	Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung (TTC-Färbung).....	54
18.3	Protokoll der Infarktfärbung .....	55
18.4	Mikroskopische Dokumentation der Infarktfläche.....	56
18.5	Planimetrie der Infarktfläche.....	57
<b>19</b>	<b>Elektronenmikroskopie des Myokards.....</b>	<b>58</b>
19.1	Immersionsfixierung der Organe .....	58
19.2	Elektronenmikroskopische Dokumentation der Ultradünnschnitte .....	59
19.3	Auswertung der Elektronenmikroskopie.....	59
<b>20</b>	<b>Statistische Auswertung.....</b>	<b>60</b>

<b>III</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>63</b>
<b>21</b>	<b>Versuchsparameter</b>	<b>63</b>
21.1	Herzschnitte	64
<b>22</b>	<b>Hämodynamische Parameter</b>	<b>65</b>
22.1	Linksventrikulärer systolischer Druck (LVP <sub>sys</sub> )	65
22.2	Linksventrikulärer diastolischer Druck (LVP <sub>dia</sub> )	69
22.3	Linksventrikulärer Spitzendruck (LVP <sub>dP</sub> )	72
22.4	Kontraktionsgeschwindigkeit (dLVP/dt max)	75
22.5	Relaxationsgeschwindigkeit (dLVP/dt min)	78
22.6	Koronarfluss (CF)	81
22.7	Herzfrequenz (HF)	85
22.8	Zusammenfassung der hämodynamischen Parameter	88
<b>23</b>	<b>Metabolische Parameter</b>	<b>89</b>
23.1	Myokardialer Sauerstoffverbrauch (MVO <sub>2</sub> )	89
23.2	Myokardiale Laktatproduktion (M <sub>l</sub> Lac)	92
23.3	Zusammenfassung der metabolischen Parameter	94
<b>24</b>	<b>Infarktfärbung</b>	<b>95</b>
24.1	Infarktanteil des Myokardinfarkts an der Gesamtfläche	95
24.2	Infarktanteil des Myokardinfarkts an dem Gesamtgewicht	96
24.3	Zusammenfassung der Infarktfärbung	97
<b>25</b>	<b>Elektronenmikroskopie</b>	<b>98</b>
25.1	Qualitative Auswertung	99
25.2	Quantitative Auswertung	100
<b>IV</b>	<b>Diskussion</b>	<b>102</b>
<b>26</b>	<b>Zusammenfassung der Hauptergebnisse</b>	<b>102</b>
<b>27</b>	<b>Diskussion der Methoden</b>	<b>104</b>
27.1	Einfluss der Rahmenbedingungen	104
27.2	Einfluss der Versuchstiere	104
27.3	Einfluss des Blutperfusats	106

27.4	Einfluss der Kardioplegielösung .....	107
27.5	Einfluss der Messparameter .....	110
<b>28</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse .....</b>	<b>115</b>
28.1	Effekte der Betablockergabe .....	115
28.2	Übersicht Experimentelle Studien mit Esmolol als Kardioplegielösung .....	118
28.3	Hämodynamische Parameter .....	121
28.4	Metabolische Parameter .....	123
28.5	Infarktgröße .....	124
28.6	Myokardstruktur .....	125
28.7	Einfluss der Kardioplegiemethode .....	126
<b>29</b>	<b>Limitationen der Arbeit .....</b>	<b>129</b>
<b>30</b>	<b>Schlussfolgerungen der Arbeit .....</b>	<b>131</b>
30.1	Ausblick .....	132
<b>V</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>134</b>
31	Visuelle Zusammenfassung .....	135
<b>VI</b>	<b>Summary .....</b>	<b>136</b>
<b>VII</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>138</b>
<b>VIII</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>143</b>
<b>IX</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>149</b>
<b>X</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>153</b>
<b>XI</b>	<b>Publikationsverzeichnis .....</b>	<b>181</b>
<b>XII</b>	<b>Kongressbeiträge .....</b>	<b>182</b>
<b>XIII</b>	<b>Erklärung zur Dissertation .....</b>	<b>183</b>
<b>XIV</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>184</b>

# I EINLEITUNG

## 1 ATHEROSKLEROSE UND KORONARE HERZKRANKHEIT (KHK)

### 1.1 RELEVANZ DER ERKRANKUNG

Die Koronare Herzkrankheit (KHK) und ihre Manifestationen sind mit einem Anteil von 16,0 Prozent (%) und 8,8 Millionen (Mio.) Toten die häufigste Todesursache weltweit (World Health Organization (WHO) 2020). In Deutschland starben im Jahr 2020 121.011 Personen an der chronisch ischämischen Herzkrankheit und dem akuten Myokardinfarkt, was einem Anteil von 35,5 % an den Sterbefällen durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen und einem Anteil von 12,3 % an den gesamten Todesursachen entspricht (Statistisches Bundesamt (Destatis) 2021). Das ist jedoch keine neue Entwicklung. Schon seit über 15 Jahren führt die Koronare Herzkrankheit mit ihren Unterformen die Todesursachen weltweit an (World Health Organization (WHO) 2018).

Die KHK ist eine chronische Erkrankung bei der das Lumen der Koronararterien, die den Herzmuskel versorgen, abnimmt. Dies führt zu einem Missverhältnis aus Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im Myokard (Bundesärztekammer (BÄK) et al. 2019). Die Ursache für die Stenosierung der Koronargefäße ist in den meisten Fällen die Entstehung und Zunahme von atherosklerotischen Plaques im Rahmen einer Atherosklerose (Hansson 2005, Falk 2006). Diese bilden sich als Antwort auf oxidativen Stress (Harrison et al. 2003) und funktionelle Veränderungen des Endothels durch kardiovaskuläre Risikofaktoren. (Ross et al. 1977, Williams und Tabas 1995). Die Koronare Herzkrankheit lässt sich in drei Formen unterscheiden: das Akute Koronarsyndrom, das Chronische Koronarsyndrom und die asymptomatische KHK (Knuuti et al. 2020).

### 1.2 RISIKOFAKTOREN

Die wichtigsten Risikofaktoren für die Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen sind ungesunde Ernährung, Bewegungsmangel (Mayer-Davis et al. 1998), Tabakkonsum (Berenson et al. 1998, Howard et al. 1998) und der übermäßige Konsum von Alkohol (Kiechl et al. 1998, Fuchs et al. 2001). Diese Risikofaktoren führen je nach Individuum in unterschiedlichem Ausmaß zu einer arteriellen Hypertension (Berenson et al. 1998), einem gestörtem Kohlenhydratstoffwechsel mit peripherer Insulinresistenz (Mayer-Davis et al. 1998), einer Dyslipoproteinämie (Berenson et al. 1998), einer Hypercholesterinämie (Waters et al. 1995) und zu Adipositas mit erhöhtem Body-Mass-Index (BMI) (Epstein et al. 1989). Je länger diese Risikofaktoren über die Zeit bestehen bleiben (Berenson et al. 1998, Beckman et al. 2002), desto stärker wird dadurch die

Bildung von atherosklerotischen Plaques befeuert (Beckman et al. 2002, Harrison et al. 2003, Hansson 2005). Hinzu kommen psychosoziale Belastungen (Lynch et al. 1997), Infektionen (Laurila et al. 1997, Nicholson und Hajjar 1998) und unbeeinflussbare Faktoren wie genetische Prädisposition (Malek et al. 1999), Geschlecht (Han et al. 2008) und Alter (Berenson et al. 1998), die das Wachstum der Plaques weiter begünstigen (Berenson et al. 1998, World Health Organization (WHO) 2017). Dabei sind die jeweiligen Risikofaktoren nicht nur individuell betrachtet von Bedeutung, sondern es kommt zu einer gegenseitigen Verstärkung wenn sie über eine längere Zeit bestehen (Berenson et al. 1998).

### 1.3 *PATHOPHYSIOLOGIE DER KORONAREN HERZKRANKHEIT*

Atherosklerotische Plaques bestehen aus einer fibrösen Kappe, die sich in das Lumen der Gefäße vorwölbt und einem darunterliegenden extrazellulär befindlichen lipidreichen Kern (Ross und Glomset 1973). Der Vorgang der Entstehung dieser Plaques wird im Folgenden erläutert:

Zunächst kommt es zu einer Veränderung der Intima mit einer erhöhten endothelialen Durchlässigkeit (Williams und Tabas 1995), zur LDL-Akkumulation in den subintimalen Schichten der Gefäße durch eine erhöhte Cholesterinzufuhr (Ross und Harker 1976, Simionescu et al. 1986) und infolgedessen zu einer konsekutiven Entzündung der Gefäßwand (Ross 1999). Das LDL wird mittels Oxidation durch Enzyme in zytotoxische, proinflammatorische, chemotaktische und proatherogene Partikel umgewandelt (Hansson 2005, Falk 2006). Im Blut befindliche Monozyten werden durch die Entzündung zu den LDL-Ansammlungen gelockt (Napoli et al. 1997, Moore und Tabas 2011, Libby 2012). Hierbei spielt zum einen die Überexpression von Leukozytenadhäsionsmolekülen eine Rolle, andererseits kommt es zur Ausschüttung von Leukozytenmigrationsfaktoren, zu denen auch oxidiertes LDL selbst gehört (Glass und Witztum 2001). Durch den Monozytenkolonien-stimulierender Faktor (M-CSF), welcher von dem entzündeten Gewebe produziert wird, differenzieren sich Monozyten zu Makrophagen, die in die Plaque eindringen (Hansson 2005) und mithilfe ihrer Scavenger-Rezeptoren oxidiertes LDL via Phagozytose in sich aufnehmen (Naito et al. 1992, Yamada et al. 1998). Da die Aufnahme von oxidiertem LDL über Scavenger Rezeptoren keiner Hemmung unterliegt, wird Cholesterin in Form von Cholesterinestertropfen gespeichert, sobald mehr Cholesterin in die Zellen aufgenommen wurde, als über den Membrantransport mittels HDL wieder ausgeschieden werden kann (Glass und Witztum 2001). Durch die eingelagerten Cholesterinestertropfen erscheinen die Makrophagen schaumig und werden als sogenannte „Schaumzellen“ bezeichnet (Goldstein und Brown 1977, Brown und

Goldstein 1983). Man findet diese cholesteringefüllten Makrophagen vor allem in den makroskopisch sichtbaren Bereichen der „fatty streaks“ in atherosklerotisch veränderten Gefäßen (Gerrity 1981).

Induziert durch Wachstumsfaktoren und Interleukine, die von aktivierten Makrophagen und T-Zellen freigesetzt werden (Hansson 2005) beginnen Myofibroblasten der Media zu proliferieren und in die Intima einzuwandern. Dort transformieren sie sich zu Fibrozyten, die eine kollagenreiche Matrix produzieren und so die fibröse Kappe des atherosklerotischen Plaques bilden (Falk 2006). Außerdem nehmen die Myofibroblasten, wenn auch in geringeren Maße, oxidiertes LDL auf und bilden so weitere Schaumzellen (Ross und Glomset 1973). Durch exzessive LDL-Phagozytose, verschiedene Zell-Zell Interaktionen und Zytokine kommt es zu vermehrter Apoptose und Nekrotisierung der eingewanderter Makrophagen und Myofibroblasten (Falk 2006). Der Inhalt der zugrunde gegangenen Zellen entleert sich in das lokale Gewebe, kann nicht abgebaut werden (Tabas 2010) und bildet den lipidreichen nekrotischen Kern der Plaque, der die Entzündung weiter unterhält (Glass und Witztum 2001, Moore und Tabas 2011).

Im weiteren Verlauf kommt es durch die chronische Entzündung, einen veränderten Scherstress (Malek et al. 1999) und den abnormalen Stoffwechsellzustand (Beckman et al. 2002) in den betroffenen Bereichen der Koronararterien zusätzlich zu einer endothelialen Dysfunktion, mit Folgen für die Vasomotorik, die Ausschüttung von Botenstoffen und die Hämostase. In physiologischem Endothel scheint die Wirkung von vasodilatatorischen Mediatoren zu überwiegen. Bei einer Dysfunktion kommt es zu einer verringerten Produktion und Freisetzung von Vasodilatoren und die endothelialen Zellen produzieren vermehrt Vasokonstriktoren (Epstein et al. 1992).

Durch diese Einschränkung der Endothelfunktion wird weniger Stickstoffmonoxid (NO) aus dem Endothel freigesetzt und es kommt zu einer verringerten endothel-vermittelten Vasodilatation (Davignon und Ganz 2004). Daneben hat NO weitere wichtige Funktionen, die bei der Bildung von atherosklerotischen Plaques eine Rolle spielen. Es hemmt neben der Thrombozytenadhäsion und -aggregation, der Leukozytenadhäsion und -infiltration in die Gefäßwand und der Proliferation der Myofibroblasten, auch die Oxidation von LDL Cholesterin (Landmesser und Harrison 2001, Davignon und Ganz 2004). Infolgedessen kommt es durch eine vermehrte Leukozytenakkumulation zu einer Steigerung der Inflammation (Ross 1999).

Neben NO wird die Produktion und Freisetzung weiterer Vasodilatoren, wie Prostacyclin und Bradykinin eingeschränkt. Prostacyclin wirkt mit NO synergistisch und hemmt gleichzeitig die Thrombozytenaggregation. Bradykinin, erhöht zusätzlich zu seiner vasodilatatorischen Funktion die Ausschüttung von NO und Prostacyclin.

Außerdem erhöht Bradykinin die Produktion von gewebespezifischem Plasminogenaktivator (t-PA), einem wichtigen Enzym der Fibrinolyse (Davignon und Ganz 2004).

Durch die vermehrte Produktion von Angiotensin II und Endothelin in dysfunktionalen Gewebe (Lerman et al. 1995) kommt es neben einem erhöhten Tonus in den atherosklerotischen Koronararterien zu weiteren Effekten, die die Entstehung und Zunahme der atherosklerotischen Plaques begünstigen. Angiotensin II führt neben einer Zunahme der Oxidation (Sowers 2002, Harrison et al. 2003) zusammen mit Endothelin zu einer erhöhten Proliferation von Myofibroblasten (Davignon und Ganz 2004). Die beiden Vasokonstriktoren Angiotensin II und Endothelin, welche in großen Mengen von aktivierten Makrophagen und Myofibroblasten als Hauptkomponenten der Plaques produziert werden, unterhalten somit den Prozess der Atherosklerose weiter (Kinlay et al. 2001).

Durch die zunehmenden atherosklerotischen Veränderungen in den Koronargefäßen kommt es zu einer Stenosierung des Lumens der betroffenen Arterien, was wiederum Durchblutungsstörungen und Minderperfusion des Myokards bedingt.

## 2 MYOKARDISCHÄMIE

### 2.1 CHRONISCHE MYOKARDISCHÄMIE

Bei der chronischen Form der Myokardischämie kommt es zu einer dauerhaften Koronarinsuffizienz mit einer Diskrepanz zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf des Myokardgewebes. Besteht die Minderversorgung des Myokards über längere Zeit, so kommt es zur Bildung von Kollateralkreisläufen um den Koronarfluss in den betroffenen Regionen zu steigern und damit die ATP-Synthese zu verbessern. Andererseits besitzt das Herz die Fähigkeit, seinen ATP-Verbrauch über noch unbekannte Mechanismen zu reduzieren (Pape et al. 2014). Daraus resultiert dann ein erneutes Gleichgewicht zwischen ATP-Synthese und ATP-Verbrauch auf einem niedrigeren Level als dem Ausgangsniveau. Dieses Phänomen nennt man analog zum Winterschlaf von Tieren „Hibernation“ (Detry 1996, Pape et al. 2014).

Infolge der eingeschränkten Koronardurchblutung kommt es zu einer verminderten Kontraktionsfähigkeit des betroffenen Myokardanteils mit einer Verringerung des Schlagvolumens, einer erhöhten Volumenbelastung und einer enddiastolischen Druckerhöhung vor allem im linken Vorhof und Ventrikel (Knuuti et al. 2020). Durch die reduzierte linksventrikuläre Ejektionsfraktion kommt es konsekutiv zu einer Erweiterung der Herzkammern im Sinne einer ischämischen Kardiomyopathie. Die Folge sind die typischen Symptome einer Linksherzinsuffizienz mit Dyspnoe, eingeschränkter

Belastbarkeit durch das Vorwärtsversagen und Ödemen durch das Rückwärtsversagen. Daneben kann sich eine Minderversorgung von Kardiomyozyten in einem Angina-pectoris Anfall mit retrosternalen Schmerzen äußern. Häufig zeigt sich allerdings als Erstmanifestation der Koronaren Herzkrankheit ein Akutes Koronarsyndrom (Knuuti et al. 2020).

## 2.2 AKUTE MYOKARDISCHÄMIE

Unter dem Begriff Akutes Koronarsyndrom (ACS) wird die akute Minderversorgung des Myokardgewebes zusammengefasst. Je nach Thrombusgröße und prozentualem Anteil des verschlossenen Gefäßlumens resultiert die Minderversorgung in einer instabilen Angina pectoris oder einem akuten Myokardinfarkt (NSTEMI oder STEMI), der bis zum plötzlichen Herztod führen kann (Roffi et al. 2016, Ibanez et al. 2018).

Eine vorübergehende Unterbrechung der Koronardurchblutung führt in dem jeweiligen Bereich zu einer Abfolge von fortschreitenden meist schweren zellulären Veränderungen, die als ischämische Kaskade bezeichnet werden können (Nesto und Kowalchuk 1987). Falls die Ischämie nicht frühzeitig unterbrochen wird kommt es in der Folge zu einem unausweichlichen Zelltod und einer Gewebsnekrose. Die Veränderungen des Stoffwechsel und der Myokardfunktion beginnen bereits wenige Sekunden nach Beginn der Minderversorgung und werden mit fortschreitender Zeit zunehmend gravierender und im Endeffekt unumkehrbar (Pape et al. 2014).

Zu Beginn kommt es zu Änderung der Physiologie der Herzerregung mit Veränderung im Ablauf der elektrischen Herzaktion und elektromechanischen Kopplung, sowie zu Stoffwechselveränderungen der betroffenen Zellen mit Veränderungen des Energiestoffwechsels und der Laktatproduktion. Im nächsten Schritt kommt es zu Störungen der diastolischen Funktion mit einer verlangsamten ventrikulären Relaxation und einer verringerten linksventrikulärer Compliance. Im Anschluss daran zeigen sich Anomalien der systolischen Funktion, die durch lokale regionale Wandbewegungsstörungen, eine verminderte Myokardkontraktilität und einen erhöhten linksventrikulären enddiastolischen Druck gekennzeichnet sind und infolgedessen insgesamt zu einer Abnahme der Auswurfraction führen (Nesto und Kowalchuk 1987, Detry 1996). Als nächstes Phänomen kommt es zu einer ST-Veränderung im EKG. Die Angina pectoris, als klinische Manifestation der Myokardischämie, ist in der Regel das letzte Phänomen, welches auf eine schwere Ischämie in einer bestimmten Region des Myokards hinweist.

### 2.3 *PATHOPHYSIOLOGIE DER AKUTEN MYOKARDISCHÄMIE*

Häufig ist ein akuter Myokardinfarkt Folge einer plötzlichen Thrombose eines Koronargefäßes. Dem zugrunde liegen drei verschiedene Ursachen: akute Plaqueruptur, langsame Plaqueerosion und kalzifizierte Knoten. Die häufigste Ursache für eine Koronarthrombose ist die Ruptur der dünnen fibrösen Kappe einer vulnerablen Plaque (Falk 2006, Virmani et al. 2006). Durch die ausgeprägte Entzündung im Bereich der Plaque sezernieren Makrophagen proteolytische Enzyme (Hansson 2005, Falk 2006), die die fibröse Deckplatte der atherosklerotischen Plaque verändern und ungleichmäßig ausdünnen, wodurch die vorher stabile Plaque zu einer Plaque mit einer dünnen fibrösen Kappe (Thin-cap fibroatheroma = TCFA) umgewandelt wird (Moreno et al. 1994, Moore und Tabas 2011). Diese sogenannte vulnerable Plaque ist durch einen großen weichen Kern mit nekrotischem Material, welcher zu einer erhöhten Thrombogenität und Destabilisierung führt, und einer darüber liegenden dünnen fibrösen Deckplatte mit wenigen glatten Muskelzellen und extrazellulärer Matrix, aber vielen Makrophagen charakterisiert, woraus die geringere Stabilität der Kappe resultiert (Falk 2006). Durch die ausgeprägte Inflammation kommt es zudem zu einer Angiogenese aus den Vasa vasorum der Adventitia, die zu einer weiteren Extravasation von Zellen aus dem Blutkreislauf führt, die Entzündung begünstigt und zum Wachstum der Plaque beiträgt (Falk 2006). Bei der Plaqueruptur kommt es zum Kontakt von thrombogenen Material des nekrotischen Kerns mit den Thrombozyten im Gefäßlumen (Virmani et al. 2006). An dem freigesetzten Material setzt die Blutgerinnung durch Thrombozyten und von Makrophagen freigesetztem Gewebsthromboplastin ein (Nemerson 2002). Es entsteht ein wandständiger intraluminaler Thrombus, der je nach Ausmaß entweder zu einer Vergrößerung der Plaque oder zu einem akuten Gefäßverschluss mit folgender Minderversorgung des Gewebes im Versorgungsgebiet der Arterie führt (Davies und Thomas 1985, Falk 2006).

Von einer myokardialen Ischämie sind aufgrund der Blutversorgung von epi- nach endokardial zuerst die Zellen betroffen, die am weitesten innen im Herzen liegen („letzte Wiese“). Bereits nach 15-30 Minuten ist subendokardiales Myokard von Apoptose betroffen. Um diesen irreversibel geschädigten Bereich herum liegt Myokard, welches nur reversibel geschädigt ist und sich bei einer Wiederherstellung des Blutflusses regenerieren und überleben kann. Wird der koronare Blutfluss nach einer kurzen Unterbrechung wiederhergestellt, sind diese Änderungen reversibel. Wenn der Blutfluss nicht innerhalb des Zeitraums von ca. 1 Stunde wiederhergestellt wird, kommt es in Abhängigkeit vom Gefäß welches vom Verschluss betroffen ist, dem Vorhandensein eines kollateralen Blutflusses und daraus folgend der Größe des gefährdeten

Myokardareals zu einem sich über die komplette Breite des Myokards erstreckenden transmuralen Infarkt und konsekutiv einer irreversiblen Myokardnekrose (Detry 1996). Aus diesem Grund muss diese Situation schnellstmöglich behoben werden, um die im Folgenden beschriebenen reversiblen zellulären Veränderungen umzukehren und einen möglichst großen Anteil des Myokardgewebes zu erhalten (Falk 2006, Pape et al. 2014).

## 2.4 EINFLUSS VON MYOKARDISCHÄMIE AUF DIE HERZERREGUNG

### 2.4.1 Elektrische Herzaktion und elektromechanische Kopplung

Zunächst einmal bedarf es zwischen den Aktionspotentialen an Mechanismen zur Aufrechterhaltung der physiologischen Ionengradienten. Die Konzentrationsverschiebungen für  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ , die während und nach einem Aktionspotential auftreten, sind im Vergleich zu den extra- und intrazellulären Ionenkonzentrationen minimal. Dennoch müssen über einen längeren Zeitraum betrachtet die Ionenkonzentrationen durch die dauerhafte Aktivität der  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase aufrechterhalten werden. Das Ruhemembranpotential eines Kardiomyozyten wird vorwiegend über den Kaliumgradienten aufrechterhalten und liegt bei etwa -85 mV, also nahe dem Kaliumgleichgewichtspotential (Opie 2004).

Während der Erregungsphase depolarisiert das Membranpotential und löst das Aktionspotential der Myokardzelle aus. Das Aktionspotential ist dabei das Ergebnis einer Reihe von Ionenströmen, die durch die Aktivierung verschiedener Ionenkanäle und Pumpen in der Zellmembran erzeugt werden (Hoth und Wischmeyer 2012a).

Da die Zellen der Arbeitsmuskulatur sehr schnell depolarisieren, ist ihr Aktionspotential durch einen initialen steilen Anstieg gekennzeichnet. Anschließend folgt ein ausgeprägtes Plateau von 200 - 400 ms, für dessen die Entstehung die zeitliche Abfolge folgender drei Ionenströme durch spannungsaktivierte Ionenkanäle eine wichtige Rolle spielen (Hoth und Wischmeyer 2012a):

- schneller  $\text{Na}^+$  Einstrom (in der Depolarisationsphase, Abbildung 1: blau)
- transienter  $\text{Ca}^{2+}$  Einstrom (in der verzögerten Repolarisations-/Plateauphase, Abbildung 1: rot)
- $\text{K}^+$  Ausstrom (in der schnellen Repolarisationphase, Abbildung 1: lila)

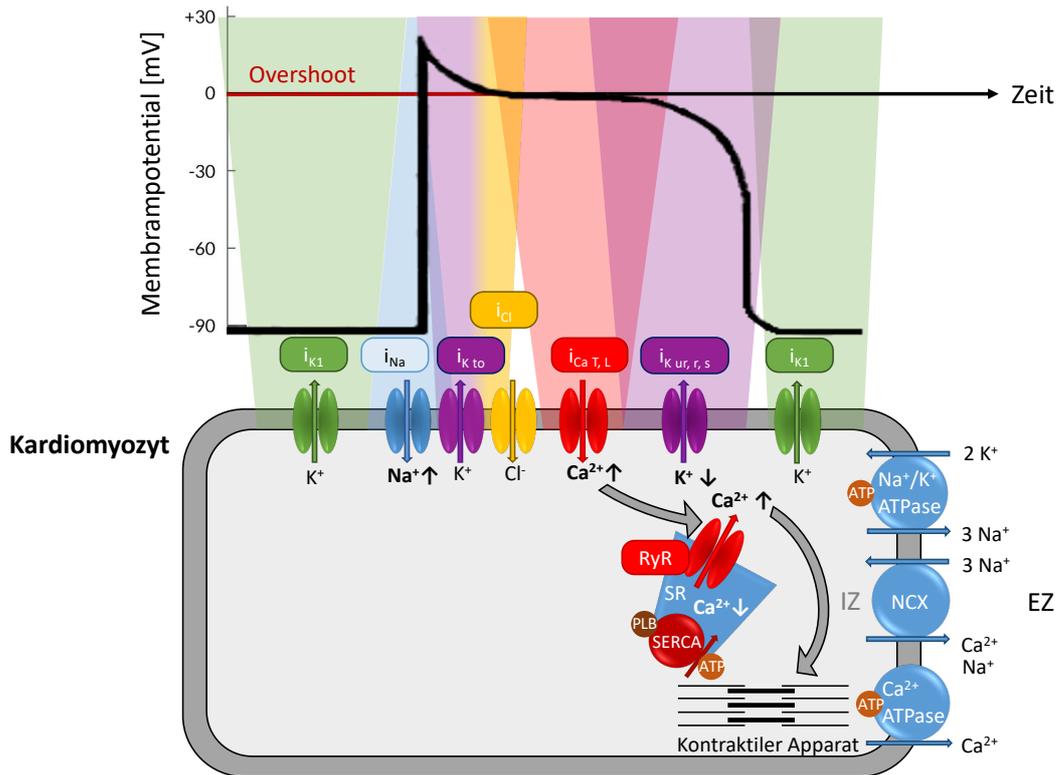


Abbildung 1: Physiologisches Aktionspotential einer Arbeitsmyokardzelle.  $i_{Na}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $Na^+$ -Kanäle;  $i_{K_{to}}$  = transienter  $K^+$  Auswärtsstrom;  $i_{Cl}$  =  $Cl^-$  Einwärtsstrom;  $i_{Ca_T,L}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte T-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle;  $i_{Ca_L}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte L-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle bzw. Dihydropyridinrezeptoren;  $i_{K_{ur,r,s}}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte ultra-schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K_r}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K_s}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte langsame  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K_1}$  = Auswärtsstrom in Ruhe über  $K^+$ -Kanäle; RyR = Auswärtsstrom über  $Ca^{2+}$ -Kanäle im sarkoplasmatischen Retikulum = Ryanodinrezeptoren; SERCA =  $Ca^{2+}$ -ATPase im sarkoplasmatischen Retikulum; PLB = Phospholamban;  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase =  $Na^+$ - $K^+$ -Austauscher; NCX =  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -Austauscher;  $Ca^{2+}$ -ATPase = Plasma Membran  $Ca^{2+}$ -ATPase im Sarkolemm = PMCA;  $Na^+$  = Natrium;  $K^+$  = Kalium;  $Cl^-$  = Chlorid;  $Ca^{2+}$  = Calcium; IZ = Intrazellulärraum; EZ = Extrazellulärraum; SR = sarkoplasmatischen Retikulum.

Wird bei der initialen Depolarisation durch eine bereits erregte Nachbarzelle der Schwellenwert von -55mV erreicht, öffnen sich für kurze Zeit an den Glanzstreifen lokalisierte spannungsgesteuerte schnelle  $Na^+$ -Kanäle, die das Membranpotential in Richtung des  $Na^+$ -Gleichgewichtspotenzials (+60 mV) treiben (Aufstrich des Aktionspotentials, Abbildung 1: Depolarisationsphase (blau)). Das Aktionspotential erreicht seine maximale Amplitude allerdings schon bei +30 mV. Denjenigen Anteil des Aktionspotentials, bei dem das Membranpotential positiv ist, bezeichnet man als Overshoot (Abbildung 1) (Niedergerke und Orkand 1966, Opie 2004, Hoth und Wischmeyer 2012a).

Im Anschluss folgt eine kurze und schnelle Repolarisationsphase, welche durch einen transienten  $K^+$  Auswärtsstrom ( $i_{K_{TO}}$  = transient-outward) und einen  $Cl^-$  Einstrom verursacht wird (Abbildung 1: schnelle und kurze Repolarisationsphase (lila-gelb)) (Hoth und Wischmeyer 2012a).

Durch die Depolarisation werden verschiedene spannungsgesteuerte  $\text{Ca}^{2+}$  Kanäle aktiviert: Zum einen öffnen schon bei geringer Depolarisation auf ca. -50 mV die sehr schnell aktivierten und inaktivierten T-Typ  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle. Zum anderen öffnen die L-Typ  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle erst bei Membranpotenzialen höher als -20mV und inaktivieren auch deutlich langsamer. Es kommt zu einem langsamen  $\text{Ca}^{2+}$  Einstrom ( $I_{\text{Ca}}$ ), welcher der zuvor beschriebenen Repolarisation entgegenwirkt und das Membranpotenzial so auf etwa 0 mV konstant hält. Der langsame  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom ist für das charakteristische Plateau und für die lange Dauer des Aktionspotentials verantwortlich. Außerdem spielt dieser eine entscheidende Rolle bei der Auslösung von Kontraktionen im Myokardgewebe durch die elektromechanische Kopplung (Abbildung 1: Plateauphase (rot)) (Opie 2004, Hoth und Wischmeyer 2012a).

Ausgangspunkt der elektromechanischen Kopplung sind die im transversalen tubulären System (T-Tubuli) lokalisierten L-Typ  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle (Dihydropyridinrezeptoren = DHPR) (Opie 2004), die bei Depolarisation der Membran öffnen und  $\text{Ca}^{2+}$  aus dem Extrazellulärraum in das Zellinnere einströmen lassen (Bassani et al. 1995). Das einströmende  $\text{Ca}^{2+}$  aktiviert wiederum  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle (Ryanodinrezeptoren = RyR, Abbildung 1: RyR) in der Membran des sarkoplasmatischen Retikulums, über die dort gespeichertes  $\text{Ca}^{2+}$  ins Zytoplasma freigesetzt wird (Sitsapesan und Williams 1994). Die  $\text{Ca}^{2+}$ -induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung erhöht zusammen mit dem Einstrom von  $\text{Ca}^{2+}$  aus dem Extrazellulärraum die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration von  $10^{-7}$  mol/l auf etwa  $10^{-5}$  mol/l (Chambers und Fallouh 2010). Dieser Konzentrationsanstieg erfolgt innerhalb weniger Millisekunden. Analog zu den Vorgängen im Skelettmuskel bindet  $\text{Ca}^{2+}$  an Troponin C und löst eine Interaktion von Aktin und Myosin aus, die die Myokardzelle mechanisch kontrahieren lässt (Bers 2002).

Um das  $\text{Ca}^{2+}$ -System im Anschluss an die Kontraktion wieder in den aktivierbaren Zustand zu überführen, müssen die Myokardzellen repolarisieren (Hoth und Wischmeyer 2012a). Die Repolarisation erfolgt durch spannungsaktivierte  $\text{K}^+$  Auswärtsströme durch ultra-schnell ( $I_{\text{K,ur}} = \text{ultra rapid}$ ), schnell ( $I_{\text{K,r}} = \text{rapid}$ ) und langsam ( $I_{\text{K,s}} = \text{slow}$ ) aktivierte  $\text{K}^+$ -Kanäle, während gleichzeitig die spannungsgesteuerte  $\text{Ca}^{2+}$  Kanäle wieder geschlossen werden (Abbildung 1: Repolarisationsphase (lila)) (Opie 2004). In der späten Repolarisationsphase trägt vor allem ein  $\text{K}^+$  Auswärtsstrom ( $I_{\text{K1}} = \text{inward rectifier}$ ) zum endgültigen Erreichen des Ruhepotenzials bei und die Zelle wird erneut erregbar (Abbildung 1: späte Repolarisationphase (grün)).

Die Absenkung der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration zum Ende der Repolarisationsphase dauert deutlich länger als der Anstieg, da  $\text{Ca}^{2+}$  durch einen primär aktiven Transport über eine im sarkoplasmatischen Retikulum lokalisierte  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (Sarcoplasmic Endoplasmic Reticulum Calciumtransporting ATPase = SERCA,

Abbildung 1: SERCA) und durch eine  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase im Sarkolemm (Plasma Membrane  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase = PMCA, Abbildung 1:  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase) aus dem Zytoplasma hinaus befördert wird. Zusätzlich wird  $\text{Ca}^{2+}$  durch den sekundär aktiven  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher (NCX) in den Extrazellulärraum transportiert. Dazu ist ein  $\text{Na}^+$ -Gradient nötig, der von der  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase aufrechterhalten wird (Mullins 1977, Hoth und Wischmeyer 2012a, 2012b).

Die Wiederaufnahme von  $\text{Ca}^{2+}$  kann über die Aktivität der SERCA reguliert werden, die durch Phospholamban, ein regulatorisches Protein, gehemmt wird. Phospholamban wiederum wird cAMP-abhängig phosphoryliert und somit inhibiert (Li et al. 2000). Eine Phosphorylierung von Phospholamban steigert demnach die Aktivität der SERCA, daraus folgend die Effektivität der Absenkung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration im Zytoplasma und führt im Endeffekt zu einer beschleunigten mechanischen Relaxation des Herzmuskel (Hoth und Wischmeyer 2012b).

Ab einem Membranpotential von -50 mV wechseln einige der spannungsgesteuerten, schnellen  $\text{Na}^+$ -Kanäle vom inaktivierten zum aktivierbaren Zustand zurück. In dieser Phase, genannt relative Refraktärperiode, bedarf es eines verstärkten Reizes, um die Zelle erneut zu erregen. Während der relativen Refraktärzeit ausgelöste AP mit entsprechend kleinerer Amplitude werden zwischen benachbarten Zellen nur langsam fortgeleitet und erregen das Arbeitsmyokard nur inhomogen. Ab ca. -70 mV sind die ausgelösten AP wieder normal ausgeprägt (Opie 2004, Hoth und Wischmeyer 2012a).

#### **2.4.2 Einfluss von Ischämie auf den Ablauf der elektrischen Herzaktion**

Die wichtigsten pathophysiologischen Veränderungen bei der akuten Myokardischämie sind ein erhöhtes extrazelluläres Kalium, eine intra- und extrazelluläre Azidose und eine Anoxie mit Blockade des Stoffwechsels. Diese Bedingungen führen zu einer Verringerung der Erregbarkeit der Zellmembran, einer Verkürzung der Aktionspotentialdauer und einer Verlängerung der Refraktärzeit nach einem Aktionspotential (Shaw und Rudy 1997).

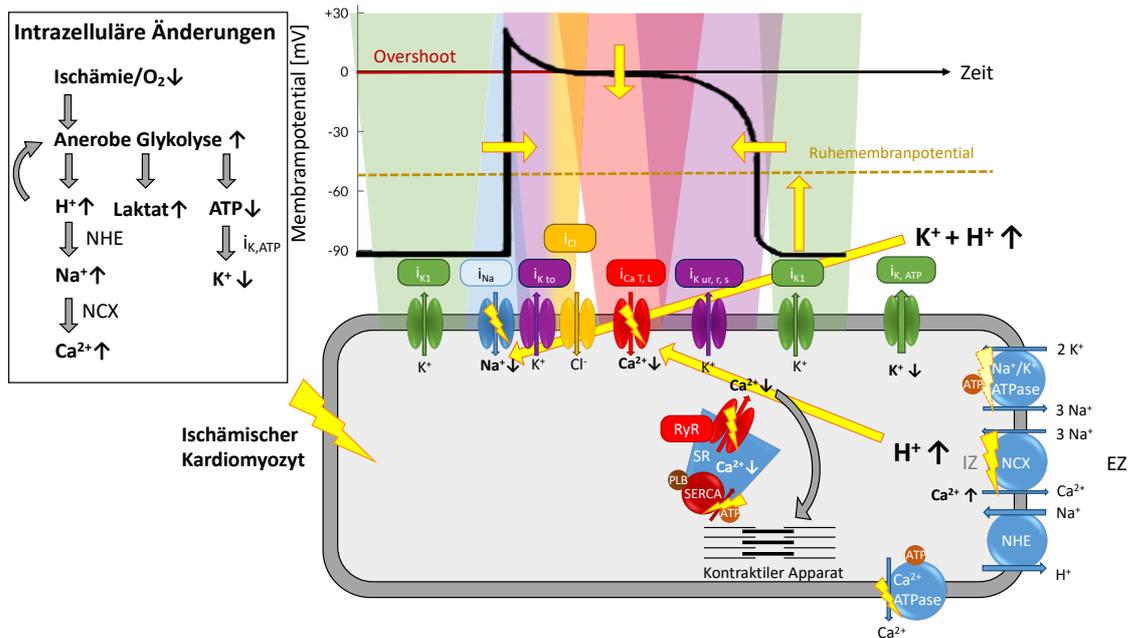


Abbildung 2: Einfluss von Ischämie auf das Aktionspotential im Arbeitsmyokard.  $i_{Na}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $Na^+$ -Kanäle;  $i_{Kto}$  = transienter  $K^+$  Auswärtsstrom;  $i_{Cl}$  =  $Cl^-$  Einwärtsstrom;  $i_{CaT}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte T-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle;  $i_{CaL}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte L-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle bzw. Dihydropyridinrezeptoren;  $i_{Kur}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte ultra-schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{Ks}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte langsame  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K1}$  = Auswärtsstrom in Ruhe über  $K^+$ -Kanäle; RyR = Auswärtsstrom über  $Ca^{2+}$ -Kanäle im sarkoplasmatischen Retikulum = Ryanodinrezeptoren; SERCA =  $Ca^{2+}$ -ATPase im sarkoplasmatischen Retikulum; PLB = Phospholamban;  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase =  $Na^+$ - $K^+$ -Austauscher; NCX =  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -Austauscher;  $Ca^{2+}$ -ATPase = Plasma Membran  $Ca^{2+}$ -ATPase im Sarkolemm = PMCA; NHE =  $Na^+$ - $H^+$ -Austauscher;  $Na^+$  = Natrium;  $K^+$  = Kalium;  $Cl^-$  = Chlorid;  $Ca^{2+}$  = Calcium; IZ = Intrazellulärraum; EZ = Extrazellulärraum; SR = sarkoplasmatischen Retikulum.

Die erhöhte Konzentration von extrazellulärem Kalium wirkt sich am stärksten auf die Erregbarkeit der Kardiomyozyten aus. Zum einen, indem sie zu einem Anstieg des Ruhemembranpotentials führt (Abbildung 2 : Ruhemembranpotential) und zum anderen, da sie zu einer verringerten Leitfähigkeit von Natriumkanälen führt (Abbildung 2:  $i_{Na}$ ) (Shaw und Rudy 1997). Während einer akuten Ischämie verlängert sich die absolute und relative Refraktärzeit trotz der Verkürzung der Aktionspotentialdauer führt (Abbildung 2: Aktionspotential) und kann die vollständige Repolarisation um Hunderte von Millisekunden überdauern. Der Mechanismus der verlängerten Refraktärzeit basiert fast ausschließlich auf der spannungsabhängigen Erholung der Natriumkanäle. Aber auch die Depolarisation des Ruhemembranpotentials durch erhöhtes extrazelluläres Kalium verlangsamt die Erholung nach einem Aktionspotential (Shaw und Rudy 1997).

Die infolge der Ischämie entstandene Azidose verursacht eine von der extrazellulären Kaliumkonzentration unabhängige Verringerung der Geschwindigkeit des Aktionspotentialanstiegs. Yatani et al. stellten fest, dass ein niedriger intra- und extrazellulärer pH-Wert sowohl den maximalen Natriumstrom verringerte, als auch die Kinetik der Natriumkanäle zu positiveren Potenzialen verschob (Yatani et al. 1984). Auf ähnliche Weise reduziert intrazelluläre Azidose die Höhe des L-Typ Calciumstroms,

allerdings ohne Veränderung der Kinetik des Calciumkanals führt (Abbildung 2:  $i_{Ca, L}$ ) (Irisawa und Sato 1986). Ein weiterer Effekt der Azidose ist die Hemmung des Natrium-Calcium-Austauschs (Abbildung 2: NCX), infolge des verringerten Transports von Calcium nach extrazellulär kommt es zu einer Inaktivierung des L-Typ Calciumstroms und dadurch zu einer Verringerung der calciuminduzierten Freisetzung von Calcium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum (Abbildung 2 : RyR) (Doering und Lederer 1993). Weiterhin führt Anoxie zur Aktivierung des ATP-abhängigen Kaliumstroms  $I_{K,ATP}$  und infolgedessen zu einer Verkürzung der Aktionspotentialdauer um mehr als 50 % (Shaw und Rudy 1997). Dieser spezielle ATP-empfindliche Kaliumkanal ( $I_{K,ATP}$ ) ist in gesundem ventrikulärem Gewebe inaktiv und führt mit abnehmendem ATP-Gehalt zu einem zunehmenden Kaliumstrom aus der Zelle (Abbildung 2:  $I_{K,ATP}$ ) (Noma 1983). Es konnte gezeigt werden, dass der ATP-abhängige Kaliumstroms  $I_{K,ATP}$  der Hauptstrom ist, der für die Verkürzung der Aktionspotentialdauer während einer akuten Ischämie verantwortlich ist (Friedrich et al. 1990, Shaw und Rudy 1997).

Daneben spielen noch anderer ATP-abhängige Prozesse, die das Aktionspotential während der Ischämie beeinflussen, insbesondere die verringerte Leistung der  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase eine Rolle. Allerdings konnte gezeigt werden, dass bereits geringe ATP-Konzentrationen ausreichen, um die Pumpfunktion der  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase aufrechtzuerhalten (Kleber 1983). Hieraus kann gefolgert werden, dass während der akuten Phase der Ischämie keine signifikante Hemmung der  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase stattfindet (Shaw und Rudy 1997).

## 2.5 EINFLUSS VON MYOKARDISCHÄMIE AUF DEN ENERGIESTOFFWECHSEL

Um seine Funktion als Pumporgan im Blutkreislauf zu erfüllen benötigt das Herz Energie für die Kontraktion und Erschlaffung seiner Muskelzellen. Die Energie steht in Herzmuskelzellen in Form von ATP zu Verfügung, welches durchgehend durch aerobe und anaerobe ATP-Synthese bereitgestellt wird. ATP wird sowohl für die Aktin-Myosin-Interaktion, als auch für Ionentransporter wie  $Ca^{2+}$ -Transporter und die  $Na^+/K^+$ -ATPase benötigt (Pape et al. 2014). Da die ATP-Menge im Herzen im Vergleich zum Bedarf gering ist, muss die Herzmuskelzelle ständig ATP neu synthetisieren, um eine normale Pumpfunktion und weitere Zellfunktionen aufrechtzuerhalten (Ingwall 2009).

Im Normalzustand spielt die aerobe Energiebereitstellung, bei der ATP durch oxidative Phosphorylierung in Mitochondrien hergestellt wird, die Hauptrolle in der myokardialen Energieversorgung. Als Energieträger dienen hierbei zu 50-60% freie Fettsäuren, zu 30% Glukose und zu 20% Laktat. Sowohl freie Fettsäuren, als auch Glukose und Laktat werden über Acetyl-Coa in den Citratzyklus und die Atmungskette eingespeist, um in den Mitochondrien mithilfe von Sauerstoff ATP zu bilden. Das Herz kann abhängig von

der im Blut vorhanden Konzentration der jeweiligen Energieträger, den jeweiligen Anteil am Stoffwechselveränderng. Durch die Flexibilität ist das Substratangebot bei einer Unterversorgung des Myokardgewebes, im Gegensatz zum Sauerstoffangebot, nicht die limitierende Größe (Jennings et al. 1991, Ingwall 2002, Pape et al. 2014). Dagegen beträgt die Sauerstoffausschöpfung des Myokards aus den Koronararterien bereits in Ruhe ca. 70%. Bei einer Mehrbelastung des Herzens mit erhöhtem ATP-Bedarf steigt, infolgedessen auch der Sauerstoffbedarf, um die erhöhte Stoffwechselleistung erbringen zu können. Da die Sauerstoffextraktion aus der koronaren Blutversorgung nur gering gesteigert werden kann, muss der zusätzliche O<sub>2</sub>-Bedarf über eine gesteigerte Durchblutung gedeckt werden. In der Folge kommt es zu einer Dilatation der Koronargefäße, wodurch die Durchblutung des Myokards auf das Vier- bis Fünffache der Ausgangsmenge gesteigert werden kann. Durch die hohe Wandspannung des Myokardgewebes in der Systole erfolgt die Durchblutung des Myokards, vor allem im muskelstarken linken Ventrikel, größtenteils in der Diastole (Pape et al. 2014).

Kommt es zu einer Durchblutungsstörung entsteht eine Gewebshypoxie, sodass der Stoffwechsel in den betroffenen Myokardzellen schon nach wenigen Sekunden bis Minuten von einer oxidativen auf eine anaerobe Energiegewinnung umgestellt wird.

Zunächst wird ATP aus den ATP-Vorräten der Zelle verbraucht. Anschließend erfolgt die ATP-Synthese aus dem intrazellulär verfügbaren Kreatinphosphat. Mit dem Phosphatmetabolismus kann für ca. 30 Sekunden ATP in ausreichender Menge bereitgestellt werden (Bittl und Ingwall 1985). Darauf folgend wird durch die Abnahme der ATP-Konzentration die anaerobe Glykolyse stimuliert und die Glukoseaufnahme gesteigert (Zhang et al. 1995), wobei die hieraus gewonnene Menge Energie nicht ausreichend ist, um den Energiebedarf der Herzmuskelzellen dauerhaft zu decken und den ATP-Abfall zu kompensieren (Taegtmeyer 1994, Taegtmeyer et al. 2005, Pape et al. 2014). Zu Beginn der Ischämie wird noch ATP für Kontraktionen verbraucht, im weiteren Verlauf wird ein Großteil der Energie für die mitochondriale ATPase benötigt. Eine deutlich geringere Menge an ATP wird von ATPasen für den Ionentransport benötigt (Jennings et al. 1991).

Im Rahmen der anaeroben Glykolyse entsteht neben ATP auch das Stoffwechselprodukt Laktat aus der verwendeten Glukose. Das vermehrt anfallende Laktat kann allerdings, im Gegensatz zum im Normalzustand vorliegenden Stoffwechsel, ohne Vorhandensein von Sauerstoff nicht zur Energiegewinnung genutzt werden, sodass es zu einer zunehmenden Akkumulation desselben kommt. Da mit jedem gebildetem Laktatmolekül auch ein H<sup>+</sup>-Molekül entsteht, geht mit der anaeroben Glykolyse eine zunehmende Azidose der Myokardzellen einher (Jennings et al. 1991, Weiße 2001).

Durch die Azidose kommt es über Enzymhemmung der Glykolyse zu einem Erliegen des anaeroben Glykolysestoffwechsels. Bei dem daraus folgenden ATP-Mangel versagen ATP-abhängige Ionentransporter, insbesondere  $\text{Ca}^{2+}$ -Transporter und die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, ihren Dienst und es kommt zur Änderung der Ionenkonzentrationen mit konsekutiver Änderung des Ruhemembranpotentials und Verringerung der Erregbarkeit der Herzmuskelzellen. Bei irreversibel geschädigten Myozyten zeigen sich sehr niedrige ATP-Wert, hohe  $\text{H}^+$ -, AMP- und Laktat-Werte, es kommt zur Einstellung der anaeroben Glykolyse, sowie einer mitochondrialen Schwellung und schließlich zu einer Unterbrechung der Zellmembran (Jennings und Reimer 1991).

Calcium kann aufgrund der dysfunktionalen Ionenpumpen nicht mehr aus der Zelle hinaus transportiert werden, weshalb die intrazelluläre Calciumkonzentration stark ansteigt (Allen et al. 1993). Infolge der hohen intrazellulären Calciumlevel kommt es zur Bildung von freien Radikalen, reaktiven Sauerstoffspezies und calciumabhängigen Enzymen, welche die Zellmembran abbauen und durchlässiger machen. Dadurch kommt es zur Zerstörung der Mitochondrien, welche Toxine und apoptotische Faktoren in die Zelle freisetzen, wodurch die Caspase abhängige Apoptose der Zelle initiiert wird, was zum Untergang der Myokardzelle führt. In der Folge kommt es zu einer Entzündung mit einem bindegewebigen Umbau, an dessen Ende am Ort des Myokardschadens ein kollagenreiches Narbengewebe entsteht (Gottlieb und Engler 1999, Pape et al. 2014).

### 3 THERAPIE DER MYOKARDISCHÄMIE

Eine bestehende Myokardischämie kann entweder konservativ mit medikamentösen Therapieoptionen oder invasiv, mittels einer perkutanen Koronarintervention (PCI) oder durch einen Koronararterienbypass (CABG) behandelt werden (The TIME Investigators 2001, Hueb et al. 2007, 2010). Die Indikationen für eine Revaskularisation bei Patienten mit einem chronischen Koronarsyndrom sind das Fortbestehen der Symptome trotz optimaler medikamentöser Behandlung oder die Verbesserung der Prognose. Hier haben mehrere Studien gezeigt, dass eine Revaskularisation mittels PCI oder CABG Angina pectoris effektiver lindert, die körperliche Belastbarkeit und die Lebensqualität verbessert, als eine optimale medikamentöse Therapie (Yusuf et al. 1994, Neumann et al. 2018). Trotz der Zunahme der perkutanen Koronarintervention (PCI) und die technischen Fortschritte bei der Stententwicklung ist die CABG nach wie vor von entscheidender Bedeutung für Patienten mit einer komplexen koronaren Mehrgefäßerkrankung (Mohr et al. 2013, Head et al. 2014), sowie bei Patienten mit Diabetes mellitus, die oft an einer diffusen Beteiligung aller Koronargefäße leiden (Farkouh et al. 2012, Kappetein et al. 2013). Die Entscheidung für eine perkutane oder chirurgische Revaskularisierung hängt vom patientenindividuellen Risiko-Nutzen-

Verhältnis ab und sollte von einem multidisziplinären Team getroffen werden, dem mindestens ein interventioneller Kardiologe und ein Kardiochirurg angehören (Head et al. 2013). Die Wahl des Verfahrens erfolgt dabei anhand verschiedener Kriterien. Neben der Anzahl der betroffenen Koronargefäße (LCA, RCX, RCA) spielt die Komplexität der Koronarstenosen, das peri- und postoperative Risiko und die voraussichtliche Vollständigkeit der Revaskularisierung eine Rolle (Neumann et al. 2018). Der Schweregrad einer Koronaren Herzkrankheit kann mithilfe des angiographischen SYNTAX Score II (SYnergy between PCI with TAXUS and Cardiac Surgery) eingeschätzt werden. Hierbei wird neben der Anatomie der Koronararterien und den Charakteristika der Läsionen zusätzlich patientenbezogene Faktoren berücksichtigt (Sianos et al. 2005, Kappetein et al. 2011, Mohr et al. 2013). Die Bestimmung des individuellen Operationsrisikos erfolgt mithilfe des EuroSCORE II (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation) (Roques et al. 1999, Nashef et al. 2012) oder des Society of Thoracic Surgeons (STS) Risikoscore (Shahian et al. 2009, Kirmani et al. 2013, Ad et al. 2016). Obwohl beide Modelle unterschiedliche Kriterien verwenden, enthalten die Scores ähnliche Risikokategorien. Dazu gehören das Alter, das Geschlecht, frühere kardiovaskuläre Ereignisse, kardiovaskuläre Parameter, wie zum Beispiel die linksventrikuläre Funktion, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Herzrhythmusstörungen, periphere Gefäßerkrankungen, sowie indirekte kardiovaskuläre Parameter, einschließlich Niereninsuffizienz und chronisch obstruktive Lungenerkrankung oder operative Parameter, wie die Anzahl der betroffenen Gefäße, der Grad der Stenose und die Dringlichkeit der Operation. In Studien, in denen die beiden Modelle verglichen wurden, schnitten beide Scores ähnlich ab (Head et al. 2017).

### 3.1 KORONARARTERIEN-BYPASS (CABG)

Seit der Einführung der koronaren Bypass-Operation (CABG) in den 1960er Jahren (Head et al. 2013) hat sich der Eingriff rasch zu einem der am häufigsten durchgeführten großen chirurgischen Eingriffe entwickelt und sich gleichzeitig als Standardmethode für die chirurgische Revaskularisation des Myokards etabliert (Jha et al. 2005). Der Eingriff wird dabei meistens durch eine mediane Sternotomie an einem kardioplegisch angehaltenen Herzen unter Verwendung eines kardiopulmonalen Bypasses durchgeführt (Head et al. 2017, Beckmann et al. 2021). Das Ziel der Behandlung ist die Verbesserung der Durchblutung in ischämischen Arealen des Myokards mithilfe autologer arterieller oder venöser Gefäße.

Die Indikation zur koronaren Bypassoperation besteht, wenn eine  $\geq 50\%$  Stenose des Hauptstamms oder der proximalen RIVA, eine koronare Dreigefäß- oder Zweigefäßerkrankung mit einer Stenose  $\geq 50\%$  und einer reduzierten LVEF  $\leq 35$  (Serruys

et al. 2009) oder eine hämodynamisch signifikante Stenose mit Angina pectoris trotz optimaler medikamentöser Therapie vorliegt (Neumann et al. 2018). Außerdem wird der Eingriff bei Patienten mit einer zusätzlichen operationsbedürftigen Herzklappenerkrankung oder einem Aortenaneurysma (Falk et al. 2017, Neumann et al. 2018), sowie bei Patienten mit Diabetes mellitus (Farkouh et al. 2012, Kappetein et al. 2013) oder Niereninsuffizienz (Chang et al. 2013) empfohlen. Eine Notfallindikation zum CABG liegt bei einer Komplikation während der PCI zum Beispiel bei iatrogenen Okklusion oder Dissektion der Koronararterien, bei drohendem kardiogenen Schock durch einen Ventrikelseptumdefekt (VSD), bei Nekrose eines Papillarmuskels mit plötzlicher Mitralinsuffizienz oder bei einer freien Ruptur der Ventrikelwand vor (Seshadri et al. 2002, Davierwala et al. 2016, Neumann et al. 2018). Außerdem ergab eine kürzlich durchgeführte bevölkerungsbezogene Analyse, dass bei Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom und mit Diabetes mellitus der CABG im Vergleich zu einer PCI ein besseres Outcome hat (Ramanathan et al. 2017).

### 3.2 GRUNDZÜGE DER KORONAREN BYPASSOPERATION

Die koronare Bypassoperation erfolgt meistens über eine Thorakotomie im Sinne einer medianen Längssternotomie am kardioplegisch stillgelegten Herzen. Indem der Depolarisations-/Repolarisationszyklus der Herzmuskelzellen mittels einer Kardioplegielösung angehalten wird, was in einem iatrogen erzeugte Herzstillstand resultiert, entstehen ideale Bedingungen für den technisch anspruchsvollen Eingriff am normalerweise dauerhaft in Bewegung befindlichen Organ. Allerdings gibt es erhebliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Ländern, was den Einsatz eines kardiopulmonalen Bypasses, die Art der Kardioplegie und die verwendeten Bypassgefäße betrifft (Head et al. 2017).

Als aortokoronare Bypassgefäße verwendet man hauptsächlich die A. thoracica interna, welche auch als A. mammaria bezeichnet wird, die A. radialis und die Vena saphena magna. Heutzutage wird die überwiegende Mehrheit der Eingriffe mit einer Anastomose der linken A. mammaria (LIMA) an den Ramus interventricularis anterior (RIVA bzw. LAD) durchgeführt und zusätzliche Stenosen mit Venentransplantaten der Vena saphena magna überbrückt. Nach Präparation der Gefäße werden die Anastomosen zuerst auf die längseröffnete Koronararterie aufgenäht. Danach erfolgen die Anastomosen der Venenbypässe an die Aorta ascendens oder LIMA, während das Herz bereits wieder zu schlagen beginnt, um Ischämiezeit einzusparen.

Als wichtigstes Bypassgefäß dient heutzutage die linke A. mammaria (LIMA) mit einer Offenheitsrate von 90% nach 10 Jahren (Fitzgibbon et al. 1996). Auch der beidseitige Einsatz (BIMA) der linken (LIMA) und rechten A. mammaria (RIMA) als Bypassgefäße

kann erfolgen. Reichen diese beiden arteriellen Gefäße für die Operation nicht aus, werden zusätzlich autologe Venenbypässe (ACVB) mit Teilstücken der V. saphena magna (Offenheitsrate 50% nach 10 Jahren) (Fitzgibbon et al. 1996, Kim et al. 2014) oder, bei ausreichender Kollateralversorgung der Hand, autologe Arterienbypässe mit Teilstücken der A. radialis (Offenheitsrate 80% nach 10 Jahren) eingesetzt (Tranbaugh et al. 2010, Cao et al. 2013). In der Regel liegen Mehrgefäßerkrankungen vor, sodass meistens die gleichzeitige Anlage mehrerer Bypässe nötig wird (Head et al. 2015). Aufgrund der hervorragenden Offenheitsraten von arteriellen Bypassgrafts werden vor allem bei Patienten unter 70 Jahren häufig beide A. mammae in Verbindung mit einer A. radialis als Bypassgrafts verwendet, um den Patienten eine Zweitoperation im hohen Alter zu ersparen. Diese ist bei Patienten mit Venen-Bypässen wegen erneuter Bypassstenosen und Bypassverschlüssen häufig nach 10 bis 15 Jahren erforderlich (Mohammadi et al. 2008, Kieser et al. 2011, Head et al. 2017).

### 3.3 *EXTRAKORPORALE ZIRKULATION*

Die Operation findet in den meisten Fällen während einer extrakorporalen Zirkulation (EKZ) statt (Head et al. 2015). Der Eingriff unter Verwendung einer EKZ ist vor allem bei einer größeren Anzahl von Bypässen und beim Anschluss von stark verkalkten, schwer zugänglichen und kleinen Koronargefäßen das Standardverfahren von hoher Qualität. Voraussetzung für die Nutzung einer extrakorporalen Zirkulation ist Heparin, durch das die Blutgerinnung im extrakorporalen Kreislauf verhindert wird (Lyttleton 1954).

Zuerst erfolgt durch die Kanülierung der Aorta ascendens und des rechten Vorhofs die Herstellung eines Umgehungskreislaufs am Herzen vorbei. Anschließend erfolgt die Induktion eines Herzstillstands mittels einer Kardioplegielösung, sowie eine Hypothermie des Gesamtkreislaufs des Patienten (zwischen 28 - 32°C), um den Stoffwechsel zu reduzieren. Für die Dauer der Herzoperation ersetzt eine Herz-Lungen-Maschine die Pumpfunktion des Herzens mittels einer mechanischen Pumpe und die Funktion der Lunge wird durch einen Oxygenator übernommen, der das Blut des Patienten mit Sauerstoff anreichert und das bei Stoffwechselprozessen entstehende Kohlendioxid eliminiert, sowie über einen Wärmetauscher, der für die Temperaturregulierung des Patienten verantwortlich ist. Daneben befinden sich in der Herz-Lungen-Maschine auch verschiedene Blutfilter, die Partikel, Thromben und Gasblasen zurückhalten und somit verhindern, dass diese in den Kreislauf des Patienten gelangen und eine Embolie erzeugen können. Die möglichen Komplikationen der Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine bei der Durchführung eines kardiopulmonalen Bypasses entstehen durch die Manipulation und Kanülierung der großen Gefäße im Rahmen des Cross-Clamping und die Verwendung einer

extrakorporalen Zirkulation mit daraus folgender systemischer Entzündungsreaktion, Mikroembolien und einer erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke mit konsekutiver zerebraler Ischämie (Head et al. 2017).

#### 4 ISCHÄMIE-REPERFUSIONSSCHADEN

Einige Forscher behaupten zwar, dass die Reperfusion vor allem den Zelltod von bereits während Ischämie irreversibel beschädigten Zellen begünstigt und ausschließlich reversibel beschädigte Zellen von der Reperfusion profitieren (Jennings und Reimer 1983). Allerdings ist es so, dass obwohl die Reperfusion für das letztendliche Überleben des Gewebes notwendig ist, sie paradoxerweise die ischämische Schädigung verschlimmern kann. Ischämie- und Reperfusionsschäden sind eng miteinander verwoben. Der Anteil der Reperfusion am Gesamtschaden ist bisher nicht geklärt und hängt wahrscheinlich vom Ischämieschaden ab. Der Reperfusion geht immer eine Ischämie voraus und einige der reperfusionsbedingten kardialen Ereignisse können als Fortsetzung der Schäden in der Ischämischeperiode gesehen werden (Vaage und Valen 1993).

Zwar wurde auf die Auswirkungen von Ischämie auf die Myokardzellen bereits im vorangegangenen Text eingegangen, jedoch führt ein Ischämie-Reperfusionsschaden zu weiteren charakteristischen Schäden am Myokard und typischen reperfusionsassoziierten Ereignissen, wie zum Beispiel Arrhythmien, „myocardial stunning“ mit systolischer und diastolischer Dysfunktion und einem geringen Blutfluss mit mikrovaskulärer Dysfunktion (Rosenkranz und Buckberg 1983, Vaage und Valen 1993).

Eine typische Folge der Schäden sind Arrhythmien während der Ischämiephase (Julian et al. 1964, Lie et al. 1975) und in der Frühphase der Reperfusion (Battle et al. 1974, Axelrod et al. 1975), die in ein Kammerflimmern übergehen können. (Hearse 1990)

Weitere Folgen sind eine kontraktile und metabolische Dysfunktion des betroffenen Myokardbereichs (Guth et al. 1993). Die Dysfunktion wird entweder durch den Verlust von vitalem Myokard verursacht, indem es zu einer Nekrose in bereits irreversibel geschädigten Gewebe kommt (Hearse 1990, Schlüter et al. 1991) oder es kann auch durch die Reperfusion zu einem irreversiblen Schaden von Myozyten kommen, die vor der Reperfusion noch vital waren (Hearse 1990, Carden und Granger 2000, Yellon und Hausenloy 2007).

Eine plötzliche Unterbrechung des Blutflusses hat für den Herzmuskel zwei unmittelbare und schwerwiegende Folgen: zum einen eine verringerte Verfügbarkeit von Sauerstoff und Substrat für den Stoffwechsel, zum anderen die zunehmende Ansammlung von Stoffwechselprodukten (Nayler et al. 1986).

In der Anfangsphase der akuten Myokardischämie werden durch intrazelluläre Mechanismen hauptsächlich freie Radikale gebildet. In den Mitochondrien reduziert die Atmungskette unter aeroben Bedingungen Sauerstoff über Reduktion zu Wasser. Mit dem Übergang vom aeroben zum anaeroben Stoffwechsel erfolgt in der ischämischen Zelle die Dissoziation des intramitochondrialen Elektronentransportsystems. In der Folge kommt es zu einem Anstieg der reduzierenden Stoffwechselkomponenten wie  $H^+$ , Laktat und Superoxidradikalen, sowie einer damit verbundenen Verarmung an intrazellulären Radikalfängern. Während der Ischämie wird die Reduktion von Sauerstoff zum Superoxidanion bevorzugt, wobei als Metaboliten neben dem Superoxidanion, auch Wasserstoffperoxid und Hydroxylradikal erzeugt werden (Maza und Frishman 1987).

Bei der anschließenden Reperfusion kommt es zu oxidativem Stress und einer ausgedehnten Entzündung im ischämischen Gewebe. Außerdem geht die Reperfusion von ischämischem Gewebe häufig mit einer mikrovaskulären Dysfunktion einher. Hierbei entsprechen die molekularen und biochemischen Veränderungen des Endothels denen einer akuten Entzündungsreaktion und können auch Gefäße in anderen Organen im Sinne einer systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) betreffen (Carden und Granger 2000). Infolgedessen kommt es in den Kapillaren zu einer erhöhten Permeabilität, wodurch vermehrt Leukozyten, Plasmaproteine und Flüssigkeit in das Gewebe gelangen. Außerdem werden in aktiviertem Endothel mehr reaktive Sauerstoffspezies (ROS), aber weniger Stickstoffmonoxid (NO) produziert, sodass es zu einem Ungleichgewicht mit einer vermehrten Produktion und Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Leukozytenadhäsionsmolekülen kommt (Carden und Granger 2000). Leukozyten, die über die reperfundierten Gefäße in das zuvor ischämische Gewebe gelangen, setzen weitere Botenstoffe wie Interleukine und zusätzliche freie Radikale frei, die zur Verstärkung der Entzündungsreaktion führen und das Gewebe weiter schädigen (Stewart A Weber und Helmi L Lutsep 2022).

Durch die Reperfusion gelangt außerdem wieder mehr Sauerstoff zu den Zellen, welcher aber neben seiner positiven Funktion auf den Zellstoffwechsel auch Proteine, die DNA und die Plasmamembran von ischämischen Zellen schädigen kann, sodass es über die Freisetzung von freien Radikalen zur irreversiblen Schädigung der Zelle kommen kann. Weiter wird vermutet, dass freie Radikale als eine Art Signal in der Apoptose eine Rolle spielen. Eine andere Vermutung ist, dass im normalen Gewebe ausreichend Radikalfänger vorhanden sind, die verhindern, dass freie Radikale einen Schaden anrichten können, wogegen es in ischämischen Gewebe weniger Radikalfänger gibt, sodass es zu einem größeren Schaden durch freie Radikale kommen kann (Stewart A Weber und Helmi L Lutsep 2022). Zusätzlich kann es durch die große Anzahl an Leukozyten, die im Rahmen der Reperfusion ans Endothel der Kapillaren binden, zu

einer Thrombosierung der kleinsten Gefäße kommen und so die Ischämie weiter aufrechterhalten werden (Maza und Frishman 1987, Stewart A Weber und Helmi L Lutsep 2022).

Während der Reperfusion ist die beschädigte Zellmembran zudem einem Anstieg des extrazellulären Calciums ausgesetzt, wodurch es durch Diffusion zu einer Anhäufung von intrazellulärem Calcium mit daraus resultierender "Calciumüberladung" kommt. Der Verlust der  $Ca^{2+}$ -Homöostase ist laut Nayler et. al. der entscheidende Faktor für den Übergang von reversiblen zu irreversiblen Schäden. Der Anstieg von intrazellulärem Calcium führt zu einer erhöhten Aktivität von ATPasen, Proteasen und Phospholipasen, sowie zu einem Anstieg von Thromboxan und einer Thrombozytenaggregation (Nayler et al. 1986). Diese Prozesse fördern die Generierung von freien Radikalen, führen zu einer weiteren mikrovaskulären Dysfunktion, potenzieren so die Membranschädigung und führen am Ende zum Zelluntergang.

In ähnlicher Weise kann die Wiederherstellung der Sauerstoffzufuhr des ischämischen Herzmuskels die zelluläre Schädigung durch eine erhöhte Produktion freier Radikale verstärken. Die Produktion freier Radikale fördert wiederum die Lipidperoxidation, woraus eine fortschreitenden Zerstörung der Zellmembran, mit Erhöhung der Calciumdurchlässigkeit und einer weiteren Störung der Calciumhomöostase, resultiert (Maza und Frishman 1987). Die damit verbundenen Veränderungen der Gewebeosmolarität führen zu einer Flüssigkeitsakkumulation im Sarkolemm und zu einer osmotische Zellschwellung, was den beschädigten Kardiomyozyten zusätzlich belastet (Nayler et al. 1986).

## 5 INTRAOPERATIVE MYOKARDPROTEKTION

Essentielle Grundlage der intraoperative Myokardprotektion ist das Wissen, dass die Ischämie von Zellen und Gewebe ein mit der Zeit fortschreitender Prozess ist. Mit zunehmender Dauer der Ischämie werden die zellulären und molekularen Veränderungen schwerwiegender, sodass diese ohne eine rechtzeitige Wiederherstellung der Durchblutung irreversibel sind und final zum Tod der Zelle führen. Reversible Veränderungen treten über kurze Zeiträume der Ischämie auf. Erfolgt innerhalb eines Zeitraums von Sekunden bis einigen Minuten die Reperfusion, führt dies zu einer vollständigen Erholung des Gewebes. Zu einem unbekanntem Zeitpunkt nach einer länger fortbestehenden Ischämie führen die Veränderungen jedoch zu einer irreversiblen Schädigung des Gewebes, sodass diese im Folgenden nicht mehr von einer Reperfusion profitiert. Tatsächlich kann es durch die zuvor beschriebenen Mechanismen auch zu einer zusätzlichen Schädigung durch Reperfusion kommen, welche den Schaden im Myokardgewebe nach einer Ischämie noch vergrößert. Daher

ist es essentiell während einer Operation am Herzen kardioprotektive Maßnahmen einzuleiten, um eine Schädigung der Kardiomyozyten währenddessen zu minimieren. Das erreicht man indem der Zeitraum der reversiblen Schädigung verlängert und das Einsetzen der irreversiblen Schädigung so lange wie möglich hinausgezögert wird (Chambers und Fallouh 2010).

Verbesserte Techniken des kardiopulmonalen Bypasses, fortschrittliche Anästhesietechniken, kürzere Operationszeiten und eine verfeinerte Nahttechnik haben alle dazu beigetragen das Ausmaß der Myokardschädigung bei einer Operation zu verringern. Es gibt verschiedene Methoden der intraoperativen Myokardprotektion, wie die Verwendung einer Kardioplegielösung, die Optimierung der Stoffwechselrate, die Verringerung des Calciumeinstroms, die Pufferung der Azidose, die Vermeidung von Ödemen und das Auffüllen der mangelhaft vorhandenen Substrate (Gay und Ebert 1973, Rosenkranz und Buckberg 1983). Jedoch gilt die Gabe einer Kardioplegielösung, durch welche es zu einer Verringerung des myokardialen Energiebedarfs während der Ischämieperiode kommt, als der wichtigste Beitrag zur Verringerung der operativen Mortalität und Morbidität (Favaloro 1998, Head et al. 2013).

## 5.1 PRINZIP DER KARDIOPLEGIE

Myokardialer Schutz während Herzoperationen wird heute meistens durch die intraoperative Verwendung einer Kardioplegielösung realisiert. Unter einer Kardioplegie versteht man allgemein einen Herzstillstand in situ (Liebold et al. 2012), wobei der Begriff im engeren Sinne für den iatrogen induzierten Stillstand des Herzens verwendet wird. Bretschneider et al. ordneten außerdem alle Maßnahmen, welche die Widerstandsfähigkeit des Herzens gegenüber einer Ischämie verbessern diesem Begriff zu (Bretschneider et al. 1984). Somit dienen kardioplegische Lösungen neben der Aufgabe einen Herzstillstand künstlich herbeizuführen im weiteren Sinne auch der Myokardprotektion.

### 5.1.1 Historische Entwicklung

Bei der ersten Operation am offenen Herzen wurde eine systemische Ganzkörperhypothermie und ein kurzer Kreislaufstillstand zur Myokardprotektion angewendet (Lewis und Taufic 1953). Zu dieser Zeit war bekannt, dass Hypothermie den Sauerstoffbedarf von Organen, insbesondere des Gehirns, verringert und als Prophylaxe von Ischämieschäden dient.

Der nächste Schritt war die Entwicklung des kardiopulmonalen Bypasses. Beim kardiopulmonalen Bypass werden Ischämieschäden der Organe durch die während der Operation beibehaltene Perfusion vorgebeugt. Allerdings führten die langen

Ischämieperioden, die bei komplexen Herzoperationen erforderlich waren, zu einer hohen Mortalität der Patienten (Gibbon Jr et al. 1954, Chambers und Hearse 2001). Ein häufiges Phänomen bei diesen Eingriffen war das sogenannte „stone heart“, ein spastisch-kontraktiler Herzstillstand, der durch den ATP-Verbrauch während der Ischämieperiode hervorgerufen wurde (Katz und Tada 1972). Um diesen Zustand vorzubeugen, führten Melrose et al. 1955 das Konzept des „elektiven reversiblen Herzstillstands“ ein, bei dem eine intrakoronare Infusion einer Lösung mit einer hohen Konzentration von Kaliumcitrat (77 mmol / l) verwendet wurde. Die Reversibilität des Zustands wurde durch das Auswaschen der Lösung erreicht (Melrose et al. 1955).

Jedoch wurde im Folgenden festgestellt, dass eine hochkonzentrierte Kaliumcitratlösung eine fokale Myokardnekrose induziert und den Tod vieler Patienten verursacht hat (Tyers et al. 1975). Dieser Umstand führte dazu, dass die Verwendung von hyperkaliämischen Lösungen für fast 20 Jahre aufgegeben wurde. Das Konzept des pharmakologischen Herzstillstands wurde während dieser Zeit allerdings beibehalten und versucht über andere, weniger schädliche Mechanismen auszulösen. Die von Bretschneider (1964) entwickelte HTK-Lösung ist natriumarm, calciumfrei und enthält den Natriumkanalblocker Procain zur Induktion einer Kardioplegie. Der Wirkmechanismus ist hier die Aufrechterhaltung der Polarisierung der Zellmembran durch Procain, sodass eine Weiterleitung des Aktionspotentials verhindert wird (Bretschneider et al. 1975, Preusse 1993, Chambers und Hearse 2001).

### **5.1.2 Moderne hyperkaliämische Kardioplegie**

Mitte der 1970er Jahre wurde die Verwendung hyperkaliämischer Lösungen zur Kardioplegie erneut populär. Die hier verwendeten Lösungen basieren auf einer Ionenkonzentration vom extrazellulären Typ und haben eine nur mäßig erhöhte Kaliumchloridkonzentration (Hearse et al. 1981, Chambers und Braimbridge 1993). Das Konzept der modernen hyperkaliämischen Kardioplegie, besteht aus einer moderaten Erhöhung des extrazellulären Kaliumspiegels, was zu einer permanenten Membrandepolarisation der Kardiomyozyten führt, die Fortleitung des Aktionspotentials verhindert und dadurch rasch einen diastolischen Herzstillstand induziert (Chambers und Fallouh 2010). Die daraus folgende elektrische und mechanische Inaktivität führt zu einer starken Reduktion der myokardialen Stoffwechselprozesse, senkt den Sauerstoffverbrauch deutlich und verzögert somit das Einsetzen von irreversiblen Ischämieschäden (Siewert und Stein 2012). Gleichzeitig weisen diese Lösungen eine viel geringere Toxizität auf als zuvor (Chambers und Fallouh 2010). Diese hyperkaliämischen Lösungen haben eine gute kardioprotektive Wirkung, sind relativ sicher, schnell und einfach reversibel (Chambers und Fallouh 2010, Fallouh et al. 2010).

In dieser Zeit wurde in London auch die St. Thomas' Hospital Kardioplegielösung entwickelt (Brambridge et al. 1977). Die erste Version der kardioplegischen Lösung enthält eine Kaliumkonzentration von 20 mmol/l, eine erhöhte Magnesiumkonzentration von 16 mmol / l und eine der physiologischen Plasmakonzentration entsprechenden Konzentration von ionisiertem Calcium. Bei der zweiten Version der kardioplegischen Lösung wurde die Kaliumkonzentration auf 16 mmol/l gesenkt und darauf geachtet, dass jede Komponente der Pufferlösung an die physiologische Plasmakonzentration der jeweiligen Elektrolyte angepasst wurde (Hearse et al. 1976, Jynge et al. 1981). Innerhalb der folgenden Jahre dominierte weltweit die Verwendung von Kardioplegielösungen auf der Basis einer kristalloiden Pufferlösung, wobei die St. Thomas' Hospital Lösung die am häufigsten verwendete kristalloide Kardioplegielösung war (Robinson et al. 1995).

### **5.1.3 Entwicklung der Blutkardioplegie**

Durch Buckberg et. al. kam es zur Entwicklung einer weiteren Variante einer Kardioplegielösung, bei der patienteneigenes Blut als Pufferlösung der hyperkaliämischen Kardioplegielösung verwendet wurde (Follette et al. 1978, Buckberg et al. 1993).

Der besondere Erfolg der Blutkardioplegie erklärt sich dadurch, dass Blut zum einen über verschiedene komplexe Puffersysteme verfügt und zum anderen, dass die im Blut enthaltenen Erythrozyten sowohl Sauerstoff transportieren, als auch Radikale abfangen können (Podesser et al. 1996). Im Jahr 1994 veröffentlichten Calafiore et al. eine Publikation über eine antegrade, intermittierende, warme, hyperkaliämische Blutkardioplegie, welche sie mit einer antegraden, intermittierenden, kalten, kristalloiden Kardioplegielösung verglichen. Hierbei stellten sie statistisch signifikante Vorteile bezüglich Mortalität und Morbidität zugunsten der Blutkardioplegie fest (Calafiore et al. 1995, 1996). Caputo et al. modifizierten 1998 die Blutkardioplegie nach Calafiore durch die Zugabe von Magnesium, wodurch sie noch eine Verbesserung des Substrathaushaltes in der frühen Reperfusionphase erzielen konnten (Caputo et al. 1998).

Im Laufe der Jahre wurden im Wesentlichen zwei verschiedene Arten der Kardioplegie ausführlich untersucht und haben sich als in hohem Maße kardioprotektiv wirksam herausgestellt: die Blutkardioplegie und die kristalloide Kardioplegie. Die Blutkardioplegie hat möglicherweise einen Vorteil gegenüber der kristalloiden Kardioplegie, da sie dem physiologischen Zustand des humanen Kreislaufs eher entspricht, was zu einer geringeren Schädigung des Myokards und besseren klinischen Ergebnissen führen könnte. Die Gabe und Herstellung der Blutkardioplegie ist jedoch komplexer als bei der kristalloiden Kardioplegie, deutlich teurer und bietet eine

schlechtere intraoperative Sicht. Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2012 fasste Daten aus 36 randomisierten Studien zusammen und konnte keinen eindeutigen Vorteil einer Kardioplegieform gegenüber der anderen für einen der harten Endpunkte Mortalität, Myokardinfarkt oder das Low-cardiac-output-Syndrom zeigen (Sá et al. 2012).

Neben der Art der Kardioplegielösung können zudem Parameter bei der Gabe der Kardioplegie variiert werden. Hierbei kann neben der Temperatur (kalt, normotherm oder warm), die Richtung (antegrad über die Aortenwurzel oder retrograd über den Koronarsinus) und das Zeitintervall (kontinuierlich oder intermittierend, mit verschiedenen großen Intervallen zwischen den Dosen) variiert werden (Guru et al. 2006).

Zudem gibt es neben der depolarisierenden hyperkaliämischen Kardioplegie verschiedene weitere Kardioplegiekonzepte. Ein Beispiel wäre hier die direkte Blockade der schnellen Natriumkanalaktivierung durch Natriumkanalblocker (z.B. Lidocain), wodurch das Membranpotenzial in der Nähe des Ruhemembranpotenzial verbleibt. Allerdings werden heute aus o.g. Gründen vor allem kaliumbasierte Lösungen verwendet, um einen künstlichen Herzstillstand zu induzieren und das Myokard während der Herzoperation zu schützen (Chambers 2003).

## 5.2 OPTIMIERUNGSPOTENTIAL DER KARDIOPLEGIE

Da der depolarisierte Herzstillstand, der durch die hyperkaliämische Kardioplegie induziert wird, neben seinen positiven Effekten auch schädliche Effekte auf das ischämische Myokard hat, gibt es ein wachsendes Interesse an alternativen und verbesserten Konzepten, die die Erholung der Funktion optimieren und das Ausmaß der Ischämie-Reperfusionsschädigung verringern. Beispiele für die negativen Effekte am ischämischen Myokard sind: das Erzeugen eines Ionenungleichgewichts (Maruyama et al. 2013), ein fortbestehender Energieverbrauch (Chambers 2003) und eine zunehmende Ischämie-/Reperfusionsschädigung (Fallouh et al. 2009).

Durch die häufigere Anwendung von minimalinvasiven Verfahren, wie die perkutanen Koronarintervention (PCI) oder der Off-Pump-Koronararterien-Bypass-Operation (OPCAB), ändert sich zudem die Population von Patienten, die sich einer Herzoperation mit kardioplegischem Herzstillstand unterziehen. In den letzten 10 Jahren hat die Zahl der Hochrisikopatienten, die sich einer CABG-Operation unterziehen, erheblich zugenommen, was zu schlechteren klinischen Ergebnissen in dieser Patientengruppe geführt hat (Ferguson et al. 2002). Dies scheint vor allen Dingen mit der alternden Bevölkerung, zunehmenden Komorbiditäten wie Diabetes, Adipositas, Bluthochdruck, Schlaganfall, begleitenden Herzklappenerkrankungen und Fortschritten bei der PCI zusammenzuhängen, die dazu geführt haben, dass sich vor allem Patienten mit einer komplexeren Koronararterienerkrankung einer Operation unterziehen (Hausenloy et al.

2012). Es werden heute weniger Patienten mit Ein- und Zweigefäßerkrankungen und gering diffus erkrankten Koronargefäßen operiert (Beckmann et al. 2021), andererseits bleibt die Herzchirurgie für Patienten mit Hauptstammerkrankungen oder Dreigefäßerkrankungen mit diffusere KHK und eingeschränkter LVEF das Mittel der Wahl (Head et al. 2014, Neumann et al. 2018)

Hochrisikopatienten sind allerdings anfälliger für perioperative Myokardschäden und chirurgische Komplikationen wie das Low-Output-Syndrom, den akute Nierenschaden und den Schlaganfall (Hausenloy et al. 2012). Vor allem stark hypertrophe Herzen haben nur eine begrenzte metabolische und kontraktile Reserve, wodurch sie anfälliger für Ischämie und Reperfusionsschäden sind (Ingwall 2009). Trotz wirksamen Strategien zum Schutz des Myokards, ist das Herz dieser Patienten während der Bypass-Operation immer noch einem erheblichen Ischämie-/Reperfusionsschaden ausgesetzt, was zu einem erhöhten Risiko einer perioperative Myokardschädigung mit Beeinträchtigung der systolischen Funktion, sowie einer erhöhten Morbidität und Mortalität führt.

Aus diesem Grund ist es zunehmend besonders relevant die Kardioprotektion während Herzoperationen weiter zu optimieren, um Myokardschäden bestmöglich vorzubeugen, die systolische Funktion größtmöglich zu erhalten und das klinische Outcome der Hochrisikopatienten zu verbessern (Chambers 2005, Hausenloy et al. 2012).

## 6 ESMOLOL-BASIERTE KARDIOPLEGIE

Der kurzwirksame Betablocker Esmolol hat sich bereits als nützliche alternative Kardioplegie zur Hyperkaliämie erwiesen. In experimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass hohe Esmololkonzentrationen ( $\sim 1$  mmol/l) einen diastolischen Herzstillstand auslösen und Esmolol somit eine kardioplegische Wirkung aufweist (Ede et al. 1997, Bessho und Chambers 2001, 2002). Der Vorteil von Esmolol liegt in seinem Abbauweg mit einer Halbwertszeit von 9 Minute durch schnelle Hydrolyse mittels Esterasen in den Erythrozyten (Erhardt et al. 1983), was dazu führt, dass die negative inotrope Wirkung, die zum Zeitpunkt der Reperfusion und Beendigung des kardiopulmonalen Bypasses besteht, rasch nachlässt. Darüber hinaus bedeutet eine Verstoffwechslung von Esmolol durch Erythrozyten, dass die Clearance von Esmolol unabhängig von der Nieren- oder Leberfunktion ist, welche bei Patienten nach dem kardiopulmonalen Bypass beeinträchtigt sein kann.

Bessho et. al. konnten bereits die optimale Dosis von Esmolol bestimmen, die im Langendorff Versuch für die Induktion eines Herzstillstands an isolierten Rattenherzen ausreicht. Dies ist in einem sauerstoffhaltigen Perfusat (kristalloide Kardioplegie) bei einer Konzentration von 1 mmol/l erreicht (Bessho und Chambers 2001). Bei der Gabe einer intermittierenden Infusion mit mehreren Dosen von Esmolol in einer kristalloiden

Kardioplegie, konnten sie zudem einen besseren Schutz des Myokards gegenüber der sog. Cross-Clamp-Fibrillation-Technik (Bessho und Chambers 2001) und der Verwendung der St. Thomas' Hospital Kardioplegielösung nachweisen (Bessho und Chambers 2002).

Darüber hinaus konnten Nishina et. al zeigen, dass die intermittierende Gabe einer hypothermen kristalloiden Esmololkardioplegie (32°C) zu einer statistisch signifikant besseren Kardioprotektion führt, als die Gabe einer kaliumbasierten kristalloiden Kardioplegie. Es wurde sogar herausgefunden, dass das Infusionsintervall zwischen der erneuten Kardioplegiegabe auf bis zu 30 min gestreckt werden kann, ohne dass es zu einer starken Verschlechterung der Herzfunktion kam (Nishina und Chambers 2017).

Daneben gibt es bereits Studien zur kontinuierlichen Perfusion der Koronararterien durch mit hochdosiertem Esmolol angereichertem Blut (Esmolol Blutkardioplegie) als sichere und effektive Technik zur Kardioplegie bei CABG Eingriffen (Kuhn-Régnier et al. 2002). Es gibt sogar Vergleiche zwischen Esmolol Blutkardioplegie mit anderen kristalloiden und Blutkardioplegielösungen, wobei die Esmolol Blutkardioplegie zu einer leicht besseren funktionellen Regeneration und weniger strukturellen Schäden am Myokard führte, aber sich gleichzeitig auch kein Unterschied für die Patienten in harten Endpunkten zeigte (Mehlhorn 1997, Kuhn-Régnier et al. 1999).

Weiterhin wurde bereits gezeigt, dass sich Herzen, bei denen während der Ischämiephase mittels einer blutbasierten Esmololkardioplegielösung ein Herzstillstand induziert wurde, besser erholten als nach der Gabe einer kaliumbasierten Kardioplegielösung (Fujii und Chambers 2013). Wobei Fuji et. al. auch nachweisen konnten, dass eine kristalloide Esmololkardioplegielösung zu einem tendenziell besseren Schutz des Herzens führte.

Leider wurde im Großteil dieser klinischen Studien die kontinuierliche Applikation von Esmolol in einem normothermen Blutperfusat gewählt, welche anstatt einer vollständigen Kardioplegie minimale myokardiale Kontraktionen zulässt.

### *6.1 EINFLUSS VON ESMOLOL UND KALIUM AUF DAS AKTIONSPOTENZIAL*

Das Herz wird vom vegetativen Nervensystem innerviert und in seiner Tätigkeit reguliert. Als Neurotransmitter im sympathischen Teil des autonomen Nervensystems dienen vor allem Noradrenalin und Adrenalin, wodurch verschiedene Effekte auf Kardiomyozyten ausgeübt werden (Frishman 2003, Hoth und Wischmeyer 2012c).

Die Offenwahrscheinlichkeit der L-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle kann über eine cAMP-abhängige Proteinkinase A erhöht werden. Die zelluläre Konzentration des cAMP wird über die membranständige Adenylatzyklase reguliert, die ihrerseits durch die Aktivierung von

Membranrezeptoren wie dem  $\beta_1$ -Adrenorezeptor gesteuert wird (Inui et al. 1987, Bers 2002, Hoth und Wischmeyer 2012b).

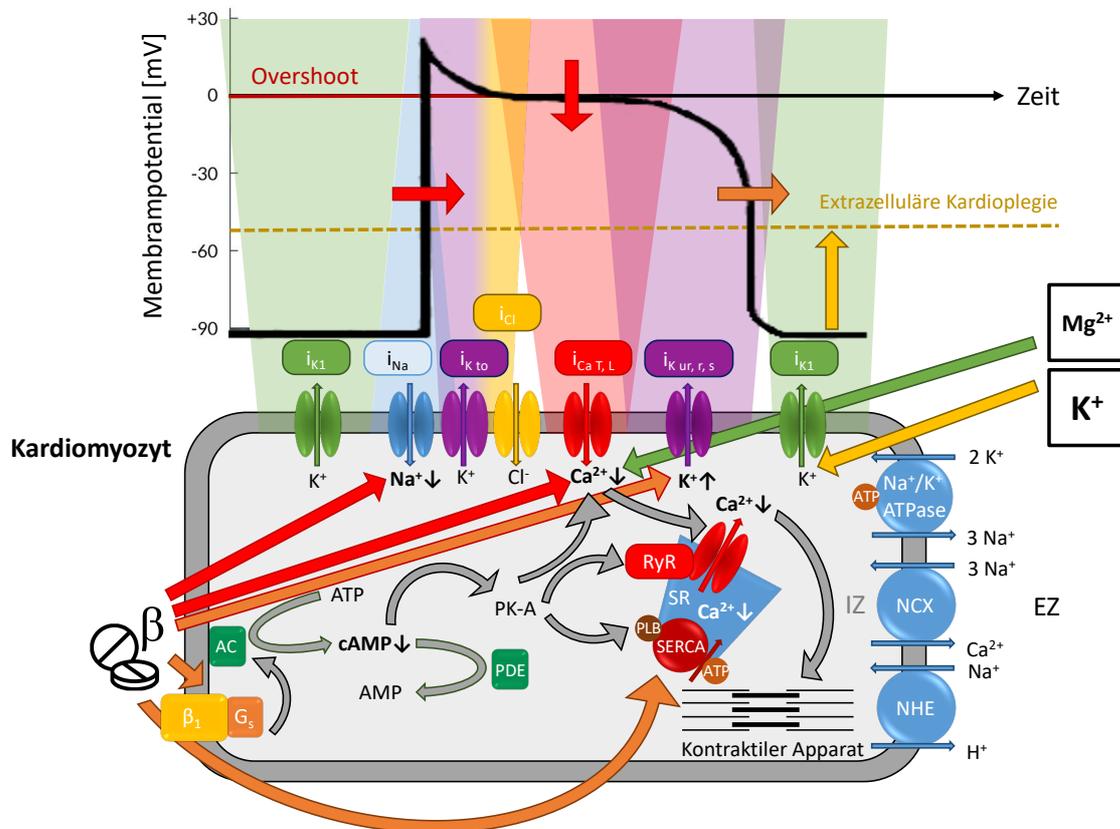


Abbildung 3: Einfluss verschiedener Kardioplegielösungen auf das Aktionspotential im Arbeitsmyokard.  $i_{Na}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $Na^+$ -Kanäle;  $i_{Kto}$  = transienter  $K^+$  Auswärtsstrom;  $i_{Cl}$  =  $Cl^-$  Einwärtsstrom;  $i_{CaT}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte T-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle;  $i_{CaL}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte L-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle bzw. Dihydropyridinrezeptoren;  $i_{Kur,s}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte ultra-schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{Kr}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{Ks}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte langsame  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K1}$  = Auswärtsstrom in Ruhe über  $K^+$ -Kanäle; RyR = Auswärtsstrom über  $Ca^{2+}$ -Kanäle im sarkoplasmatischen Retikulum = Ryanodinrezeptoren; SERCA =  $Ca^{2+}$ -ATPase im sarkoplasmatischen Retikulum; PLB = Phospholamban;  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase =  $Na^+$ - $K^+$ -Austauscher; NCX =  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -Austauscher;  $Ca^{2+}$ -ATPase = Plasma Membran  $Ca^{2+}$ -ATPase im Sarkolemm = PMCA;  $Na^+$  = Natrium;  $K^+$  = Kalium;  $Cl^-$  = Chlorid;  $Ca^{2+}$  = Calcium; IZ = Intrazellulärraum; EZ = Extrazellulärraum; SR = sarkoplasmatischen Retikulum.

Die Steigerung der Kontraktilität des Herzens (positiv inotrope Wirkung) ist durch eine Erhöhung der zytoplasmatischen  $Ca^{2+}$ -Konzentration bedingt. Noradrenalin aktiviert vor allem  $\beta_1$ -Adrenorezeptoren in der Membran der Herzmuskelzellen. Über stimulatorische G-Proteine ( $G_s$ -Proteine) wird ein Anstieg des cAMP-Spiegels ausgelöst. Dies ermöglicht zum einen die cAMP-abhängige Phosphorylierung spannungsaktivierter L-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle in der Plasmamembran der Herzmuskelzellen, wodurch sich deren Offenwahrscheinlichkeit erhöht. Zum anderen kommt es zu einer cAMP-abhängigen Phosphorylierung von Phospholamban, einem regulatorischen Protein an sarkoplasmatischen  $Ca^{2+}$ -ATPase (SERCA), was eine Enthemmung der SERCA zur

Folge hat (Li et al. 2000). Die Blockade der  $\beta$ -Adrenozeptoren hat über die Senkung des cAMP-Spiegels und der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration im Prinzip den umgekehrten Effekt, mit der Folge einer negativ inotropen und negativ lusitropen Wirkung.

Allerdings wurde in experimentellen Studien gezeigt, dass hohe Esmololkonzentrationen von ca. 1 mmol/l zudem einen diastolischen Herzstillstand auslösen können und somit eine kardioplegische Wirkung aufweisen (Ede et al. 1997, Bessho und Chambers 2001, 2002). Für diesen Effekt ist allerdings die 50 bis 100-fache Wirkstoffkonzentration im Vergleich zu den in der klinischen Praxis verwendeten Dosen erforderlich (Shand 1974, Frishman und Silverman 1979).

Esmolol verursacht in hohen Konzentrationen über zwei Mechanismen einen diastolischen Herzstillstand (Frishman und Silverman 1979, Fallouh et al. 2007). Zum einen ist dies weitgehend auf die Hemmung von L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanälen zurückzuführen (Abbildung 3: direkte Wirkung von Esmolol über Hemmung  $I_{\text{Ca}}$ , roter Pfeil), darüber hinaus werden aber auch schnelle  $\text{Na}^+$ -Kanäle gehemmt (Abbildung 3: direkte Wirkung von Esmolol über Hemmung  $I_{\text{Na}}$ , roter Pfeil) (Fallouh et al. 2010). Insgesamt verhindert die Hemmung diese Kanäle eine Weiterleitung des Aktionspotenzials ohne das das Membranpotenzial verändert bzw. wie bei der hyperkaliämischen Kardioplegie depolarisiert wird (Frishman und Silverman 1979, Fallouh et al. 2007).

Die Hemmung dieser Kanäle durch Esmolol ist zudem unabhängig von der Aktivität als Beta- Adrenozeptor-Antagonist, denn sie konnte zum einen in isolierten Herzen und Myozyten ohne Katecholaminstimulation beobachtet werden und zum anderen hatten andere Betablocker wie z.B. Atenolol keine ähnliche hemmende Wirkung (Fallouh et al. 2010).

Durch Blockade der L-Typ Calciumkanäle kommt es zu einem geringeren  $\text{Ca}^{2+}$  Einstrom ( $I_{\text{Ca}}$ ) ins Zytoplasma. Zudem induziert der Calciumeintritt in die Zellen normalerweise die Calciumfreisetzung aus intrazellulären Speicherpools. Dadurch, dass es zu einem verringerten  $\text{Ca}^{2+}$  Einstrom von extrazellulär kommt, kommt es auch zu einer geringeren Aktivierung der  $\text{Ca}^{2+}$ -induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung durch die RyR-Kanäle in der Membran des sarkoplasmatischen Retikulums (Abbildung 3: Calciuminduzierte Calciumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum über den Ryanodinrezeptor-Kanal) (Su 2014). Infolgedessen kommt es zu einer verkürzten und verringerten Plateauphase (Abbildung 3: Plateauphase (rot), roter Pfeil). Insgesamt wird ist somit weniger  $\text{Ca}^{2+}$  zur Bindung an Troponin C vorhanden, mit der Folge von verminderten Kräften, die durch Myokardkontraktionen erzeugt werden.

Die Offenwahrscheinlichkeit der L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle, die Aktivität der SERCA und die Öffnungswahrscheinlichkeit von RyR-Kanälen wird zudem über die zelluläre Konzentration des cAMP moduliert (Valdivia et al. 1995, Bers 2002), die durch die Aktivität von  $\beta$ -Adrenozeptoren gesteuert wird (Inui et al. 1987, Hoth und Wischmeyer 2012b). Bei Blockade der  $\beta$ -Adrenozeptoren durch Betablocker kommt es deshalb neben einer zusätzlichen Hemmung der L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle, zu einer verminderten Aktivität der SERCA und möglicherweise auch des RyR-Kanals (Abbildung 3: indirekte Wirkung von Esmolol, orangener Pfeil). Dadurch fehlt zum einen die positiv inotrope Wirkung der erhöhten  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration im sarkoplasmatischen Retikulum und zum anderen die positiv lusitrope Wirkung durch die SERCA-Aktivität (Abbildung 3: Repolarisationsphase (lila), orangener Pfeil) (Atsuko und M. 1989, Yoshikawa et al. 1996, Hoth und Wischmeyer 2012c).

Die Hemmung des depolarisierenden einwärtsgerichteten Natriumeinstroms ( $I_{\text{Na}}$ ) führt zu einer Verringerung der Anstiegsgeschwindigkeit des intrakardialen Aktionspotentials ohne Beeinträchtigung der Dauer des Spikes oder des Ruhemembranpotentials (Abbildung 3: Depolarisationsphase (blau), roter Pfeil).

Im Gegensatz dazu ist der Wirkmechanismus der hyperkaliämischen Kardioplegie die Erhöhung der extrazelluläre Kaliumkonzentration, woraus ein neues, positiveres (depolarisiertes) Ruhemembranpotenzial resultiert (Abbildung 3: Ruhephase (grün), gelber Pfeil), welches die Fortleitung des Aktionspotentials verhindert und zu einem diastolischen Herzstillstand führt (Chambers und Fallouh 2010) Auch Magnesium wirkt in hohen Konzentrationen kardioplegisch, obwohl es weniger wirksam ist als Kalium und höhere extrazelluläre Konzentrationen benötigt, um einen Herzstillstand zu bewirken (Hearse et al. 1981). Allerdings wird Magnesium eher wegen seiner antiischämischen Wirkung als Zusatz zu anderen Kardioplegielösungen verwendet. Bei Zusatz zu einer hyperkaliämischen Kardioplegie führt eine erhöhte extrazelluläre Magnesiumkonzentration (von 10-20 mmol/L) zu einem Schutz vor einer Calciumüberladung während Ischämie und Reperfusion (Hearse et al. 1978, Brown et al. 1991).

## 7 PROBLEMSTELLUNG

Wie zuvor beschrieben, konnte bereits gezeigt werden, dass die Gabe von Esmolol als intermittierende Infusion das Myokard in der Ischämieperiode besser als eine kontinuierliche Esmololinfusion vor Schäden schützt (Bessho und Chambers 2001) und der protektive Effekt auch bei längeren Ischämieperioden anhält (Bessho und Chambers 2002). Zielsetzung dieser Arbeit ist es an die Ergebnisse von Fujii und Chambers 2013 zu einer statistisch signifikant besseren Kardioprotektion einer Esmolol-basierten Blutkardioplegie gegenüber der kristalloiden St. Thomas' Hospital Kardioplegielösung und von Nishina und Chambers 2017 zu einer statistisch signifikant besseren Kardioprotektion einer Esmolol-basierten kristalloiden Kardioplegie gegenüber der kristalloiden St. Thomas' Hospital Kardioplegielösung anzuknüpfen. Da Herzen mit einem Koronararterienverschluss anfälliger für Ischämie-/Reperfusionsschäden während einer Herzoperation sind, als Herzen mit intaktem Koronarkreislauf, ist hier der Schutz vor Ischämie-/Reperfusionsschäden von größter Bedeutung. Da insbesondere ischämisch vorgeschädigte Herzen von der hemmenden, puffernden und energieausgleichenden Wirkung einer Kardioplegielösung profitieren, erwarteten wir in dem im folgenden beschriebenen Modell einen stärkeren Effekt einer verbesserten Kardioplegie, als bei der Verwendung an Herzen mit einer stabilen Koronarperfusion. Zusätzlich war es ein Ziel die Anwendungsgebiete und -kriterien verschiedener Kardioplegielösungen in weiteren klinischen Situationen, in diesem Fall im akuten Myokardinfarkt, zu untersuchen und Optimierungspotential zu finden.

Da es weder experimentelle Daten für die intermittierende Gabe von Kardioplegielösungen auf Esmololbasis mit einem verlängerten Infusionsintervall zwischen den Gaben im Vergleich zu anderen blutbasierten Kardioplegielösungen, noch entsprechende Untersuchungen in einem mit Blutperfusat perfundierten Langendorffapparat gibt, war das Ziel dieser Arbeit zu untersuchen, wie sich die Gabe verschiedener Kardioplegielösungen in einem realitätsnahen Rahmen auf die Erholung der Leistungsparameter und den Ischämie-/Reperfusionsschaden auswirkt. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit eine Esmolol-basierte kristalloide Kardioplegie und eine Esmolol-basierte Blutkardioplegie, mit den hyperkaliämischen Blutkardioplegielösungen nach Calafiore und Buckberg in einem tierexperimentellen Infarktmodell einer Ischämieperiode mit darauffolgender Reperfusion unterzogen und miteinander verglichen. Ausschlaggebend für den Entschluss zur Verwendung der Kardioplegielösungen nach Calafiore und Buckberg als Kontrollgruppen in dieser Arbeit war, dass die Blutkardioplegie heute die am häufigsten verwendete Form der

hyperkaliämischen Kardioplegie ist und beide Lösungen aufgrund ihrer einfachen Formulierung reproduzierbar herzustellen sind (Robinson et al., 1995; Karthik et al., 2004, Chambers und Fallouh 2010).

Im Detail sollen folgenden Fragestellungen eruiert werden:

- Kann eine Esmolol-basierte Kardioplegie bei Ischämie-Reperfusionsschäden im akuten Infarkt angewendet werden?
- Kann Esmolol-basierte Kardioplegie eine bessere Erholung des Myokards von Ischämie-Reperfusionsschäden als die Verwendung von Calafiore Blutkardioplegie bewirken?
- Kann Esmolol-basierte Kardioplegie eine bessere Erholung des Myokards von Ischämie-Reperfusionsschäden bewirken als die Buckberg Blutkardioplegie?
- Bietet eine normotherme Esmolol-basierte Blutkardioplegie im Vergleich zu einer hypothermen Esmolol-basierten kristalloiden Kardioplegie einen Vorteil bezüglich der Erholung des Myokards von Ischämie-Reperfusionsschäden?

## II MATERIAL UND METHODEN

Bei den Versuchen dieser Arbeit erfolgte eine Herzentnahme bei Ratten mit anschließender isolierter Organperfusion nach Langendorff. Im Langendorff-Apparat konnten die Perfusion, Ischämie und Reperfusion, in verschiedenen Versuchsgruppen mit unterschiedlichen Kardioplegiezugaben simuliert werden. Nach der Organperfusion wurden die Herzen angefroren, Herzschnitte hergestellt und mit einer Vitalitätsfärbung gefärbt. Die Versuchsprotokolle bauten dabei auf etablierte Methoden und Erfahrungen der eigenen Arbeitsgruppe auf (Böning et al. 2014, 2015).

### 8 CHEMIKALIEN

Calciumchlorid Dihydrat EG: 2331408	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Carbogen (5% CO <sub>2</sub> in 95% O <sub>2</sub> )	Nippon Gases Deutschland GmbH (vormals: Praxair Deutschland GmbH) D-40476 Düsseldorf
D(+)-Glukose wasserfrei EG: 2000751	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
EDTA Dinatriumsalz Dihydrat (Titerkomplex III) EG: 2054583	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Kaliumchlorid EG: 2312118	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Kaliumdihydrogenphosphat EG: 2319134	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
LAC 142	Diaglobal GmbH D-12555 Berlin
Magnesiumsulfat-Heptahydrat EG: 2312982	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Natriumchlorid (Sodium chloride) CAS: 7647-14-5	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Natriumhydrogencarbonat EG: 2056338	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe

Natriumhydrogenphosphat-Monohydrat EG: 2314492	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
Paraformaldehyd	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
PBS Tablets	Gibco by life technologies Grand Island, NY, 14072, USA
pH 10.01	Hanna Instruments, Inc Woonsocket, RI 02895 USA
pH 4.01	Hanna Instruments, Inc Woonsocket, RI 02895 USA
pH 7.01	Hanna Instruments, Inc Woonsocket, RI 02895 USA
RBS 35 Konzentrat	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe
SERVA Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) CAS: 298-96-4	SERVA Electrophoresis GmbH D-69115 Heidelberg

Tabelle 1: Verwendete Chemikalien

## 9 PHARMAKA

Brevibloc® 10 mg/ml Infusionslösung	Baxter Deutschland GmbH D-85716 Unterschleißheim
BSA (Bovine Serum Albumin), heat shock fraction, pH 7,0	Sigma-Aldrich Chemie GmbH D-89555 Steinheim
Custodiol® Kardioplegische Lösung	Dr. Franz Köhler Chemie GmbH D-64625 Bensheim
Gentamicin-ratiopharm 80 mg/ ml SF	Ratiopharm GmbH D-89079 Ulm
Heparin-Natrium-25000-ratiopharm	Ratiopharm GmbH D-89079 Ulm
Insuman® Rapid 40 I.E./ ml	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH D-65926 Frankfurt
Isofluran Baxter	Baxter Deutschland GmbH D-85716 Unterschleißheim

Tabelle 2: Verwendete Pharmaka

## 10 GERÄTE

Absaugpumpe egnell compact 25	Ameda B-1800 Vilvoorde Belgien
Analysenwaage Kern ABS 120-4	Kern & Sohn GmbH D-72336 Balingen
Aortenkanüle aus Edelstahl ID: 1,5 mm AD: 2,0 mm	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
BGA Gerät ABL 800 flex	Radiometer GmbH D-47807 Krefeld
Fiberoxygenator D150	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
BGA Gerät Rapidlab 348	Siemens, D-65760 Eschborn
BioShake iQ	Quantifoil Instruments GmbH D-07749 Jena
Brückenverstärker	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
CELLSTAR® Polypropylen Röhrenchen 50 ml	Greiner Bio-One GmbH D-72636 Frickenhausen
Changeable Adapter Plate BioShake Tubes. 24x 1.5 ml. 15x 0.5 ml	Quantifoil Instruments GmbH D-07749 Jena
Druckaufnehmer Braun Combitrans	B. Braun, Melsungen AG D-34209 Melsungen
Effluat Funnel	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Eppendorf Safe-Lock Tubes, 1,5 ml, PCR clean, ambra (Lichtschutz)	Eppendorf AG D-22339 Hamburg
Exsikkator Duran 2,4 l	Carl Roth GmbH + Co. KG, D-76185 Karlsruhe
Falcon™ konische Zentrifugenröhrenchen, 15 ml	Fisher Scientific GmbH D-58239 Schwerte

Fluovac	Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Haemonetics® SQ40 High Blood Flow Filter	Haemonetics Puerto Rico, LLC Fajardo, Puerto Rico 00738, USA
HI 2215 pH/ORP-Meter	Hanna Instruments, Inc Woonsocket, RI 02895 USA
Isofluranverdampfer	Völker GmbH D-24568 Kaltenkirchen
Isolated Heart ICH-SR Apparatus Type: 844/1	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Lactat Photometer plus DP110	Diaglobal GmbH D-12555 Berlin
Latexballon Größe 5/6	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Leica Application Suite Version 4.12.0	Leica Microsystems GmbH D-35578 Wetzlar
Leica DB80 LS Mikrotomklinge	Leica Biosystems Inc. D-69226 Nußloch
Leica EG 1150 C Kühlplatte	Leica Biosystems Inc. D-69226 Nußloch
Leica IC80 HD Mikroskopkamera	Leica Microsystems GmbH D-35578 Wetzlar
Leica Stereomikroskop M60	Leica Microsystems GmbH D-35578 Wetzlar
Leica Okular 10x/23 #10450630	Leica Microsystems GmbH D-35578 Wetzlar
Leica 0.50x Achromat Objective #10450192	Leica Microsystems GmbH D-35578 Wetzlar
Leica Ringlicht Leica LED3000 RL	Leica Microsystems GmbH D-35578 Wetzlar
Magnetrührer yellow line yellow MAG HS 7	IKA-Werke GmbH & Co. KG D-79219 Staufen
PERMA-HAND SEIDE Nahtmaterial 0	Johnson & Johnson Medical GmbH D-22851 Norderstedt

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 1000 µl	Eppendorf AG D-22339 Hamburg
Pipetten Eppendorf Research 5 ml	Eppendorf AG D-22339 Hamburg
Pipettenspitze 1000 µl	Sarstedt AG & Co D-51588 Nümbrecht
Pipettenspitze 5 ml	Sarstedt AG & Co D-51588 Nümbrecht
Präzisionswaage EMB 2200-0	Kern & Sohn GmbH D-72336 Balingen
Prolene Nahtmaterial 6-0	Johnson & Johnson Medical GmbH Ethicon Deutschland D-22851 Norderstedt
Schlauchpumpe Ismatec Reglo digital ISM 834/230	Ismatec-Idex Health & Science GmbH D-97877 Wertheim
Software HA-HSE Isoheart W	Hugo Sachs Elektronik - Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Tygon Pumpenschläuche (ID: 3,18 mm)	Ismatec-Idex Health & Science GmbH D-97877 Wertheim
Veterinary Fluosorber	Harvard apparatus GmbH D-79232 March-Hugstetten
Vortexer IKA® MS 3 basic	IKA®-Werke GmbH & Co. KG D-79219 Staufen
Wärmepumpe Ecoline Lauda E100	Lauda Dr. R Wobser GmbH & Co. KG D-97922 Königshofen
Zentrifuge 4-16-K	Sigma D-37520 Osterode am Harz
DURAN™ GL 45 Laborflaschen aus Glas mit Schraubverschluss	Fisher Scientific GmbH D-58239 Schwerte

PAPSTAR Frischhaltefolie	PAPSTAR GmbH D-53925 Kall
Gut & Günstig Alufolie	EDEKA ZENTRALE AG & Co. KG D-22291 Hamburg
Messkolben, Borosilikat, klar, 500 ml Klasse A, Y285.1	Carl Roth GmbH + Co. KG D-76185 Karlsruhe

Tabelle 3: Verwendete Geräte

## 11 VERSUCHSTIERE

Für die Versuche wurden die Herzen von erwachsenen (Alter: 3-4 Monate), männlichen Albinoratten der Auszuchtlinie Wistar, RjHan:WI verwendet. Gezüchtet und geliefert wurden sie von der Firma Janvier Labs (Route des Chênes Secs, F-53940 Le Genest-Saint-Isle, Saint-Berthevin). In Gießen wurden sie im Tierstall des Physiologischen Institutes der Justus- Liebig-Universität nach dem deutschen Tierschutzgesetz (TierSchG) und den „Principles of laboratory animal care“ (National Research Council (U.S.) 2011) gehalten und hatten vor Versuchsbeginn eine mindestens 14-tägige Eingewöhnungszeit. Im Tierstall erhielten sie freien Zugang zu Wasser und Futter. Die Anzeige der Tötung von Wirbeltieren zu wissenschaftlichen Zwecken nach § 4 (3) TierSchG erfolgte gegenüber den regionalen Behörden (Regierungspräsidium Gießen).

## 12 KREBS-HENSELEIT PUFFERLÖSUNG

### 12.1 HERSTELLUNG DER KREBS-HENSELEIT PUFFERLÖSUNG

Zur Organperfusion wurde eine modifizierte Krebs-Henseleit Pufferlösung hergestellt (Krebs und Henseleit 1932, Böning et al. 2018a). Zunächst wurden zu 2,5 l destilliertem Wasser 20,25 g NaCl und 8,1 g Glukose hinzugegeben. Die so hergestellte Lösung wurde im Folgenden kontinuierlich mit Carbogen (5% Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) in 95% Sauerstoff (O<sub>2</sub>)) begast. Als nächstes wurde 505 ml destilliertes Wasser mit 6,8 g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) versetzt und anschließend zu der ersten Lösung hinzugegeben. Zusätzlich wurde diesem Gemisch 50 ml CaCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O- (149,37 mM), 50 ml KCl- (231,36 mM), 50 ml MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O- (77,49 mM), 50 ml KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>- (78,63 mM) und 50 ml EDTA · 2 Na · 2 H<sub>2</sub>O-Lösung (32,80 mM) hinzugefügt und anschließend auf einem Magnetrührer umgerührt, bis die festen Bestandteile aufgelöst waren. Die fertige Pufferlösung wurde abschließend durch einen POR1 Filter mit der Porengröße 1,2 µm in Vorratsflaschen abgefüllt und bei 4°C im Kühlschrank gelagert.

## 12.2 ZUSAMMENSETZUNG DER KREBS-HENSELEIT PUFFERLÖSUNG

Komponenten	Konzentration [mmol/l]
NaCl	115,3
NaHCO <sub>3</sub>	26,9
KCl	3,89
MgSO <sub>4</sub>	1,3
CaCl <sub>2</sub>	2,5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,3
Glucose	15
Na-EDTA	0,54

Tabelle 4: Zusammensetzung und Konzentrationen der Krebs-Henseleit Pufferlösung.

Die Tabelle 4 zeigt die Zusammensetzung der Krebs-Henseleit Pufferlösung mit entsprechender Konzentration der Komponenten, die für die Produktion des Erythrozytenperfusats und der Kardioplegielösungen verwendet wurde. Der Puffer wurde während der Zubereitung durch eine Gasmischung mit 95% O<sub>2</sub> und 5% CO<sub>2</sub> begast.

## 13 ERYTHROZYTENPERFUSAT

### 13.1 HERSTELLUNG DES ERYTHROZYTENKONZENTRATS

In regelmäßigen Abständen erfolgte die Abholung von Blut frisch geschlachteter Rinder bei einem Schlachthof. Anschließend wurde das aufgefangene Rinderblut in vorher vorbereitete wiederverschließbare Plastikflaschen mit 1,5 ml Heparin-Natrium-25000 I.E. pro 1 l Blut überführt.

Im Labor erfolgte mit kurzmöglichster zeitlicher Verzögerung die Aufbereitung des Bluts. Das durch Heparin gerinnungsunfähige Blut wurde bei der Drehzahl von 3040/min mit dem 1498-fachen der Gewichtskraft der Erde (G) für 5 Minuten (min) zentrifugiert und ohne Bremse ausdrehen gelassen, um ein Aufwirbeln der Blutbestandteile nach dem Zentrifugieren zu vermeiden. Anschließend wurde der Überstand und der Buffy-coat mit einem OP-Sauger abgesaugt und verworfen.

Für die folgende Reinigung wurden die verbliebenen Blutbestandteile mit 250 ml 0,9% Natriumchloridlösung (NaCl-Lösung) aufgefüllt, erneut bei der Drehzahl 3040/min mit 1498 G für 5 min ohne Bremse zentrifugiert und nachfolgend der Überstand abgesaugt. Der beschriebene Waschvorgang wurde insgesamt dreimal durchgeführt, um die Erythrozyten bestmöglich vom Serum zu trennen.

Darauffolgend wurde das Erythrozytenkonzentrat zur Lagerung 1:1 mit 0,9% NaCl-Lösung gemischt, mit 15 mg Gentamycin pro 500 ml versetzt, durch einen Bluttransfusionsfilter mit der Porengröße 40 µm in Glasflaschen mit je 250 ml Füllungsvolumen abgefüllt und bei 4°C im Kühlschrank für maximal 1,5 Wochen gelagert.

### *13.2 HERSTELLUNG DES ERYTHROZYTENPERFUSATS*

Bei jedem der Versuche wurde das Erythrozytenperfusat direkt vor dem Start des jeweiligen Versuchs frisch zubereitet. Zunächst wurde vor jeder Verwendung der Überstand des Erythrozytenkonzentrats auf eine sichtbare Trübung geprüft, um eine Kontamination mit Mikroorganismen oder einen erheblichen Anteil an hämolysierten Erythrozyten auszuschließen.

Danach wurden 250 ml des Erythrozyten-NaCl-Gentamycin-Gemisches mit einer Drehzahl von 3040 bei 1498 G für 5 Minuten ohne Bremse zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Für den Waschvorgang wurde das verbliebene Erythrozytenkonzentrat mit der modifizierten Krebs-Henseleit Pufferlösung auf 250 ml aufgefüllt und bei einer Drehzahl 3040 mit 1498 G für 5 min ohne Bremse zentrifugiert und der Überstand anschließend erneut abgesaugt. Dieser Waschvorgang wurde erneut insgesamt dreimal durchgeführt.

Anschließend wurden 250 ml der modifizierten Krebs-Henseleit Pufferlösung mit 5 g bovinem Serumalbumin (BSA) und 1 I.E. Insulin versetzt und auf einem Magnetrührer miteinander vermischt. Diese Lösung wurde danach im Verhältnis 1:1 mit den 250 ml gewaschenen Erythrozytenkonzentrat vermischt und so das Erythrozytenperfusat für die Versuchsanordnung hergestellt.

### *13.3 ZUSAMMENSETZUNG DES ERYTHROZYTENPERFUSATS*

Die Hämoglobinkonzentration des Erythrozytenperfusats aller Organperfusionsversuche lag im Bereich von 2,1g/l – 12,7 g/l. Der Mittelwert betrug 7,4 g/l mit einer Standardabweichung von 1,9 g/l.

## 14 ORGANPERFUSION IM LANGENDORFF APPARAT

Dieses Verfahren zur Perfusion isolierter Säugetierherzen wurde zuerst vom deutschen Physiologen Oscar Langendorff beschrieben. Im Jahr 1895 entwickelte dieser eine Methode für die isolierte Perfusion von Warmblüterherzen (Langendorff 1897). Die Blutversorgung des Myokards und damit die Aufrechterhaltung der Herzfunktion wird dabei durch eine retrograde Perfusion der Koronararterien über eine Pumpe gewährleistet. Hierbei wird eine Kanüle in den präparierten Aortenstumpf eingeführt, wobei es durch den entstehenden Perfusionsdruck zu einem Verschluss der Aortenklappe kommt, sodass die Koronarostien freigelegt werden und die Koronararterien durchblutet werden.

### 14.1 AUFBAU DES LANGENDORFF APPARATS

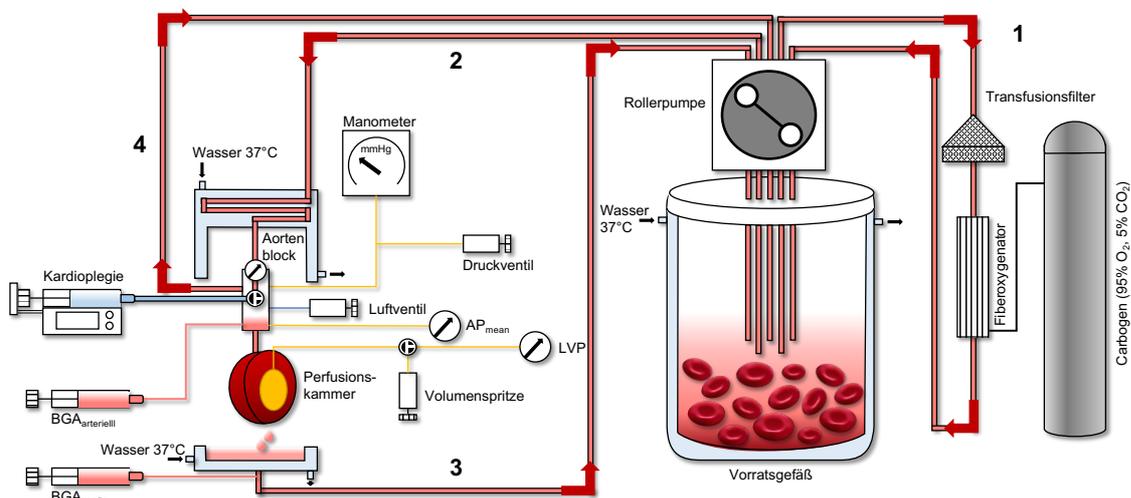


Abbildung 4: Experimenteller Versuchsaufbau mit einem Langendorff Apparat. Das Perfusat wurde gefiltert, mit Sauerstoff angereichert (1) und mithilfe einer Schlauchpumpe (rote Pfeile) zum Aortenblock (2) gepumpt. Es wurde ein konstanter Perfusionsdruck von 70 mmHg eingestellt, mit welchem das Herz perfundiert wurde. Überstieg der aktuelle Druck den eingestellten Sollwert, öffnete sich ein Überdruckventil, das den übermäßigen Fluss in das Vorratsgefäß zurückgeleitet hat (4). Das aus dem Herzen abtropfende Koronarsinusblut wurde gesammelt und rezirkuliert ebenfalls (3). Ein Latexballon im linken Ventrikel war mit einem Druckwandler verbunden, um den vom Myokard aufgebauten Druck zu messen. BGA: Blutgasanalyse; APmean: mittlerer Aortendruck; LVP: linksventrikulärer Druck.

Der Organperfusionsapparat nach Langendorff (UG-SR Type 844, Hugo Sachs, Hugstetten, Deutschland) bestand bei unseren Versuchen aus einem Vorratsgefäß, einer Organperfusionskammer und zwei voneinander getrennten Blutkreisläufen, die über eine Schlauchpumpe in Bewegung gehalten wurden. Das Vorratsgefäß und die Organperfusionskammer bestanden jeweils aus doppelwandigem Plexiglas und wurden von 37°C warmen Wasser durchspült, um eine Organ- bzw. Bluttemperatur von 36°C, analog zur physiologischen Situation im Körper des Patienten, zu erreichen.

Der erste Kreislauf (Abbildung 4: 1 = Oxygenierungskreislauf) sorgte während der Versuche dafür, dass das Erythrozytenperfusat aus dem Vorratsgefäß kontinuierlich durch einen Bluttransfusionsfilter mit einer Porengröße von 40 µm gefiltert wurde. Durch die Filterung sollten Mikroaggregate aus noch verbliebenen Leukozyten, Fibrin und Thrombozyten, die sich bei der Lagerung des Erythrozytenperfusats gebildet hatten, sowie andere Partikel und Verunreinigungen zurückgehalten werden (Snyder et al. 1981). Zusätzlich wurde im Oxygenierungskreislauf das Erythrozytenperfusat mit Carbogen (5% CO<sub>2</sub> und 95% O<sub>2</sub>) begast, um die Erythrozyten mit Sauerstoff zu sättigen. Um das zu erreichen floss das Erythrozytenperfusat durch einen Fiberoxygenator von oben nach unten und das Gas wurde, gegenläufig hierzu, von unten nach oben geleitet. Dadurch sollte ein möglichst hoher Konzentrationsgradient erreicht werden und damit eine bestmögliche Diffusion des Sauerstoffs gewährleistet werden. Zusätzlich sollte die Zugabe des Gases über einen Fiberoxygenator ein Aufschäumen des Erythrozytenperfusat verhindern und so Schäden der Erythrozyten vermeiden (Sutherland und Hearse 2000). Anschließend wurde das gefilterte und oxygenierte Erythrozytenperfusat zurück in das Reservoir geleitet.

Im zweiten Kreislauf wurde das Erythrozytenperfusat über die Schlauchpumpe zur Organperfusionskammer geleitet (Abbildung 4: 2 = Zufluss Organperfusionskammer). Dort wurde das Erythrozytenperfusat durch den Aortenblock über eine Metallkanüle in die präparierte Aorta des Rattenherzens geleitet. Das Rattenherz war hierbei mit einer Fadenligatur an der Metallkanüle fixiert. Im Aortenblock befand sich außerdem ein Ventil zur Regulierung des mittleren Aortendrucks, wodurch den Koronargefäßen die, insbesondere bei Ischämie-Reperfusionsexperimenten, wichtige Fähigkeit der Autoregulation des Tonus gelassen wird (Liao et al., 2012). Daneben befand sich im Aortenblock eine Luftfalle, sodass keine Gasblasen in die Koronararterien gelangen und konsekutiv eine Luftembolie auslösen konnten. Zusätzlich fanden sich an der Organperfusionskammer Zugänge für die Hinzugabe der Kardioplegielösung, die Entnahme der präkardialen bzw. arteriellen Proben für die Blutgasanalyse und einen Überlauf bzw. Rückfluss (Abbildung 4: 4 = Überlauf Organperfusionskammer), wenn in der Ischämiephase der Zufluss zum Herzen geschlossen war. Über den Rücklauf gelangte das Erythrozytenperfusat wieder in das Vorratsgefäß und konnte erneut in die beiden Kreisläufe eingespeist werden.

Wenn der Druck im Zufluss zur Organperfusionskammer den Sollwert überschritten hat, öffnete der Druckregler ein Überdruckventil, um einen Teil des Erythrozytenperfusats in das Perfusionsreservoir zurück zu leiten.

Während der Perfusionsphase gelangte das Erythrozytenperfusat über die Koronararterien, durch das Kapillarbett des Myokards, in den Sinus coronarius und von

dort in den rechten Vorhof des Herzens. Nach der Füllung des rechten Ventrikels in der Diastole wurde das Erythrozytenperfusat in der Systole über den Stumpf des Truncus pulmonalis ausgetrieben, konnte auf der Außenseite des Herzens ablaufen und in die Auffangschale abtropfen. Von dort gelangte es über den Rücklauf (Abbildung 4: 3 = Rückfluss Organperfusionskammer) zurück in das Vorratsgefäß. Über einen Zugang im Rücklauf ließen sich postkardiale bzw. venöse Proben des Erythrozytenperfusats für die Blutgasanalyse abnehmen.

Der Aortenblock enthielt außerdem eine Flusssonde, die den Koronarfluss misst und eine Drucksonde, die den Perfusionsdruck (mittlerer Aortendruck =  $AP_{\text{mean}}$ ) misst. Daneben befand sich ein elastischer Latexballon im linken Ventrikel, der mit einem Druckaufnehmer zur Messung des isovolumentrischen systolischen ( $LVP_{\text{sys}}$ ) und diastolischen Drucks ( $LVP_{\text{dia}}$ ) und der Herzfrequenz (HR) verbunden war.

## 14.2 ORGANPRÄPARATION

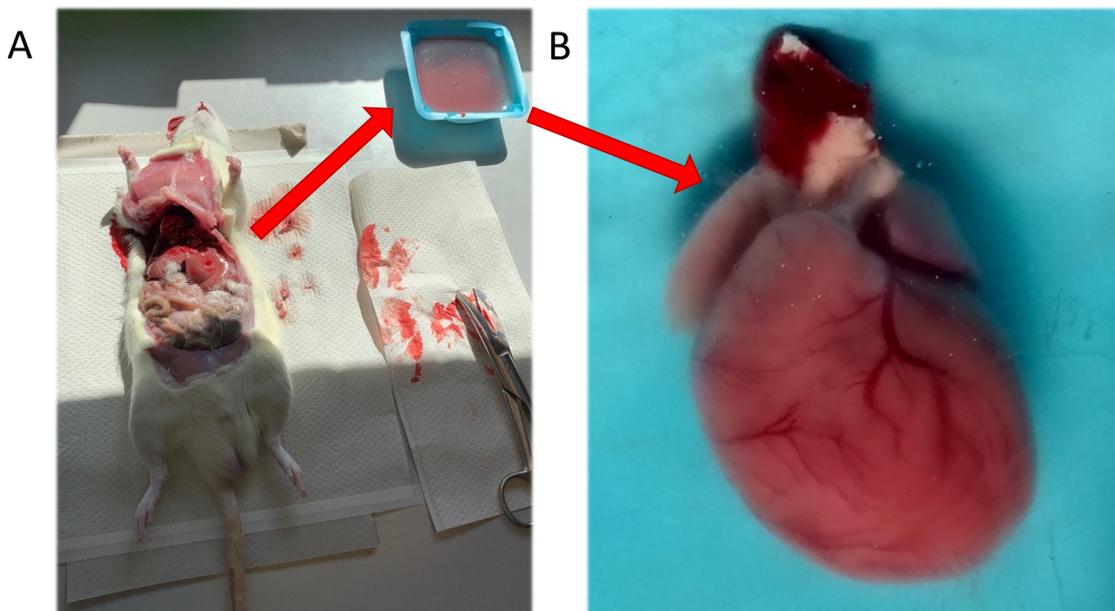


Abbildung 5: A: Organpräparation am Versuchstier. B: Präpariertes Rattenherz mit abgesetzter Aorta, Herzohren und linker Koronararterie (LCA) mit Gefäßabgängen.

Die Ratten wurden am Tag des Versuchs aus dem Gehege im Tierstall des Physiologischen Instituts Gießen in den Laborraum gebracht und in einen Exsikkator gesetzt. Nach Narkose mit Isofluran erfolgte die Tötung zur Organentnahme durch Genickbruch (Abbildung 5A). Das Herz wurde mindestens 1cm oberhalb der Aortenklappe abgesetzt und in zuvor vorbereitete 4°C kalte 0,9% NaCl-Lösung gegeben. Anschließend wurde der Abgang der RIVA aus der LCA unterhalb des linken Herzohres für die spätere Klemmung identifiziert (Abbildung 5B).

## 14.3 ORGANPERFUSION

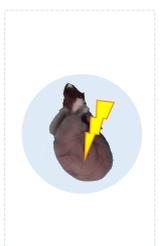
Zunächst wurde das zuvor vorbereitete Erythrozytenperfusat in das Vorratsgefäß der Langendorff Apparatur gegeben, auf 36°C erwärmt und mit Carbogen begast. Zur pH-Korrektur des Erythrozytenperfusat wurden 1,3 g NaHCO<sub>3</sub> zu 100 ml Pufferlösung gegeben und zwischen 10-25 ml hiervon in das Erythrozytenperfusat titriert, bis ein physiologischer pH-Wert im Bereich von 7,33 – 7,4 erreicht war. Die Kontrolle des pH-Werts erfolgte durch wiederholte Blutgasanalysen des Blutperfusats.

Nachdem das Herz in der NaCl-Lösung präpariert wurde, erfolgte das vorsichtige Einführen der Kanüle des Aortenblocks in den Aortenstumpf. Über den linken Vorhof wurde nun der Latexballon in den linken Ventrikel eingeführt und bis zu einem linksventrikulären enddiastolischen Druck von 10-12 mmHg aufgepumpt. Um die klinische Situation einer warmen (36°C) extrakorporalen Zirkulation zu imitieren, waren die Herzen in einer geschlossenen, doppelwandigen, von warmem Wasser (37°C) umspülten Organperfusionskammer umgeben.

Anschließend erfolgte die retrograde Perfusion des Herzens über den Aortenblock mit dem Blutperfusat und einem Perfusionsdruck von 70 mmHg in die Koronararterien. Dabei wurden kontinuierlich die Herzfrequenz (HR), der linksventrikuläre Druck (LVP) und der mittlere Aortendruck (AP<sub>mean</sub>) aufgezeichnet.

## 15 VERSUCHSGRUPPEN

Die Versuchsreihen bestanden aus vier Versuchsgruppen. Während der Organperfusion in der Langendorff-Apparatur erhielten zwei Gruppen in der Ischämiephase eine Esmolol-basierte Kardioplegielösung, die anderen beiden Gruppen erhielten dagegen eine klinisch bereits etablierte Blutkardioplegielösung (Abbildung 6).



Gruppe	Beschreibung	N
1	Esmolol kristalloide Kardioplegie (ECCP) + Myokardinfarkt	8
2	Esmolol Blutkardioplegie (EBCP) + Myokardinfarkt	8
3	Calafiore's Blutkardioplegie + Myokardinfarkt	8
4	Buckberg's Blutkardioplegie + Myokardinfarkt	8

Abbildung 6: Versuchsgruppen: ECCP = Esmolol kristalloide Kardioplegie, EBCP = Esmolol Blutkardioplegie, Calafiore Blutkardioplegie, Buckberg Blutkardioplegie. N = Anzahl Versuchstiere pro Gruppe.

## 15.1 HERSTELLUNG DER KARDIOPLEGIELÖSUNGEN

### 15.1.1 Esmolol kristalloide Kardioplegielösung (ECCP)

Der kurzwirksame Betablocker Esmolol (Brevibloc; Baxter, Unterschleißheim, Deutschland) wurde in Ampullen mit 10 ml einer 10-mg/ml-Lösung bereitgestellt. Zur Herstellung der kristalloiden Esmolol Kardioplegielösung wurden zu 100 ml der oben beschriebenen modifizierten Krebs-Henseleit Pufferlösung 3 ml Esmolol hinzugegeben, um eine Konzentration von 1 mmol/l Esmolol in der Kardioplegielösung zu erreichen. Die kristalloide Esmolol Kardioplegielösung wurde während der Ischämiephase im 20 Minuten Intervall jeweils mit einer Temperatur von 32°C über einen Zeitraum von 3 min appliziert.

Komponenten	Konzentration [mmol/l]
Esmolol	1,00
Na <sup>+</sup>	127,33
K <sup>+</sup>	4,47
Ca <sup>2+</sup>	1,49
Glucose	235,00
Laktat	unterhalb berichtbar
pH	7,57
pCO <sub>2</sub>	30,35
pO <sub>2</sub>	240,00
sO <sub>2</sub>	...
Hb	unterhalb berichtbar

*Tabelle 5: Zusammensetzung und Konzentrationen der Esmolol kristalloiden Kardioplegielösung (ECCP). Die Konzentrationen sind für die gebrauchsfertige Mischung aus Pufferlösung und Esmolol angegeben. Na<sup>+</sup> = Natrium, K<sup>+</sup> = Kalium, Ca<sup>2+</sup> = Calcium, pCO<sub>2</sub> = Kohlendioxidpartialdruck, pO<sub>2</sub> = Sauerstoffpartialdruck, sO<sub>2</sub> = Sauerstoffsättigung, Hb = Hämoglobinkonzentration.*

Die Tabelle 5 zeigt die Zusammensetzung der Esmolol kristalloiden Kardioplegielösung (ECCP) mit der Konzentration der Komponenten, die in den Kardioplegielösungen verwendet wurde. Sowohl der Laktatgehalt, als auch der Hämoglobingehalt der Lösung lag unterhalb des messbaren Bereichs. Aus diesem Grund war es für das Blutgasanalysegerät auch nicht möglich eine Sauerstoffsättigung zu ermitteln.

### 15.1.2 Esmolol Blutkardioplegielösung (EBCP)

Zur Herstellung der Esmolol Blutkardioplegielösung wurden 50 ml des oben beschriebenen Erythrozytenperfusats mit 50 ml der oben beschriebenen modifizierten Krebs-Henseleit Pufferlösung im Verhältnis 1:1 vermischt und dazu 3 ml Esmolol hinzugegeben, um eine Konzentration von 1 mmol/l Esmolol in der Blutkardioplegielösung zu erreichen. Die Esmolol Blutkardioplegielösung wurde während der Ischämiephase im 20 Minuten Intervall jeweils mit einer Temperatur von 36°C über einen Zeitraum von 3 min appliziert.

Komponenten EBCP	Konzentration [mmol/l]
Esmolol	1,00
Na <sup>+</sup>	137,67
K <sup>+</sup>	4,37
Ca <sup>2+</sup>	1,25
Glukose	206,00
Laktat	0,37
pH	7,38
pCO <sub>2</sub>	34,73
pO <sub>2</sub>	413,33
sO <sub>2</sub>	99,9%
Hb	10,97

*Tabelle 6: Zusammensetzung und Konzentrationen der Esmolol Blutkardioplegielösung (EBCP). Die Konzentrationen sind für die gebrauchsfertige Mischung aus Pufferlösung, Erythrozytenperfusat und Esmolol angegeben. Na<sup>+</sup> = Natrium, K<sup>+</sup> = Kalium, Ca<sup>2+</sup> = Calcium, pCO<sub>2</sub> = Kohlendioxidpartialdruck, pO<sub>2</sub> = Sauerstoffpartialdruck, sO<sub>2</sub> = Sauerstoffsättigung, Hb = Hämoglobinkonzentration.*

Die Tabelle 6 zeigt die Zusammensetzung der Esmolol Blutkardioplegielösung (EBCP) mit der Konzentration der Komponenten, die in den Kardioplegielösungen verwendet wurde. Im Gegensatz zur ECCP lag der Hämoglobingehalt der Kardioplegielösung bei 10,97 g/dl und es lag eine Sauerstoffsättigung von 99,9% vor.

### 15.1.3 Blutkardioplegielösung nach Calafiore (Cala)

Bei der Herstellung der Blutkardioplegielösung nach Calafiore wurden zunächst 10 ml KCl (14,9%) mit 2 ml  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (2.9 mmol Kaliumchlorid und 1.3 mmol Magnesiumsulfat) zu einer kristalloiden Elektrolytlösung gemischt und auf 36 °C erwärmt.

Für die initiale Applikation der Kardioplegielösung wurden 14 ml oxygeniertes Erythrozytenperfusat mit 150 µl der angesetzten Elektrolytlösung in die Perfusorspritze gegeben. Zudem wurde eine zusätzliche Bolusgabe von 150 µl der Elektrolytlösung vorbereitet, welche ebenfalls während der ersten Kardioplegie-Gabe appliziert wurde, um einen raschen Herzstillstand zu erzielen. Die Gabe der Blutkardioplegie nach Calafiore mit einer Temperatur von 36°C erfolgte über 3 min bei 1,3facher Perfusionsgeschwindigkeit, bezogen auf dem in der Stabilisierungsphase gemessenen koronaren Fluss (Gesamtvolumen = 3 min × [Baseline-Koronarfluss + 30%]).

Für die nachfolgenden Kardioplegie-Gaben wurde eine neue Calafiore-Lösung mit 10 ml Perfusat und 225 µl Elektrolyt-Lösung angesetzt. Die folgenden Kardioplegiegaben erfolgten mit der neu angesetzten Kardioplegielösung jeweils über einen Zeitraum von 2 min, bis eine Aortenklemmzeit von 90 min erreicht war (

Abbildung 7).

Komponenten Calafiore	Konzentration [mmol/l]
$\text{K}^+$	I: 21,5 II: 16,7
$\text{Cl}^-$	I: 21,5 II: 16,7
$\text{MgSO}_4$	I: 8,7 II: 6,4

*Tabelle 7: Zusammensetzung der Calafiore Blutkardioplegielösung. Die Konzentrationen sind für die gebrauchsfertige Mischung aus Pufferlösung, Erythrozytenperfusat und Kardioplegie angegeben. Das Mischungsverhältnis Blut zu Kardioplegie betrug 44:1 für die Anfangsdosis (I) und 94:1 für die Folgedosen (II).  $\text{Na}^+$  = Natrium,  $\text{K}^+$  = Kalium,  $\text{Cl}^-$  = Chlorid;  $\text{MgSO}_4$  = Magnesiumsulfat.*

Die Tabelle 7 zeigt die Zusammensetzung der Calafiore Blutkardioplegielösung (Cala) mit der Konzentration der Komponenten, die in den Kardioplegielösungen verwendet wurde. Das Mischungsverhältnis Blut zu Kardioplegie betrug für die Anfangsdosis 44:1 (I) und für die Folgedosen 94:1 (II).

### 15.1.4 Blutkardioplegielösung nach Buckberg (Buck)

Die Buckberg Blutkardioplegie wurde durch Zugabe einer im Handel erhältlichen Lösung zur Herstellung der Blutkardioplegie nach Buckberg (Köhler Chemie, Bensheim, Deutschland) in einem Verhältnis von 4:1 zum Erythrozytenperfusat hinzugegeben (oxygeniertes Erythrozytenperfusat = BCP).

Die Blutkardioplegielösung nach Buckberg wurde zunächst über 4 Minuten mit einer Temperatur von 4 °C verabreicht (Phase I: „kalte Induktion“ mit einem Gesamtvolumen = 4 min × [Baseline-Koronarfluss + 30%]). Die Kardioplegie-Applikation wurde alle 20 min jeweils über den Zeitraum von 2 min ebenfalls mit einer Temperatur von 4 °C wiederholt (Phase II: „kalte Reinfusion“ mit einem Gesamtvolumen = 2 min × [Baseline-Koronarfluss + 30%]), bis eine Aortenklemmzeit von 90 min erreicht war (Abbildung 7). Nach 90 Minuten erfolgte eine terminale warme Reinfusion mit einer Temperatur von 36°C über einen Zeitraum von 2 Minuten (Phase III: „Hot Shot“ mit einem Gesamtvolumen = 2 min × [Baseline-Koronarfluss + 30%]).

Komponenten	Konzentration (mmol/l)
Na <sup>+</sup>	I: 8,06 II: 8,45 III: 7,78
K <sup>+</sup>	I: 17,5 II: 6,11 III: 7,40
Cl <sup>-</sup>	I: 22.34 II: 13.79 III: 14.23
Na <sup>+</sup> -Glutamat	I: 0 II: 0 III: 14,07
Na <sup>+</sup> -Aspartat	I: 0 II: 0 III: 13,96
Trometamol (THAM)	I: 8,73 II: 9,15 III: 13,31
Ascorbinsäure	I: 0,9 II: 0,96 III: 3,46

Na <sup>+</sup> -Citrat	I: 5,2 II: 5,46 III: 19,82
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	I: 0,94 II: 0,98 III: 3,56
Glukose	I: 184,84 II: 193,86 III: 204,52

*Tabelle 8: Zusammensetzung der Buckberg Blutkardioplegielösung. Buckbergs Lösung I wurde für die kalte Induktion, Lösung II für die kalte Reinfusion und Lösung III für die warme Reperfusion („Hot Shot“) verwendet. Die Konzentrationen sind für das gebrauchsfertige 4:1-Gemisch aus Blut und Kardioplegie angegeben. Na<sup>+</sup> = Natrium, K<sup>+</sup> = Kalium, Cl<sup>-</sup> = Chlorid, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> = Dinatriumhydrogenphosphat, THAM = Tris(hydroxymethyl)aminomethan.*

Buckbergs Lösung I wurde für die kalte Induktion, die Lösung II für die kalte Reinfusion und die Lösung III für die warme Reperfusion verwendet. Die Konzentrationen sind jeweils für das gebrauchsfertige 4:1-Gemisch aus Blut und Kardioplegie angegeben (Tabelle 8).

## 15.2 PROTOKOLL DER VERSUCHE

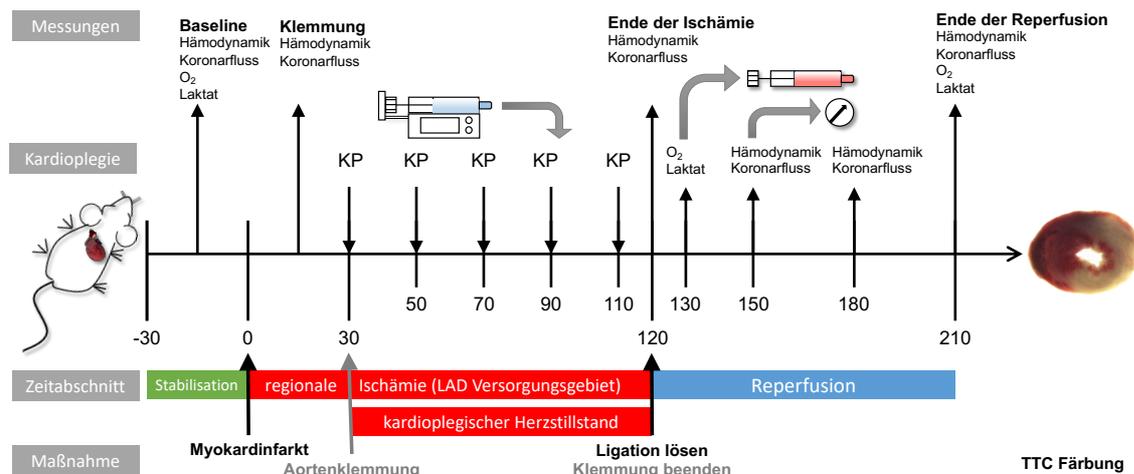


Abbildung 7: Versuchsablauf. Zeitachse der Experimente in Minuten mit Messzeitpunkten, Angabe von Zeitabschnitten und Zeitpunkten der Gabe der Kardioplegielösung. Die Versuche erfolgten bei erwachsenen Rattenherzen, die einem 30-minütigen Myokardinfarkt im Versorgungsgebiet des RIVA bzw. LAD ausgesetzt waren. KP = Kardioplegielösung, RIVA: Ramus interventricularis anterior, LAD: left anterior descending, O<sub>2</sub> = myokardialer Sauerstoffverbrauch, Laktat = myokardiale Laktatproduktion, Hämodynamik = hämodynamische Messungen, TTC-Färbung = Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung.

Der Ablauf der Versuche gestaltete sich folgendermaßen: Nach einer individuellen Stabilisierungsperiode von bis zu 30 min wurde durch 30-minütige Ligatur des RIVA eine regionale Myokardischämie erzeugt (Böning et al. 2018a, 2018b). Nach 30 Minuten Ischämie des RIVA- bzw. LAD-Versorgungsgebiets erfolgte eine Aortenklammerung, die jeweilige Kardioplegielösung wurde verabreicht und ein kardioplegischer Herzstillstand wurde induziert. Nach einer 90- minütigen Dauer der Aortenklammerung wurde die RIVA-Ligatur entfernt und die Herzen für weitere 90 min reperfundiert (Abbildung 7).

## 15.2.1 Ausschlusskriterien

Organe, die die vorab festgelegten Ausschlusskriterien bei Versuchsbeginn nicht erfüllten, wurden ausgeschlossen. Akzeptable Werte waren für den LVpdP >60 mmHg, für die Herzfrequenz >220 Schläge/min und für den Koronarfluss 8 - 16 ml/min.

Während der Stabilisierungs-, der Ischämie- und der Reperfusionsphase galten die Herzen als stabil, wenn sie sich in einem stabilen Rhythmus befanden (keine ventrikulären Arrhythmien), einen stabilen linksventrikulären Spitzendruck (LVpdP) erzeugten und, mit Ausnahme des Infarktgebiets, einen ausreichenden und konstanten Koronarfluss aufwiesen.

Während dieser Versuchsserie musste 1 Organ wegen unzureichender Stabilität in einer dieser Phasen verworfen werden. Bei dem genannten Herz der EBCCP-Gruppe kam es in der Reperfusionsphase zu keinem messbaren Fluss, sodass dieses Organ nicht in die Auswertung mit eingegangen ist.

### 15.2.2 Stabilisierungsphase

Nachdem das Herz im Langendorff Apparat aufgehängt wurde erfolgte eine individuelle Stabilisierungsphase von maximal 30 min. Sobald der LVP einen konstanten Wert zeigte und sich eine normofrequente Herzfrequenz einstellte galt das Herz als stabil. Bevor nun mit der nächsten Phase begonnen wurde, wurde der Ausgangswert (Baseline) des Koronarflusses bestimmt (Abbildung 7: Stabilisation). Durch Abzählen der Tropfen und Auffangen in ein Volumenmessgefäß wurde das Volumen an Blutperfusat pro Minute bestimmt. Außerdem wurde jeweils eine arterielle und venöse Probe des Blutperfusats entnommen, um den Ausgangswert (Baseline) für die Sauerstoff- und Laktatkonzentration zu bestimmen.

### 15.2.3 Regionale Ischämiephase

Nach Abschluss der Stabilisierungsphase wurde zur Simulation einer regionalen Myokardischämie (Abbildung 7: regionale Ischämie) das Gefäß mit der häufigsten Lokalisation eines Gefäßverschlusses, der Ramus interventricularis anterior (RIVA) bzw. left anterior descending (LAD) der linken Koronararterie (LCA), mithilfe eines Prolene Fadens der Stärke 6-0 für 30 min ligiert (Abbildung 8B: Ligatur RIVA). Das Auffinden der Arterie erfolgte anhand der häufigsten Lokalisation mit Abgang der RIVA aus der LCA unterhalb des linken Herzohrs (Abbildung 8A: Koronararterielle Blutversorgung).

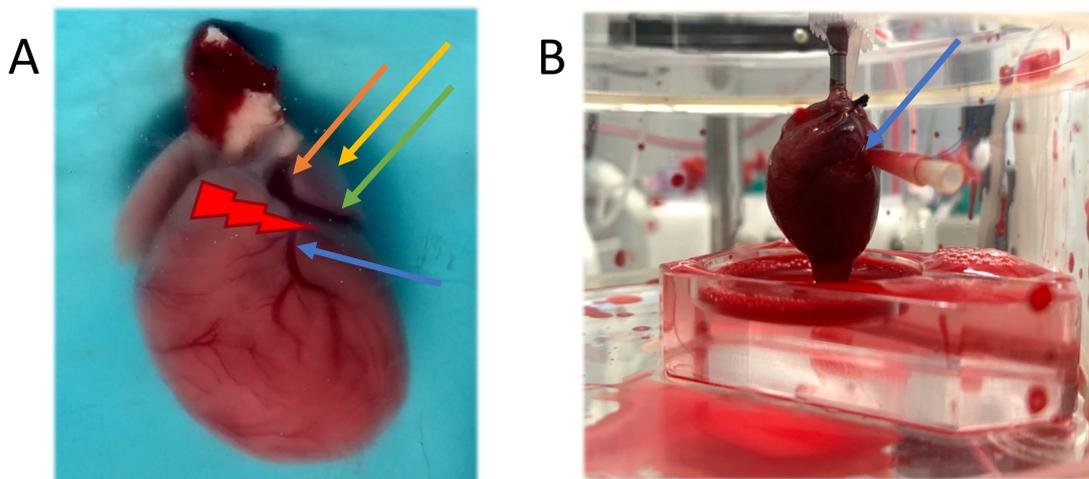


Abbildung 8: A: Koronararterielle Blutversorgung am Rattenherzen. Orangener Pfeil = LCA, gelber Pfeil = linkes Herzohr, grüner Pfeil = RCX, blauer Pfeil = RIVA, roter Blitz = Stelle für die Ligatur des RIVA mit einem Faden. B: Regionale Ischämiephase. Blauer Pfeil = Fadenligatur des RIVA.

### 15.2.4 Kardioplegiephase

In der Kardioplegiephase folgte der regionalen Ischämie eine 90-minütige globale Ischämie des Myokards (Abbildung 7: kardioplegischer Herzstillstand), in der die Erythrozytenperfusatzufuhr für 90 min umgeleitet wurde (Abbildung 4: Kreislauf 2 + 4).

Die jeweiligen Kardioplegielösungen wurden bis zum Zeitpunkt der Verwendung in der Kardioplegiephase ebenfalls mit Carbogen, einem Gasgemisch mit Sauerstoff (5 % CO<sub>2</sub> und 95 % O<sub>2</sub>), angereichert.

Nachdem wir den Koronarfluss unter den Ausgangsbedingungen (Baseline) gemessen hatten (Abbildung 7: Baseline), fügten wir der Flussrate der Kardioplegielösung eine Sicherheitsmarge von 30% hinzu, um sicherzustellen, dass für alle Lösungen eine ausreichende Menge an Kardioplegie verabreicht wurde, um einen kompletten diastolischen Herzstillstand zu induzieren (Gesamtvolumen =  $x \text{ min} \times [\text{Baseline-Koronarfluss} + 30\%]$ ). Unter Verwendung eines Seitenarms des Drei-Wege-Hahns (Abbildung 4: Kardioplegie) wurde im Folgenden die jeweilige Kardioplegielösung antegrad über die Aortenwurzel in die Koronararterien appliziert. Zu Beginn der Kardioplegiephase und alle weiteren 20 min erfolgte die Gabe der jeweiligen Kardioplegielösung über 2 oder 3 Minuten (Abbildung 7: KP = Kardioplegiegabe), abhängig von der verwendeten Kardioplegielösung, mit der nach der obigen Formel berechneten Perfusionsgeschwindigkeit.

#### **15.2.5 Reperfusionphase**

Nach Beendigung der Kardioplegiephase und nach Gabe des „Hot Shot“, im Versuchsprotokoll der Kardioplegie nach Buckberg, erfolgte die Entfernung der Ligatur des RIVA (Abbildung 7: Reperfusion) und der Erythrozytenperfusatfluss zum Aortenblock wurde wiederhergestellt (Abbildung 4: Kreislauf 2 + 3). Die Herzen wurden über 90 min mit demselben Erythrozytenperfusat wie vor der Kardioplegiephase reperfundiert.

## 16 BLUTGASANALYSE DER KARDIOPLEGIELÖSUNGEN

Für die Blutgasanalyse der verschiedenen verwendeten Kardioplegielösungen wurde das Blutanalysegerät ABL 800 Flex (Radiometer GmbH, Krefeld, Deutschland) verwendet. Bei jeder der jeweiligen Versuchsreihen wurden pro Versuchsgruppe während drei Experimenten Parameter der Bereiche Blutgase (pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>), Metaboliten (cGlu, cLac), Elektrolyte (cNa<sup>+</sup>, cK<sup>+</sup>, cCa<sup>2+</sup>) und Oxymetrie (ctHb, sO<sub>2</sub>) gemessen und jeweils der Mittelwert hieraus berechnet (siehe Tabelle 5 - 8).

## 17 MESSPARAMETER DER ISOLIERTEN ORGANPERFUSION

### 17.1 HÄMODYNAMISCHE MESSPARAMETER

Während der Experimente wurden verschiedene Funktionsparameter aufgezeichnet: die Herzfrequenz (HF), der koronare Blutfluss (CF), der systolische und diastolische linksventrikuläre Druck (LVP<sub>sys</sub> und LVP<sub>dia</sub>), der linksventrikulären Spitzendruck (LVpdP = LVP<sub>sys</sub> - LVP<sub>dia</sub>) und die Kontraktions- (dLVP/dt<sub>max</sub>) und Relaxationsgeschwindigkeiten (dLVP/dt<sub>min</sub>).

#### 17.1.1 Linksventrikulärer systolischer und diastolischer Druck (LVP<sub>sys</sub>, LVP<sub>dia</sub>), Linksventrikulärer Spitzendruck (LVpdP), Herzfrequenz (HF)

Mithilfe des Latexballons, welcher über den linken Vorhof in den linken Ventrikel geschoben wurde, konnten der systolische (LVP<sub>sys</sub>) und diastolische linksventrikuläre Druck (LVP<sub>dia</sub>), die maximale Kontraktions- und Relaxationsgeschwindigkeit des linken Ventrikels und die Herzfrequenz (HF) gemessen werden. Wichtig für das genaue Messen der physiologischen Parameter war die Wahl der richtigen Größe des Ballons im Verhältnis zur Organgröße (in unseren Versuchen: Größe 5/6) und ein luftblasenfreies Befüllen mit destilliertem Wasser, bis zum Erreichen eines enddiastolischen Drucks von 10 - 12 mmHg. Dadurch wurde sichergestellt, dass sich der Latexballon der Wand und somit auch den Kontraktionen des linken Ventrikels genau anpassen konnte, was die Voraussetzung für eine genaue Bestimmung der Druck- und Herzfrequenzparameter darstellte.

Aus der Differenz des systolischen und diastolischen linksventrikulären Drucks wurde der linksventrikuläre Spitzendruck (left ventricular peak developed pressure = LVpdP = LVP<sub>sys</sub> - LVP<sub>dia</sub>) berechnet. Dieser diente als Maß für die Herzkraft (Dhein, 2005).

### 17.1.2 Kontraktionsgeschwindigkeit (dLVP/dt<sub>max</sub>), Relaxationsgeschwindigkeit (dLVP/dt<sub>min</sub>)

Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit des linken Ventrikels (dLVP/dt<sub>max</sub>) und die maximale Relaxationsgeschwindigkeit (dLVP/dt<sub>min</sub>) wurden über die erste Ableitung des LVpdP nach der Zeit berechnet. Die Werte des dLVP/dt<sub>max</sub> können als Maß für die Inotropie angesehen werden. Sie beschreiben daher die systolische Herzfunktion. Zur Beschreibung der diastolischen Herzfunktion dient der dLVP/dt<sub>min</sub>, der als ein Maß für die Lusitropie des Herzens angesehen werden kann (Dhein, 2005).

### 17.1.3 Koronarer Fluss (CF)

Der CF wurde, wie zuvor beschrieben, durch Auszählen der Perfusattropfen in ein Volumenmessgefäß ermittelt. Ein genaueres Messverfahren, wie zum Beispiel ein Flowmeter, konnte aufgrund der Verwendung eines Erythrozytenperfusates nicht angewendet werden.

## 17.2 METABOLISCHE MESSPARAMETER

### 17.2.1 Myokardialer Sauerstoffverbrauch (M $\dot{V}O_2$ )

Mithilfe des BGA-Gerätes wurden die entnommenen prä- und postkardialen Perfusatproben zu den jeweiligen Zeitpunkten auf pH, pO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub> und cHb untersucht. Um einen dynamischen, zeitabhängigen Prozess anstelle eines transkardialen Gradienten darzustellen, berechneten wir den myokardialen Sauerstoffverbrauch (M $\dot{V}O_2$ ) nach dem Gesetz nach Fick (Podesser et al. 2002):

$$M\dot{V}O_2 \left[ \frac{\text{ml } O_2}{\text{min}} \right] = (c_{\text{art}}O_2 \left[ \frac{\text{ml } O_2}{\text{dl}} \right] - c_{\text{ven}}O_2 \left[ \frac{\text{ml } O_2}{\text{dl}} \right]) \times (CF \left[ \frac{\text{ml}}{\text{min}} \right] / \text{Herzgewicht [g]} \times 100$$

$$\text{mit } c_xO_2 \left[ \frac{\text{ml } O_2}{\text{dl}} \right] = cHb \left[ \frac{\text{g}}{\text{dl}} \right] \times 1,34 \frac{\text{ml } O_2}{\text{g}} \times s_xO_2 [\% : 100] + p_xO_2 [\text{mmHg}] \times 0,0031 \left[ \frac{\text{ml } O_2}{\text{dl} \cdot \text{mmHg}} \right]$$

*M $\dot{V}O_2$  = Myokardialer Sauerstoffverbrauch,  $c_xO_2$  = Sauerstoffkonzentration des Perfusats,  $s_xO_2$  = Sauerstoffsättigung des Perfusats,  $cHb$  = Hämoglobinkonzentration des Perfusats,  $p_xO_2$  = Sauerstoffpartialdruck des Perfusats.*

Die in der Sauerstoffkonzentrationsformel verwendeten Konstanten stehen zum einen für die Hüfner-Zahl ( $1,34 \frac{\text{ml } O_2}{\text{g}}$ ), welche das maximale Sauerstoffvolumen angibt, welches von 1 g Hämoglobin gebunden werden kann, zum anderen für die Löslichkeit von Sauerstoff in 37 °C warmem Blut (Gutierrez und Theodorou, 2012).

### 17.2.2 Myokardiale Laktatproduktion (MñLac)

Außerdem wurden die Perfusatsproben mithilfe eines Radiometers ABL800 Flex (Radiometer, Krefeld, Deutschland) auf deren Laktatkonzentration untersucht. Gemeinsam mit dem dazugehörigen koronaren Fluss wurde daraus die myokardiale Laktatproduktion (MñLac) nach folgender Formel berechnet:

$$\text{MñLac} \left[ \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}} \right] = (\text{cLac}_{\text{ven}} \left[ \frac{\mu\text{mol}}{\text{ml}} \right] - \text{cLac}_{\text{art}} \left[ \frac{\mu\text{mol}}{\text{ml}} \right]) \times \text{CF} \left[ \frac{\text{ml}}{\text{min}} \right] \times 100$$

*MñLac* = myokardiale Laktatproduktion, *cLac<sub>x</sub>* = Laktatgehalt des Perfusats.

Gemeinsam mit den Daten des myokardialen Sauerstoffverbrauchs lassen sich aus den arterio-venösen Differenzen Rückschlüsse auf den Energieumsatz und Zellstoffwechsel der Kardiomyozyten schließen. Während der  $\dot{M}\dot{V}O_2$  Auskunft über den aeroben Metabolismus, also die Substratverwertung via Citratzyklus und Atmungskette gibt, dient der MñLac als Hinweis auf einen anaeroben Metabolismus des Myokards (Gutierrez und Theodorou, 2012).

## 18 INFARKTFÄRBUNG DER HERZSCHNITTE

### 18.1 HERSTELLUNG DER HERZSCHNITTE

Nach dem Wiegen des Herzens wurden der noch vorhandene Gefäßstumpf der Aorta und die beiden Herzohren mithilfe einer Präparierschere abgetrennt.

Danach wurde das Herz in eine Frischhaltefolie eingewickelt, die zusätzlich mit einer Aluminiumfolie umwickelt wurde, um beim anschließenden Gefriervorgang eine Schädigung des vitalen Gewebes durch Gefrierbrand zu vermeiden.

Im Folgenden wurde das eingewickelte Herz für 40 min bei  $-20^{\circ}\text{C}$  im Gefrierschrank angefroren, um das Herz anschließend zügig mit einer Mikrotomklinge auf einer Metallplatte in feine Schnitte einer Dicke von ca. 2 mm schneiden zu können. Danach erfolgte das Wiegen des Gewichts der einzelnen Schnitte ( $m_G$ ) auf einer Feinwaage, um im weiteren Verlauf die Masse des avitalen und vitalen Myokardgewebes im Verhältnis zum Gesamtgewicht des Herzens ( $\Sigma m_G$ ) berechnen zu können.

### 18.2 TRIPHENYLTETRAZOLIUMCHLORID-FÄRBUNG (TTC-FÄRBUNG)

Die Färbung mit TTC wurde gewählt, da sie eine zuverlässige Unterscheidung zwischen intakten und nekrotischen Bereichen in Gewebeproben ermöglicht, sowie ein zuverlässiges Maß zur Quantifizierung der Größe eines Infarkts liefert (Vivaldi et al. 1985). Die Technik basiert auf dem Farbumschlag des TTC durch eine Reaktion mit vitalem Gewebe. In vitalem Gewebe wird farbloses wasserlösliches

Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) von vorhandenen aktiven Dehydrogenasen unter Aufnahme von zwei Elektronen und einem Proton zum roten wasserunlöslichen Farbstoff 1,3,5-Triphenylformazan (Formazan) reduziert (Abbildung 9: roter Pfeil) (Heusch et al. 2011) (Klein et al. 1981). Da die meisten Dehydrogenasen in Mitochondrien lokalisiert sind (Ferrera et al. 1993), korreliert die Intensität der Färbung mit der Anzahl an funktionsfähigen Mitochondrien im Gewebe (Goldlust et al. 1996, Ferrera et al. 2009). In avitalem Gewebe kommt es zu einer weitgehenden Reduktion der Mitochondrienfunktion und damit auch der schnellen Inaktivierung der Enzyme, wie den Dehydrogenasen. Durch das Fehlen der enzymatischen Aktivität kommt es zu keiner Reduktion von TTC und infolgedessen zu keiner Färbung des Gewebes, der entsprechende Bereich bleibt also farblos (Abbildung 9: gelber Pfeil) (Heusch et al. 2011).

Außerdem spielt neben der Dauer der Ischämie auch die Dauer der Reperfusion eine Rolle zur genauen Quantifizierung des Areals mit avitalem Myokardgewebe (Redel et al. 2008). Damit es zu einer realistischen Annäherung des Infarktareals und zu keiner Unterschätzung durch falsch-positive Rotfärbung kommt, muss das avitale Gewebe lange genug und ausreichend perfundiert werden, um im toten Gewebe vorhandenes NADH und NADPH auszuspülen (Seidler 1991, Ferrera et al. 2009). Die von uns hierbei gewählten 90 min Reperfusion liegen in einem Bereich der genug Zeit lässt, die Enzyme und Coenzyme auszuspülen und eine gute Abgrenzung des Areals zu ermöglichen (Horneffer et al. 1987, Schwarz et al. 2000). Gleichzeitig war die Reperfusionszeit nicht zu lange gewählt, sodass die Herzfunktion des extrakorporal perfundierten Organs bis zum Versuchsende bestehen blieb, es zu keiner zusätzlichen Nekrose kam und damit eine korrekte Einschätzung des vitalen Myokardgewebes stattfand (Ferrera et al. 2009).

### 18.3 PROTOKOLL DER INFARKTFÄRBUNG

Die einzelnen Schnitte wurden in 1,5 ml große braune Eppendorf Tubes gegeben. Dort wurden die Herzschnitte zusammen mit 1000  $\mu$ l 1,2 % TTC in einer Pufferlösung mit einem pH von 7,4 bestehend aus 0,1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und 0,1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  für 30 min bei 38°C inkubiert. Das Arbeiten erfolgte in lichtarmen Arbeitsbedingungen, da TTC gegenüber Wärme und Licht instabil ist (Chiang et al. 2011).

Anschließend erfolgte die Fixierung der Herzschnitte über Nacht in 7% Paraformaldehydlösung. Dies erfolgte einerseits, um Erythrozyten und Proteine, die Häm enthalten auszuspülen und damit bei der späteren mikroskopischen Dokumentation den Kontrast zu erhöhen (Pitts et al. 2007). Andererseits wurden die Herzschnitte so für die spätere Lagerung haltbar gemacht.

#### 18.4 MIKROSKOPISCHE DOKUMENTATION DER INFARKTFLÄCHE

Mit dem Stereomikroskop M60 der Firma Leica (Wetzlar, Deutschland) erfolgte die Dokumentation der Herzschnitte mithilfe der Integrierten Mikroskopkamera IC80 HD (Leica, Wetzlar, Deutschland) und der Software Leica Application Suite LAS Version 4.6. Die Kamera war dabei zwischen Tubus und Stereomikroskop fixiert, um stets denselben Abstand zwischen Kamera und Herzschnitt beizubehalten. Außerdem wurde stets dieselbe Einstellung für die Vergrößerung (1,25-fach), die Belichtungszeit (99,9 ms), die Verstärkung (5,5), die Sättigung (101), das Gamma (1,00) und die Helligkeit (Stufe 5) gewählt, um bei der späteren Auswertung mittels Planimetrie stets ein vergleichbares Bild in Bezug auf Größe, Farbspektrum und Kontrast zu erhalten.

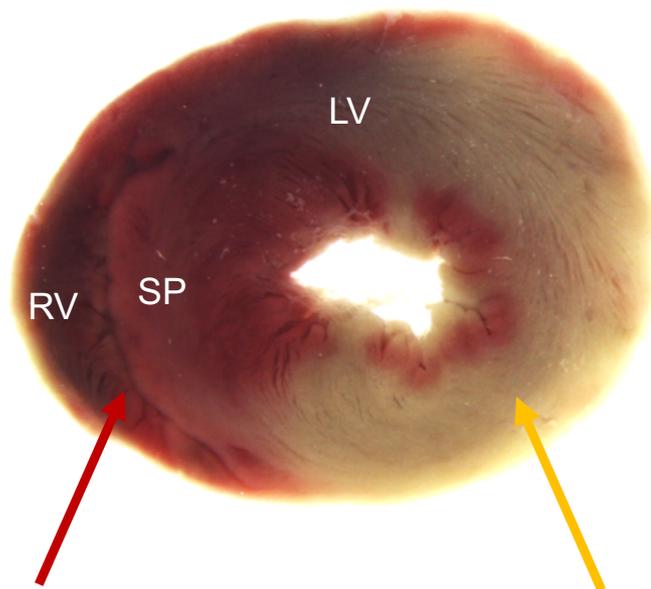


Abbildung 9: Beispielhafte TTC-Färbung eines Herzschnittes. Typisches Erscheinungsbild des Infarktbereichs (farbloses Gewebe, gelber Pfeil) im Vergleich zum nicht infarzierten Bereich (rotes Gewebe, roter Pfeil). RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel, SP = Septum.

Die Herzschnitte wurden auf einen Objektträger gelegt und mit destilliertem Wasser, sowie einem sauberen trockenen Objektträger bedeckt, um eine Aufnahme ohne Aufhellungen und Lichtreflexionen zu erhalten. Anschließend wurde der Objektträger in den Fokus des Mikroskops platziert und eine Feineinstellung desselben vorgenommen, um eine bestmögliche Bildschärfe zu erreichen. Dieser Vorgang wurde für alle Schnitte wiederholt und es wurde stets eine Aufnahme von beiden Seiten der jeweiligen Herzschnitte erstellt (Abbildung 9).

Nach Abschluss der Aufnahmen wurden die Herzschnitte in 1,5 ml Eppendorf Tubes mit 1000 µl PBS gegeben und bei 4°C im Kühlschrank gelagert.

### 18.5 PLANIMETRIE DER INFARKTFLÄCHE

Von jeder Seite eines Herzschnitts wurde mithilfe des Programms Leica Application Suite Version 4.6 zum einen die Gesamtfläche des Myokardschnitts ( $A_G$ ), die Lumina ( $A_L$ ) und die vitale Fläche ( $A_V$ ) mittels manuellem Umranden der jeweiligen Fläche bestimmt (Abbildung 10). Die Planimetrie der Herzschnitte erfolgte durch immer denselben Untersucher, um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

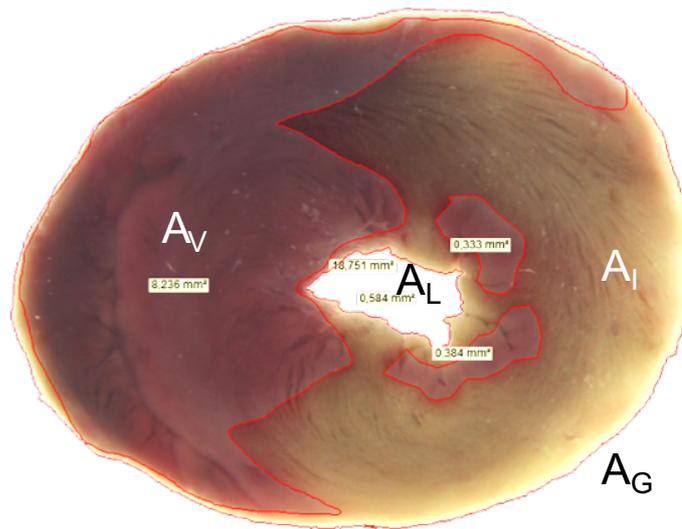


Abbildung 10: Beispielhafte Planimetrie der Herzschnitte. Darstellung nach manueller Umrandung der vitalen und avitalen Bereiche.

Hieraus wurde die Fläche des infarzierten Bereichs der Schnitte ( $A_I$ ) berechnet:

$$A_I [\text{mm}^2] = A_G [\text{mm}^2] - A_L [\text{mm}^2] - A_V [\text{mm}^2]$$

$A_I$  = Fläche des Infarktbereichs,  $A_G$  = Gesamtfläche,  $A_L$  = Fläche des Lumens,  $A_V$  = Fläche des vitalen Gewebes.

Aus den Flächen beider Seiten eines Schnitts wurde jeweils der Mittelwert der Gesamtfläche abzüglich des Lumens ( $\Delta A_G - \Delta A_L$ ) und der Mittelwert der Infarktfläche ( $\Delta A_I$ ) bestimmt. Aus dem Verhältnis hiervon wurde dann der prozentuale Anteil der Infarktfläche an der Gesamtfläche der einzelnen Herzschnitte ermittelt:

$$\text{Infarktanteil}_{\text{Schnitt } x} [\%] = \frac{\Delta A_I [\text{mm}^2]}{\Delta A_G [\text{mm}^2] - \Delta A_L [\text{mm}^2]} \times 100$$

Schnitt  $x$  = Nummer des Herzschnitts,  $\Delta A_I$  = Mittelwert der beiden Flächen des Infarktbereichs eines Herzschnitts,  $\Delta A_G$  = Mittelwert der beiden Gesamtflächen eines Herzschnitts,  $\Delta A_L$  = Mittelwert der beiden Flächen des Lumens eines Herzschnitts.

Anschließend wurde der Infarktanteil in Bezug auf die Gesamtfläche der Schnitte ( $\Sigma A_G$ ) und in Bezug auf das Gesamtgewicht der Schnitte ( $\Sigma m_G$ ) berechnet:

$$\text{Infarktanteil}_{\text{Gesamtfläche, Schnitt } x} [\%] = \text{Infarkt} [\%] \times \frac{\Delta A_G [\text{mm}^2]}{\Sigma A_G [\text{mm}^2]} \times 100$$

*Schnitt x = Nummer des Herzschnitts,  $\Delta A_G$  = Mittelwert der beiden Gesamtflächen eines Herzschnitts,  $\Sigma A_G$  = Summe der Mittelwerte der beiden jeweiligen Gesamtflächen eines Herzschnitts.*

$$\text{Infarktanteil}_{\text{Gesamtgewicht, Schnitt } x} [\%] = \text{Infarkt} [\%] \times \frac{m_G [\text{mg}]}{\Sigma m_G [\text{mg}]} \times 100$$

*Schnitt x = Nummer des Herzschnitts,  $m_G$  = Gewicht des Herzschnitts,  $\Sigma m_G$  = Gesamtgewicht der Herzschnitte*

Daraus wurde die Summe des Infarktanteils jeweils bezogen auf die Gesamtfläche aller Schnitte und bezogen auf das Gesamtgewicht des kompletten Organs berechnet:

$$\text{Infarktanteil}_{\text{Gesamtfläche}} [\%] = \sum_1^n \text{Infarktanteil}_{\text{Gesamtfläche, Schnitt } n} [\%]$$

*n = Schnitte eines Organs.*

$$\text{Infarktanteil}_{\text{Gesamtgewicht}} [\%] = \sum_1^n \text{Infarktanteil}_{\text{Gesamtgewicht, Schnitt } n} [\%]$$

*n = Schnitte eines Organs.*

## 19 ELEKTRONENMIKROSKOPIE DES MYOKARDS

### 19.1 IMMERSIONSFIXIERUNG DER ORGANE

Nach Abschluss der Langendorff-Versuche wurde je Versuchsgruppe der linke Ventrikel von je zwei Herzen abgetrennt und in 1,5% Glutaraldehyd und 1,5% Paraformaldehyd in 0,15 M HEPES-Puffer über eine Kanüle im Aortenstumpf immersionsfixiert. Für die erfolgreiche Fixierung wurde das Gewebe anschließend für mindestens 24 Stunden im Kühlschranks bei einer Temperatur von 4 °C gelagert. Herzen mit Infarkt konnten wegen der speziellen Färbung zur Bestimmung der Infarktgröße nicht elektronenmikroskopiert werden, weshalb Herzen ohne Infarkt nach einer 90-minütigen Ischämiephase mit Gabe der jeweiligen Kardioplegielösung und anschließender Reperfusion für 90 Minuten verwendet wurden.

Die fixierten Proben wurden anschließend zur Vorbereitung für die transmissionselektronenmikroskopische und stereologische Analyse an das Institut für Funktionelle und Angewandte Anatomie der Medizinischen Hochschule Hannover (Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover) geschickt, wo sie von Herrn Prof. Dr. med. Christian Mühlfeld und Frau Dr. rer. nat. Julia Schipke bearbeitet wurden.

## 19.2 ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE DOKUMENTATION DER ULTRADÜNNNSCHNITTE

Nach dem dort angewandten Protokoll wurden die Gewebeproben für die Elektronenmikroskopie in Osmiumtetroxid postfixiert, danach mit halbgesättigten Uranylacetat kontrastiert, anschließend in aufsteigender Acetonreihe entwässert und in Epon eingebettet (Schipke et al. 2015). Aus den so entstandenen Eponblöckchen wurden mittels eines Ultramikrotoms Ultradünnschnitte in einer Dicke von ca. 70 nm geschnitten, welche elektronenmikroskopisch untersucht werden konnten. Die Probenaufarbeitung und die Anfertigung der elektronenmikroskopischen Bilder erfolgten nach dem SURS-Prinzip („systemic uniform random sampling“) (Mayhew und Olsen 1991). Dies ermöglichte allen Probenabschnitten die gleiche Chance, in die Analyse einbezogen zu werden.

## 19.3 AUSWERTUNG DER ELEKTRONENMIKROSKOPIE

Die stereologische Auswertung der Schnitte diente der Übertragung der zweidimensionalen Informationen in Informationen über die Dreidimensionalität des untersuchten Gewebes (Gundersen et al. 1988). Hierfür wurde auf die angefertigten elektronenmikroskopischen Bilder ein Punkteraster projiziert und alle Punkte, die auf der zu ermittelnden Zellstruktur lagen, ausgezählt (Weibel 1979). Konkret wurden Punkte ( $p$ ) auf Myofibrillen ( $p(mf)$ ), Mitochondrien ( $p(mi)$ ), Zellkerne ( $p(nuc)$ ) und Sarkoplasma ( $p(sp)$ ) gezählt. Die Summe der Punkte auf den Einzelkompartimenten wurde als Gesamtpunktwert für die Myozyten ( $p(myo)$ ) berechnet und diente als Maß für das Referenzvolumen. Mithilfe dieser Werte konnte die Volumendichte  $V_V$  der jeweiligen Zellkompartimente errechnet werden, also der Volumenanteil einer Struktur im Verhältnis zum Referenzvolumen der Kardiomyozyten:

$$V_V(x/myo) [\%] = \frac{p(x)}{p(myo)} \times 100\%$$

mit  $x = mf / mi / nuc / sp$

$V_V(x/myo)$  = Volumendichte,  $p(x)$  = Punkt,  $p(myo)$  = Gesamtpunktwert Myozyten,  $mf$  = Myofibrillen,  $mi$  = Mitochondrien,  $nuc$  = Zellkerne,  $sp$  = Sarkoplasma (Weibel 1979, Mühlfeld et al. 2006).

Außerdem wurde die Oberflächendichte der Mitochondrien ( $S_V(mi/myo)$ ) bestimmt. Hierzu nutzte man ein Linienraster und zählte die Schnittpunkte der Linien mit den Mitochondrien (Intersections  $I(mi)$ ).  $p(myo)$  ergab sich aus der Anzahl an Endpunkten der Testlinien, die sich auf den Kardiomyozyten befanden. Gewertet wurde jedoch nur ein Punkt pro Linie:

$$S_V(mi/myo) \left[ \frac{1}{\mu m} \right] = \frac{2 \cdot I(mi)}{p(myo) \cdot L [\mu m]}$$

$S_V(mi/myo)$  = Oberflächendichte der Mitochondrien,  $I(mi)$  = Schnittpunkte der Linien mit den Mitochondrien,  $p(myo)$  = Gesamtpunktwert Myozyten,  $L$  = Länge einer Testlinie = 1,6  $\mu m$  (Mühlfeld et al. 2010).

Anhand der daraus erhaltenen Werte konnten anschließend zwei Parameter zur Beurteilung des myokardialen Ischämie-Reperfusionsschadens erhoben werden. Zum einen der CEI (cellular edema index), der bei einer Myozytenschwellung ansteigt (DiBona et al. 1980, Mühlfeld et al. 2006):

$$CEI = V_V(mi/myo) + \frac{V_V(sp/myo)}{V_V(mf/myo)}$$

$CEI$  = cellular edema index,  $V_V(mi/myo)$  = Volumendichte Mitochondrien,  $V_V(sp/myo)$  = Volumendichte Sarkoplasma,  $V_V(mf/myo)$  = Volumendichte Myofibrillen (Mühlfeld et al. 2006).

Zum anderen gibt das Volumen-Oberflächen-Verhältnis der Mitochondrien (V/S-Ratio (mi)) Aufschluss über die Ischämie-bedingte Mitochondrienschwellung (Schmiedl et al. 1990):

$$V/S\text{-Ratio}(mi) [\mu m] = \frac{V_V(mi/myo)}{S_V(mi/myo) \left[ \frac{1}{\mu m} \right]}$$

$V/S\text{-Ratio}(mi)$  = Volumen-Oberflächen-Verhältnis der Mitochondrien,  $V_V(mi/myo)$  = Volumendichte Mitochondrien,  $S_V(mi/myo)$  = Oberflächendichte der Mitochondrien (Mühlfeld et al. 2006).

Beide Parameter steigen mit zunehmenden Grad des Ischämieschadens der Kardiomyozyten (Murry et al. 1990, Görges et al. 1991, Mühlfeld et al. 2006).

Die quantitative Auswertung erfolgte verblindet für die Gruppenzugehörigkeit der Proben.

## 20 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die zu Beginn und zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Ende der Ischämieperiode bzw. während der Reperfusion ermittelten hämodynamischen Parameter wurden als Wert im Verhältnis zum Ausgangswert ausgedrückt. Alle vorliegenden Daten wurden mithilfe der Statistiksoftware GraphPad Prism 8 (Version 8.4.1) ausgewertet und analysiert. Ob es einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Mittelwerten der unabhängigen Gruppen hinsichtlich der Ergebnisse der kardiozirkulatorischen Parameter, der Ergebnisse des kardialen Stoffwechsels und der (elektronen-)mikroskopischen Auswertung (Abhängige Variablen) über die Zeit gab, wurde mittels Varianzanalysen und nichtparametrischen Verfahren untersucht.

Zunächst wurde das Vorliegen einer Normalverteilung der Stichproben mittels des D'Agostino-Pearson omnibus K2-Tests überprüft. Da unsere Daten auf Messungen über die Zeit basierten und wir alle Experimente auf die gleiche Weise analysieren wollten, haben wir uns im Falle einer statistisch signifikanten Abweichung von der Normalverteilung nicht nur auf die Ergebnisse eines einzigen Normalitätstests verlassen. Für den Fall eines statistisch signifikanten Ergebnis des D'Agostino-Pearson omnibus K2-Tests wurden die Daten anschließend erneut mithilfe des Anderson-Darling Tests, des Shapiro-Wilk Tests und des Kolmogorov-Smirnov Tests überprüft, bevor das Vorliegen einer Normalverteilung abgelehnt wurde.

Bei dem Vorliegen einer Normalverteilung, wurde der Gruppenvergleich mittels einfaktorieller Varianzanalyse (Analysis of variance = ANOVA) und anschließendem Tukey's Post-hoc-Test durchgeführt.

Eine wichtige Voraussetzung für die Durchführung von Varianzanalysen (ANOVA) ist, dass die Varianz der Untersuchungsgruppen gleich ist (Varianzhomogenität). Zur Überprüfung der Varianzhomogenität wurden bei einer annähernden Normalverteilung Bartlett's Test und der Brown-Forsythe Test herangezogen. Bei einer Inkonsistenz der Ergebnisse der Tests für Varianzhomogenität wurde der Bartlett's Test ignoriert und nur der Brown-Forsythe Test interpretiert. Wenn die Voraussetzung einer Normalverteilung nicht gegeben war, wurde ebenfalls nur der Brown-Forsythe Test interpretiert. Lag keine Varianzhomogenität vor, so wurde die in diesem Fall die robustere Welch-ANOVA mit anschließendem Games-Howell Post-hoc Test für die Interpretation herangezogen.

Bei der ANOVA ist die Nullhypothese, dass kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der Gruppen besteht. Ein statistisch signifikanter Unterschied

bei der ANOVA bedeutet, dass die Alternativhypothese anzunehmen ist, also sich mindestens zwei der Gruppenmittelwerte statistisch voneinander unterscheiden. Für uns war es allerdings nicht nur interessant zu wissen, dass es einen Unterschied zwischen den Gruppen gab, sondern wir wollten auch herausfinden, welche Gruppen sich voneinander unterscheiden. Bei Ablehnung der Nullhypothese der ANOVA wurde deshalb anschließend Tukey's Post-hoc-Test angewendet, bei dem mithilfe eines multiplen Mittelwertvergleichs, die signifikanten Mittelwertunterschiede nach Homogenitätskriterien beurteilt wurden.

Lag also der Gesamt-p-Wert des F-Test einer ANOVA unterhalb des Signifikanzniveaus, wurden die Gruppemittelwerte durch das Post-Hoc-Verfahren paarweise miteinander verglichen. Die multiplen Mittelwertvergleiche zeigten dann, welche einzelnen Mittelwerte der Gruppen den signifikanten Effekt der ANOVA produziert haben.

Wenn sich herausgestellt hat, dass eine oder mehrere Gruppen nicht normalverteilt waren, wurde zuerst mit den Daten, wie oben beschrieben, fortgefahren. Zusätzlich wurde bei der Verletzung der Normalverteilungsannahme ein nichtparametrisches Verfahren, im Sinne eines Gruppenvergleich mittels dem Kruskal-Wallis-Test und anschließendem Dunn's Post-hoc-Test, durchgeführt.

Beim Kruskal-Wallis-Test ist die Nullhypothese, dass kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Rängen der Gruppen besteht. Ein statistisch signifikanter Unterschied beim Kruskal-Wallis-Test bedeutet, dass die Alternativhypothese anzunehmen ist, also sich mindestens zwei der Gruppenränge statistisch voneinander unterscheiden. Außerdem wurde hier ebenfalls die Alphafehler-Kumulierung berücksichtigt und der p-Wert für den multiplen Gruppenvergleich korrigiert, sodass es zu keiner fälschlichen Annahme der Alternativhypothese kommt.

Alle Daten der Tabellen und Grafiken sind als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) angegeben. Eine statistische Signifikanz wurde bei einem Wert von  $p \leq 0,05$  angenommen.

### III ERGEBNISSE

Die Organe aller vier Versuchstiere wurden in den verschiedenen Versuchsphasen (Stabilisierungsphase, Ischämiephase, Reperfusionsphase) zu den oben genannten Zeitpunkten miteinander verglichen (Abbildung 7).

Der Baseline-Wert entsprach dem Ausgangswert zum Zeitpunkt am Ende der Stabilisierungsphase, vor Beginn der Ischämiephase. Um initial bestehende interindividuelle Unterschiede zwischen den Herzen korrigieren zu können, wurden alle im Rahmen der Experimente gemessenen Werte im Verhältnis zum jeweiligen Baseline-Wert angegeben. Der Zeitpunkt „Start Reperfusion“ entsprach einer bereits erfolgten 10-minütigen Reperfusion. Dieser Zeitversatz wurde gewählt, da die Herzen nach der Kardioplegiephase eine gewisse Zeit zur Normalisierung ihrer Funktion benötigten. Den abschließenden Vergleichszeitpunkt stellten die Messwerte nach 90 min Reperfusion dar.

#### 21 VERSUCHSPARAMETER

Das Körpergewicht aller Versuchstiere lag im Bereich von 398,0 – 600,0 g. Der Mittelwert betrug 491,3 g mit einer Standardabweichung von 49,1 g.

Das Herzgewicht aller Versuchstiere lag im Bereich von 1,8 – 2,8 g. Der Mittelwert betrug 2,3 g mit einer Standardabweichung von 0,3 g.

Es wurden in den verschiedenen Versuchsgruppen Herzschnitte mit einer Anzahl im Bereich von 12 – 19 hergestellt. Der Mittelwert betrug 16 mit einer Standardabweichung von 2.

Tabelle 9 zeigt die Mittelwerte der Versuchsparameter Körpergewicht und Herzgewicht in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen zu Beginn der Versuche.

	<b>ECCP (n=8)</b>	<b>EBCP (n=8)</b>	<b>Calafiore (n=8)</b>	<b>Buckberg (n=8)</b>	<b>p</b>
Körpergewicht (g)	457 – 522 479 ± 23	449 – 552 494 ± 36	398 – 588 498 ± 72	423 – 600 495 ± 59	0,700 <sup>#</sup>
Herzgewicht (g)	2,10 – 2,78 2,44 ± 0,26	2,22 – 2,74 2,48 ± 0,18	1,80 – 2,30 2,10 ± 0,22	1,80 – 2,40 2,13 ± 0,24	<b>0,004<sup>*</sup></b>

*Tabelle 9: Messergebnisse der Versuchsparameter Körpergewicht und Herzgewicht zu Beginn der Versuche. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden beim Körpergewicht aufgrund einer fehlenden Varianzhomogenität durch eine Welch ANOVA (<sup>#</sup>) und einen Kruskal-Wallis Test, sowie beim Herzgewicht durch eine einfaktorielle ANOVA (<sup>\*</sup>) mit Tukey's Post-hoc-Test berechnet.*

In der Welch ANOVA zeigte sich, dass sich das Körpergewicht der Versuchstiere nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied ( $W(3,00, 14,37) = 0,4813$ ;  $p = 0,7004$ ).

In der einfaktoriellen ANOVA zeigte sich, dass sich das Herzgewicht der Versuchstiere statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 5.666$ ;  $p = 0,0040$ ). In Tukey's Post-Hoc Test zeigte sich, dass der Mittelwert des Herzgewichts der Versuchstiere in der ECCP-Gruppe (2,44 g) signifikant höher als der Mittelwert des Herzgewicht der Calafiore-Gruppe (2,10 g;  $p = 0,039$ ) war. Auch der Mittelwert des Herzgewichts der Versuchstiere in der EBCP-Gruppe (2,48 g) war signifikant höher als das Herzgewicht der Calafiore-Gruppe (2,10 g;  $p = 0,017$ ) und der Buckberg Gruppe (2,13 g;  $p = 0,032$ ).

### 21.1 HERZSCHNITTE

Die Anzahl der Herzschnitte pro Herz lag in der ECCP-Gruppe im Bereich von 15 – 18. Der Mittelwert betrug 17 mit einer Standardabweichung von 1.

## 22 HÄMODYNAMISCHE PARAMETER

### 22.1 LINKSVENTRIKULÄRER SYSTOLISCHER DRUCK (LVPSYS)

Abbildung 11 und Tabelle 10 zeigen die Mittelwerte des LVPSys in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum. Zusätzlich sind in der Abbildung die Werte zu Beginn der Versuche (Baseline) als Ausgangswerte, nach 30 min Reperfusion als repräsentativer Wert nach kurzzeitiger Reperfusion und nach 90 min Reperfusion als Endergebnis hervorgehoben.

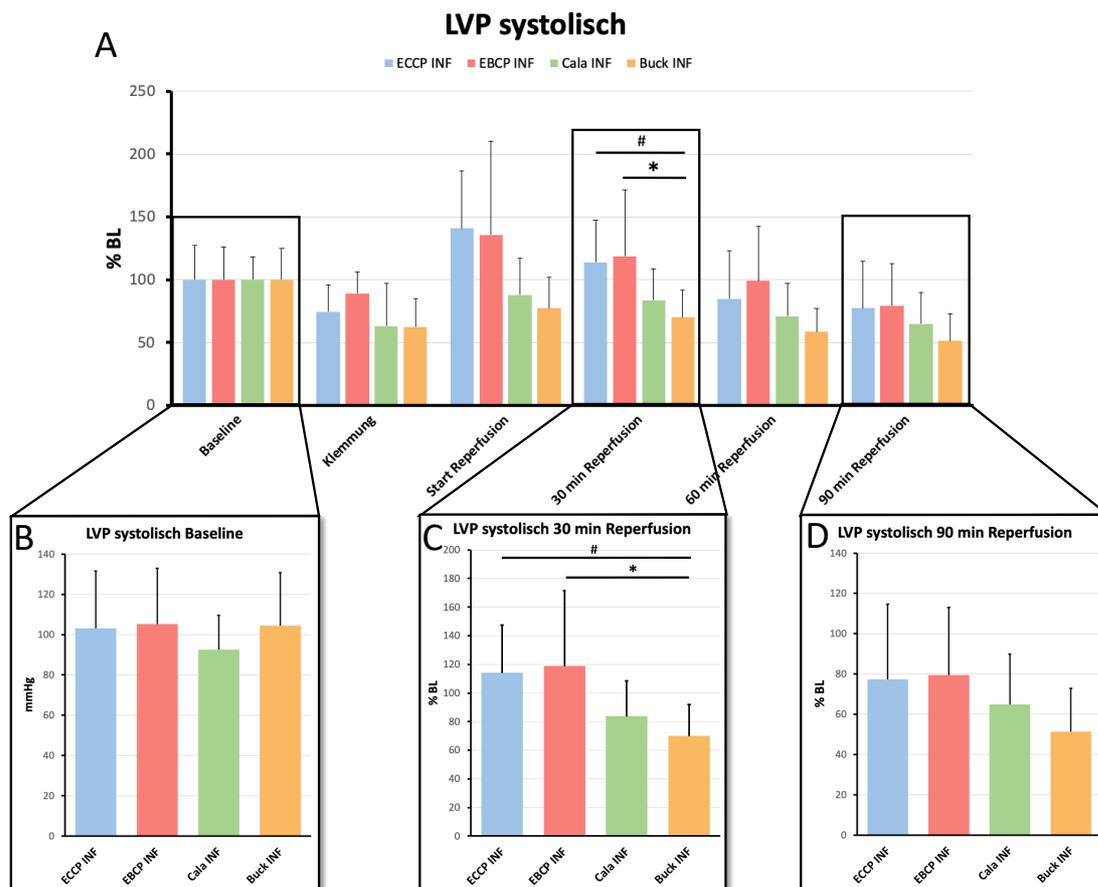


Abbildung 11: Mittelwerte des LVPSys. A: Mittelwerte des LVPSys in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des LVPSys zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des LVPSys nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des LVPSys nach 90 min Reperfusion [% BL]. \* $p < 0.05$ , einfaktorielles ANOVA mit Tukey's Post-hoc-Test. # $p < 0.05$ , Kruskal-Wallis Test mit Dunn's Post-hoc-Test. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

LVPsys	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (mmHg)	58 – 148 103 ± 28	61 – 143 105 ± 28	63 – 118 93 ± 17	71 – 155 105 ± 26	0,722*
Klemmung (% BL)	39 – 98 75 ± 21	72 – 113 89 ± 17	33 – 135 63 ± 34	34 – 98 62 ± 22	0,129*
Beginn Reperfusion (% BL)	72 – 215 141 ± 46	57 – 289 136 ± 74	41 – 141 88 ± 29	29 – 109 77 ± 24	<b>0,022*</b>
30 min Reperfusion (% BL)	63 – 178 114 ± 33,	67 – 236 119 ± 53	41 – 117 84 ± 25	25 – 95 70 ± 22	<b>0,026*</b> <b>0,014#</b>
60 min Reperfusion (% BL)	46 – 168 85 ± 38	60 – 179 99 ± 43	28 – 105 71 ± 26	24 – 82 59 ± 19	0,106* 0,154#
90 min Reperfusion (% BL)	39 – 158 77 ± 37	46 – 139 80 ± 34	36 – 103 65 ± 3325	22 – 82 51 ± 22	0,257#

Tabelle 10: Messergebnisse des LVPsys an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des LVPsys in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigte zum Beginn der Reperfusion und nach 30 min Reperfusion signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.  $dLVP/dt_{max}$  bzw.  $dLVP/dt_{min}$  = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit,  $LVP_{dp}$  = linksventrikulärer Spitzendruck.

Der linksventrikuläre systolische Druck (LVPsys) war zu Versuchsbeginn, während der Klemmung, zu Beginn der Reperfusion in der ECCP-, EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ) und Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ; Ausnahme: Bartlett's Test Beginn Reperfusion,  $p = 0,0198$ ). Bei diesen Voraussetzungen wurde jeweils eine einfaktorische ANOVA berechnet, um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des LVPsys zum jeweiligen Zeitpunkt abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab.

### 22.1.1 Versuchsbeginn (Baseline)

Zum Versuchsbeginn zeigte sich, dass sich der LVPsys in der einfaktorischen ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied ( $F(3, 28) = 0,445$ ;  $p = 0,7224$ ; Abbildung 11 und Tabelle 10).

### 22.1.2 Klemmung

Während der Klemmung zeigte sich, dass sich der LVPsys in der einfaktorischen ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied ( $F(3, 28) = 2,058$ ;  $p = 0,1285$ ; Abbildung 11 und Tabelle 10).

### 22.1.3 Beginn der Reperfusion

Zu Beginn der Reperfusion zeigte sich, dass sich der LVPsys in der einfaktorischen ANOVA statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied ( $F(3, 28) = 3,743$ ;  $p = 0,0223$ ; Abbildung 11 und Tabelle 10). In Tukey's

Post-hoc Test zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied im multiplen Mittelwertvergleich der Gruppen.

#### 22.1.4 30 min Reperfusion

Die Daten des LVPsys der ECCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren nach 30 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der EBCP-Gruppe nicht normalverteilt (Anderson-Darling Test  $p = 0,0451$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0055$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0398$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $> 0,05$ ). Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des LVPsys nach 30 min Reperfusion abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet.

In der ANOVA zeigte sich, dass sich das LVPsys nach 30 min Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 3,577$ ;  $p = 0,0263$ ; Abbildung 11 und Tabelle 10). In Tukey's multiplen Mittelwertvergleich zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen dem LVPsys in der EBCP-Gruppe (118,8 % BL) und der Buckberg Gruppe (70,0 % BL;  $p = 0,0464$ ).

In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des LVPsys nach 30 min Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $H = 10,60$ ;  $p = 0,0141$ ). In Dunn's Post-Hoc Test zeigte sich ein statistisch signifikanter höherer Wert des LVPsys in der ECCP-Gruppe (8,875) im Vergleich zur Buckberg Gruppe (22,25;  $p = 0,0261$ , Abbildung 12).

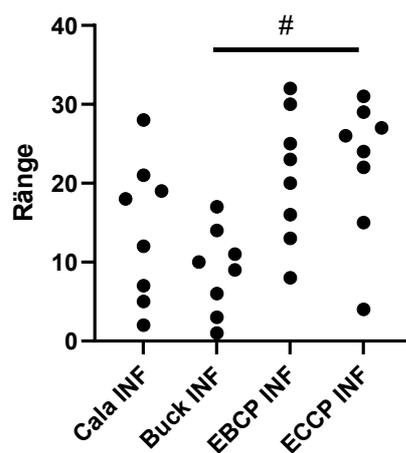


Abbildung 12: Ränge des LVPsys nach 30 min Reperfusion. Berechnet mittels Kruskal-Wallis Test. . # $p < 0,05$ , Kruskal-Wallis Test mit Dunn's Post-hoc-Test

### 22.1.5 60 min Reperfusion

Die Daten des LVPsys der EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren nach 60 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der ECCP-Gruppe nach dem D'Agostino-Pearson Test nicht normalverteilt ( $p = 0,0120$ ), allerdings zeigte sich in den weiteren Normalverteilungstests (Anderson-Darling Test  $p = 0,0646$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0609$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = > 0,1$ ), dass wahrscheinlich eine Normalverteilung vorlag. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des LVPsys nach 60 min Reperfusion abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der LVPsys nach 60 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 2,239$ ;  $p = 0,1057$ ). Auch in der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des LVPsys nach 60 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 5,253$ ;  $p = 0,1542$ ; Abbildung 11 und Tabelle 10).

### 22.1.6 90 min Reperfusion

Die Daten des LVPsys der EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren nach 90 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der ECCP-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0306$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0144$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0375$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = 0,0167$ ) nicht normalverteilt. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test,  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des LVPsys nach 90 min Reperfusion abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab, wurde aus diesem Grund ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des LVPsys nach 90 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 4,043$ ;  $p = 0,2569$ ; Abbildung 11 und Tabelle 10).

## 22.2 LINKSVENTRIKULÄRER DIASTOLISCHER DRUCK (LVPDIA)

Abbildung 13 und Tabelle 11 zeigen die Mittelwerte des LVPdia in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum. Zusätzlich sind in der Abbildung die Werte zu Beginn der Versuche (Baseline) als Ausgangswerte, nach 30 min Reperfusion als repräsentativer Wert nach kurzzeitiger Reperfusion und nach 90 min Reperfusion als Endergebnis hervorgehoben.

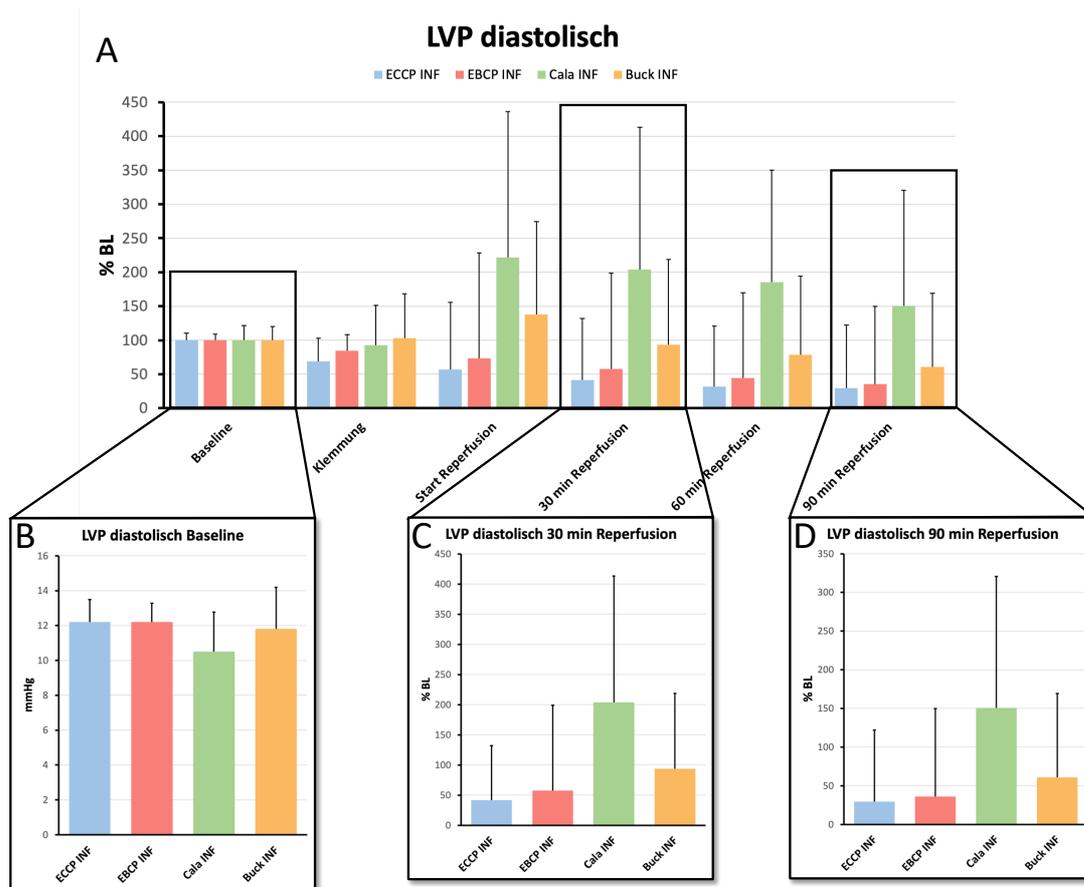


Abbildung 13: Mittelwerte des LVPdia. A: Mittelwerte des LVPdia in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des LVPdia zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des LVPdia nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des LVPdia nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

LVPdia	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (mmHg)	10 – 14 12 ± 1	10 – 13 12 ± 1	7 – 14 11 ± 2	9 – 16 12 ± 2	0,236*
Klemmung (% BL)	10 – 134 69 ± 36	57 – 127 85 ± 24	49 – 232 93 ± 59	16 – 213 103 ± 66	0,563*
Beginn Reperfusion (% BL)	-41 – 264 57 ± 99	-95 – 341 73 ± 155	-28 – 484 222 ± 215	-3 – 422 138 ± 136	0,169*
30 min Reperfusion (% BL)	-62 – 222 41 ± 90,	-106 – 303 58 ± 141	41 – 423 204 ± 210	-18 – 357 94 ± 125	0,368 <sup>#</sup>
60 min Reperfusion (% BL)	-77 – 210 32 ± 89	-111 – 258 44 ± 126	-14 – 371 185 ± 165	-35 – 317 78 ± 116	0,088*
90 min Reperfusion (% BL)	-83 – 218 30 ± 92	-109 – 227 36 ± 114	-36 – 326 151 ± 170	-35 – 301 61 ± 109	0,499 <sup>#</sup>

Tabelle 11: Messergebnisse des LVPdia an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des LVPdia in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet. dLVP/dtmax bzw. dLVP/dtmin = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVPdp = linksventrikulärer Spitzendruck.

Der linksventrikuläre diastolische Druck (LVPdia) war zu Beginn der Versuche, zu Beginn der Reperfusion und nach 60 min Reperfusion in der ECCP-, EBCP-, Calafiore und Buckberg-Gruppe jeweils normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ) und eine Varianzhomogenität war jeweils gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ). Bei diesen Voraussetzungen wurde jeweils eine einfaktorische ANOVA berechnet, um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des LVPdia zum jeweiligen Zeitpunkt abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab.

### 22.2.1 Versuchsbeginn (Baseline)

Zu Beginn der Versuche zeigte sich, dass sich der LVPdia in der einfaktorischen ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied ( $F(3, 28) = 1.501$ ;  $p = 0,2358$ ; Abbildung 13 und Tabelle 11).

### 22.2.2 Klemmung

Die Daten des LVPdia der ECCP-, EBCP und Buckberg-Gruppe waren während der Klemmung normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0020$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0002$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0012$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = 0,0080$ ) nicht normalverteilt. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ ). Aus diesem Grund wurde eine einfaktorische ANOVA berechnet, um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des LVPdia während der Klemmung abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab. Hier zeigte sich, dass sich der LVPdia nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied. ( $F(3, 28) = 0,6949$ ;  $p = 0,5629$ ; Abbildung 13 und Tabelle 11).

### 22.2.3 Beginn der Reperfusion

Zu Beginn der Reperfusion zeigte sich, dass sich der LVPdia in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied. ( $F(3, 28) = 1,809$ ;  $p = 0,1685$ ; Abbildung 13 und Tabelle 11).

### 22.2.4 30 min Reperfusion

Die Daten des LVPdia der ECCP-, EBCP- und Buckberg-Gruppe waren nach 30 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0324$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0438$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,00276$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,05$ ) nicht normalverteilt. Auch eine Varianzhomogenität war nicht gegeben (Brown-Forsythe Test,  $p = 0,0120$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich LVPdia nach 30 min Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des LVPdia nach 30 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 3,156$ ;  $p = 0,3682$ ; Abbildung 13 und Tabelle 11).

### 22.2.5 60 min Reperfusion

Nach 60 min Reperfusion zeigte sich, dass sich der LVPdia in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied. ( $F(3, 28) = 2,411$ ;  $p = 0,0880$ ).

### 22.2.6 90 min Reperfusion

Die Daten des LVPdia der ECCP- und EBCP-Gruppe waren nach 90 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0180$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0305$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0150$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,05$ ) und Buckberg-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0312$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0071$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0246$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = 0,0387$ ) nicht normalverteilt. Auch eine Varianzhomogenität war nicht gegeben (Brown-Forsythe Test,  $p = 0,0354$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich LVPdia nach 90 min Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des LVPdia nach 90 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 2,372$ ;  $p = 0,4988$ ; Abbildung 13 und Tabelle 11).

### 22.3 LINKSVENTRIKULÄRER SPITZENDRUCK (LVpDP)

Abbildung 14 und Tabelle 12 zeigen die Mittelwerte des LVpdp in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum. Zusätzlich sind in der Abbildung die Werte zu Beginn der Versuche (Baseline) als Ausgangswerte, nach 30 min Reperfusion als repräsentativer Wert nach kurzzeitiger Reperfusion und nach 90 min Reperfusion als Endergebnis hervorgehoben.

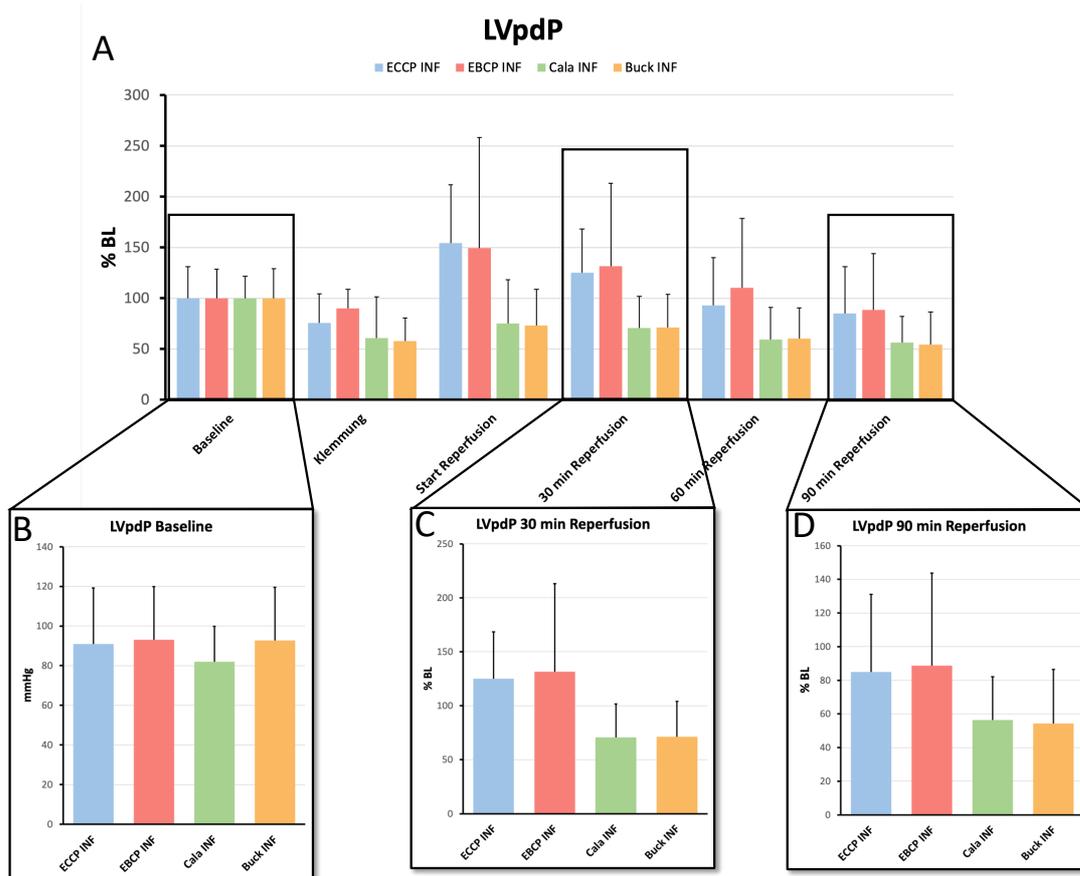


Abbildung 14: Mittelwerte des LVpdp. A: Mittelwerte des LVpdp in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des LVpdp zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des LVpdp nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des LVpdp nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

LVpdP	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (mmHg)	46 – 134 91 ± 28	51 – 131 93 ± 27	52 – 106 82 ± 18	59 – 145 93 ± 27	0,796*
Klemmung (% BL)	34 – 107 76 ± 29	70 – 117 90 ± 19	23 – 143 61 ± 40	31 – 91 58 ± 23	0,121*
Beginn Reperfusion (% BL)	52 – 244 155 ± 57	23 – 366 150 ± 109	42 – 166 75 ± 43	14 – 103 73 ± 35	<b>0,027*</b> <b>0,018#</b>
30 min Reperfusion (% BL)	47 – 198 125 ± 43	39 – 304 132 ± 81	34 – 109 71 ± 31	14 – 98 71 ± 33	<b>0,033*</b> <b>0,015#</b>
60 min Reperfusion (% BL)	29 – 189 93 ± 47	52 – 234 110 ± 68	20 – 196 60 ± 32	28 – 98 60 ± 30	0,097*
90 min Reperfusion (% BL)	21 – 177 85 ± 46	37 – 186 89 ± 55	18 – 83 56 ± 26	25 – 100 54 ± 32	0,222*

Tabelle 12: Messergebnisse des LVpdP an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des LVpdP in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten zu Beginn der Reperfusion und nach 30 min Reperfusion signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.  $dLVP/dt_{max}$  bzw.  $dLVP/dt_{min}$  = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck.

Der linksventrikuläre Spitzendruck (LVpdP) war zu Beginn der Versuche, während der Klemmung, sowie nach 60 und 90 min Reperfusion in der ECCP-, EBCP- Calafiore- und Buckberg-Gruppe jeweils normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ) und eine Varianzhomogenität war jeweils gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ). Bei diesen Voraussetzungen wurde jeweils eine einfaktorische ANOVA berechnet, um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des  $dLVP/dt_{max}$  zum jeweiligen Zeitpunkt abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab.

### 22.3.1 Versuchsbeginn (Baseline)

Zu Beginn der Versuche zeigte sich, dass sich der LVpdP in der einfaktorischen ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied. ( $F(3, 28) = 0,3408$ ;  $p = 0,7960$ ; Abbildung 14 und Tabelle 12).

### 22.3.2 Klemmung

Während der Klemmung zeigte sich, dass sich der LVpdP in der einfaktorischen ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied ( $F(3, 28) = 2,110$ ;  $p = 0,1214$ ; Abbildung 14 und Tabelle 12).

### 22.3.3 Beginn der Reperfusion

Die Daten des LVpdP der ECCP-, EBCP- und Buckberg-Gruppe waren zu Beginn der Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0346$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0313$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0249$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,05$ ) nicht

normalverteilt. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ , Bartlett's Test  $p = 0,0161$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des LVpdP zu Beginn der Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der LVpdP zu Beginn der Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 26) = 3,554$ ;  $p = 0,0269$ ; Abbildung 14 und Tabelle 12). In Tukey's Post-Hoc Test zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der Gruppen. In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der LVpdP zu Beginn der Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $H = 10,09$ ;  $p = 0,0178$ ; Abbildung 14 und Tabelle 12). Aber auch in Dunn's Post-Hoc Test zeigte sich, sich kein signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Rängen der Gruppen.

#### **22.3.4 30 min Reperfusion**

Die Daten des LVpdP der ECCP-, EBCP- und Calafiore-Gruppe waren nach 30 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Buckberg-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0354$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0215$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0270$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = 0,0366$ ) nicht normalverteilt. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ , Bartlett's Test  $p = 0,0330$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des LVpdP nach 30 min Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der LVpdP nach 30 min Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 3,353$ ;  $p = 0,0329$ ; Abbildung 14 und Tabelle 12). In Tukey's Post-Hoc Test zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der Gruppen. In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der LVpdP nach 30 min Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $H = 10,51$ ;  $p = 0,0147$ ; Abbildung 14 und Tabelle 12). Aber auch in Dunn's Post-Hoc Test zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Rängen der Gruppen.

#### **22.3.5 60 min und 90 min Reperfusion**

Nach 60 min und 90 min Reperfusion zeigte sich, dass sich der LVpdP in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied (60 min Reperfusion:  $F(3, 28) = 2,319$ ;  $p = 0,0970$ ; 90 min Reperfusion:  $F(3, 28) = 1,556$ ;  $p = 0,2221$ ; Abbildung 14 und Tabelle 12).

## 22.4 KONTRAKTIONSGESCHWINDIGKEIT (DLVP/DT MAX)

Abbildung 15 und Tabelle 13 zeigen die Mittelwerte des  $dLVP/dt_{max}$  in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum. Zusätzlich sind in der Abbildung die Werte zu Beginn der Versuche (Baseline) als Ausgangswerte, nach 30 min Reperfusion als repräsentativer Wert nach kurzzeitiger Reperfusion und nach 90 min Reperfusion als Endergebnis hervorgehoben.

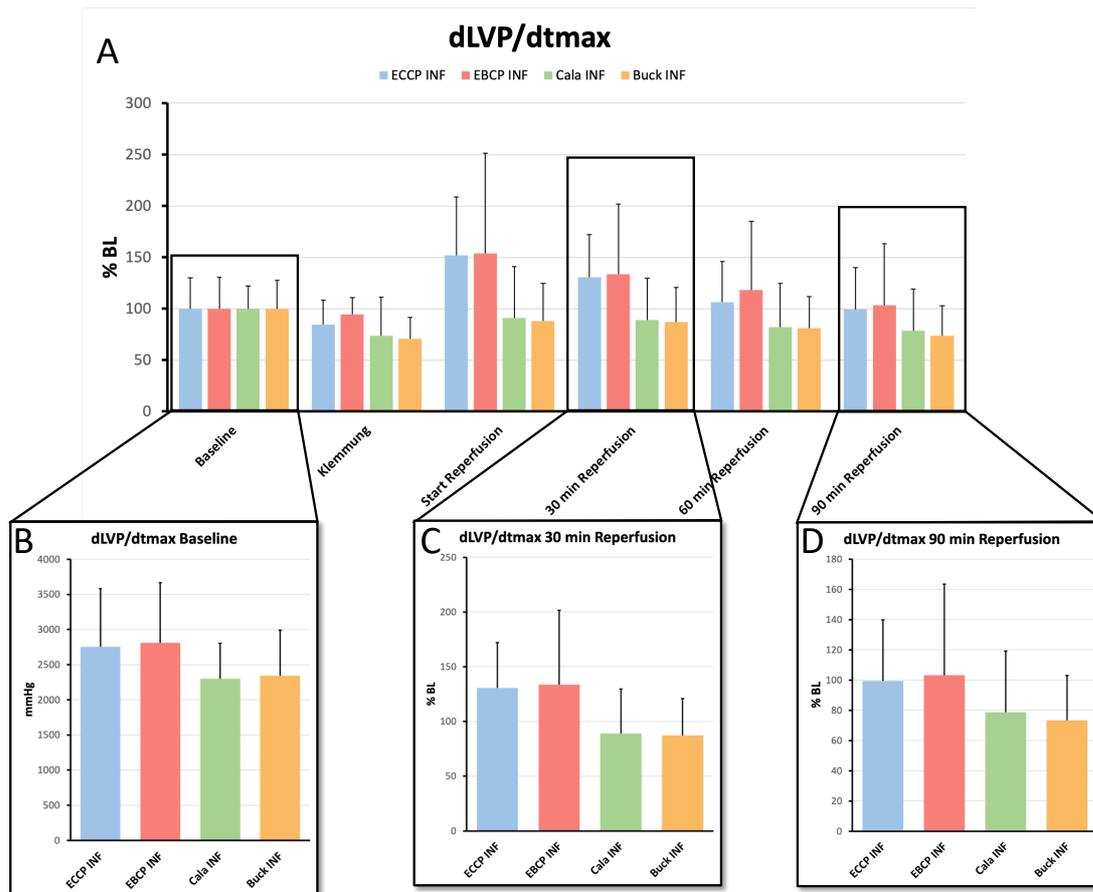


Abbildung 15: Mittelwerte des  $dLVP/dt_{max}$ . A: Mittelwerte des  $dLVP/dt_{max}$  in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des  $dLVP/dt_{max}$  zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des  $dLVP/dt_{max}$  nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des  $dLVP/dt_{max}$  nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

dLVP/dt <sub>max</sub>	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (mmHg)	1247 – 3784 2752 ± 831	1440 – 3614 2808 ± 856	1542 – 3294 2298 ± 506	1512 – 3613 2343 ± 647	0,371*
Klemmung (% BL)	49 – 112 85 ± 24	82 – 123 95 ± 16	36 – 155 74 ± 37	42 – 100 71 ± 21	0,257* 0,166 <sup>#</sup>
Beginn Rep (% BL)	50 – 236 152 ± 57	47 – 335 154 ± 97	44 – 182 91 ± 50	19 – 125 88 ± 37	0,073*
30 min Rep (% BL)	56 – 188 131 ± 41	57 – 263 134 ± 68	41 – 155 89 ± 41	19 – 113 87 ± 34	0,103*
60 min Rep (% BL)	46 – 184 106 ± 40	66 – 234 118 ± 67	31 – 149 82 ± 42	21 – 115 81 ± 31	0,318*
90 min Rep (% BL)	38 – 171 99 ± 41	53 – 220 103 ± 60	24 – 140 79 ± 41	21 – 113 74 ± 30	0,453*

*Tabelle 13: Messergebnisse der dLVP/dt<sub>max</sub> an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung der dLVP/dt<sub>max</sub> in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielles ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (<sup>#</sup>) berechnet. dLVP/dt<sub>max</sub> bzw. dLVP/dt<sub>min</sub> = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck, Rep = Reperfusion.*

Die Kontraktionsgeschwindigkeit (dLVP/dt<sub>max</sub>) war zu Beginn der Versuche, zu Beginn der Reperfusion, sowie nach 30, 60 und 90 min Reperfusion in der ECCP-, EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe jeweils normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ) und eine Varianzhomogenität war jeweils gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test  $p > 0,05$ ). Bei diesen Voraussetzungen wurde jeweils eine einfaktorielles ANOVA berechnet, um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des dLVP/dt<sub>max</sub> zum jeweiligen Zeitpunkt abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab.

#### 22.4.1 Versuchsbeginn (Baseline)

Zu Beginn der Versuche zeigte sich, dass sich der dLVP/dt<sub>max</sub> in der einfaktorielles ANOVA nicht statistisch signifikant für die verschiedenen Gruppenzugehörigkeiten unterschied ( $F(3, 28) = 1,087$ ;  $p = 0,3709$ , Abbildung 15 und Tabelle 13).

#### 22.4.2 Klemmung

Die Daten der dLVP/dt<sub>max</sub> der ECCP-, EBCP- und Buckberg-Gruppe waren während der Klemmung normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten Calafiore-Gruppe nach dem D'Agostino-Pearson Test nicht normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0243$ ). Allerdings zeigte sich in den weiteren Normalverteilungstests, dass auch hier wahrscheinlich eine Normalverteilung vorlag (Anderson-Darling Test, Shapiro-Wilk Test, Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,05$ ). Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des dLVP/dt<sub>max</sub> gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktorielles ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test

berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{max}$  während der Klemmung nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,422$ ;  $p = 0,2571$ ; Abbildung 15 und Tabelle 13). Auch in der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{max}$  während der Klemmung nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 5,077$ ;  $p = 0,1663$ ; Abbildung 15 und Tabelle 13).

#### **22.4.3 Während der Reperfusion**

Zu Beginn, nach 30 min, 60 min und 90 min Reperfusion zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{max}$  in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied (Beginn Reperfusion:  $F(3, 28) = 2,581$ ;  $p = 0,0733$ ; 30 min Reperfusion:  $F(3, 28) = 2,267$ ;  $p = 0,1025$ ; 60 min Reperfusion:  $F(3, 28) = 1,288$ ;  $p = 0,3181$ ; 90 min Reperfusion:  $F(3, 28) = 0,9014$ ;  $p = 0,4528$ ; Abbildung 15 und Tabelle 13).

## 22.5 RELAXATIONSGESCHWINDIGKEIT (dLVP/dt MIN)

Abbildung 16 und Tabelle 14 zeigen die Mittelwerte des dLVP/dt<sub>min</sub> in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum. Zusätzlich sind in der Abbildung die Werte zu Beginn der Versuche (Baseline) als Ausgangswerte, nach 30 min Reperfusion als repräsentativer Wert nach kurzzeitiger Reperfusion und nach 90 min Reperfusion als Endergebnis hervorgehoben.

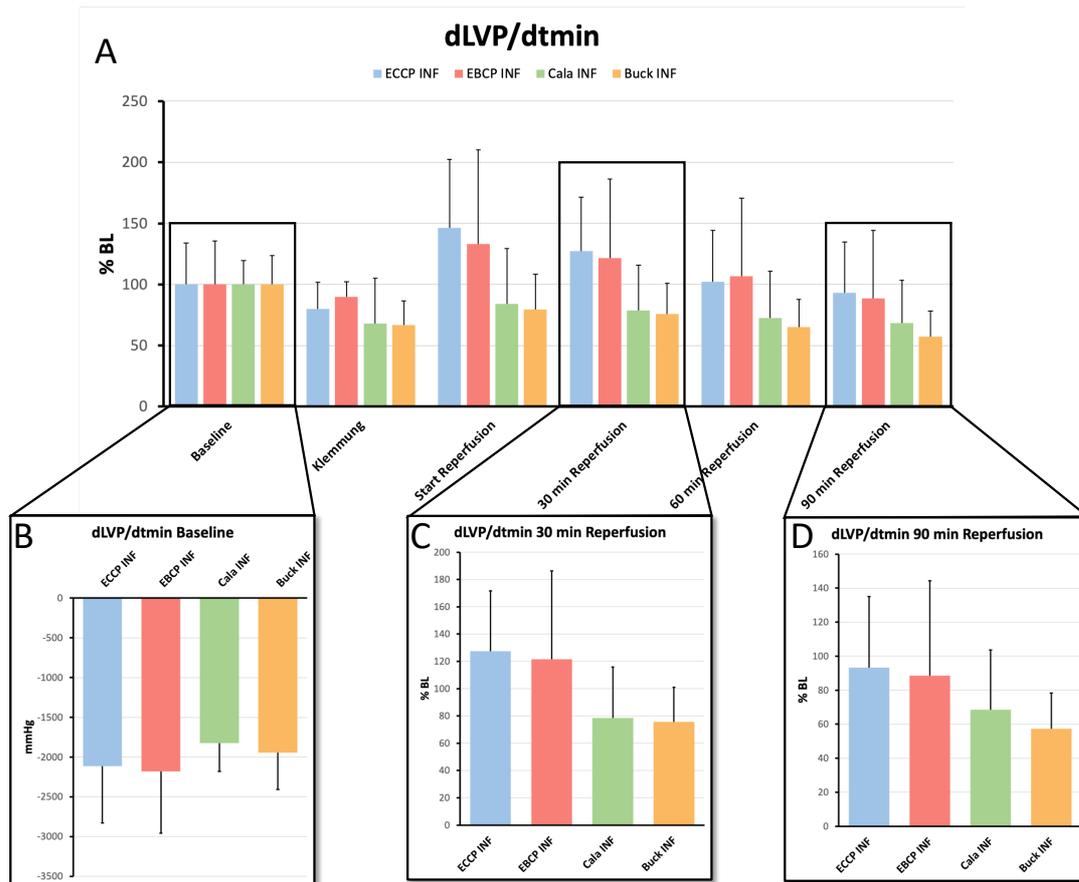


Abbildung 16: Mittelwerte des dLVP/dtmin. A: Mittelwerte des dLVP/dtmin in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des dLVP/dtmin zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des dLVP/dtmin nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des dLVP/dtmin nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

dLVP/dt <sub>min</sub>	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (mmHg)	-3039 – -979 -2113 ± 716	2923 – -993 -2182 ± 774	-2398 – -1214 -1824 ± 357	-2494 – -1192 -1946 ± 461	0,632
Klemmung (% BL)	51 – 111 80 ± 22	77 – 112 90 ± 12	33 – 151 68 ± 37	41 – 98 67 ± 20	0,218* <b>0,043<sup>#</sup></b>
Beginn Rep (% BL)	55 – 230 146 ± 56	49 – 279 133 ± 77	38 – 158 84 ± 46	27 – 119 80 ± 29	<b>0,044*</b>
30 min Rep (% BL)	58 – 199 127 ± 44	54 – 255 122 ± 65	34 – 148 79 ± 37	26 – 104 76 ± 25	0,050*
60 min Rep (% BL)	52 – 192 102 ± 42	54 – 224 107 ± 64	25 – 146 73 ± 38	27 – 99 65 ± 23	0,178* 0,139 <sup>#</sup>
90 min Rep (% BL)	46 – 176 93 ± 42	39 – 188 89 ± 56	21 – 135 69 ± 35	28 – 94 57 ± 21	0,263*

Tabelle 14: Messergebnisse der dLVP/dt<sub>min</sub> an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung der dLVP/dt<sub>min</sub> in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigte während der Klemmung und zu Beginn der Reperfusion einen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (<sup>#</sup>) berechnet. dLVP/dt<sub>max</sub> bzw. dLVP/dt<sub>min</sub> = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck, Rep = Reperfusion.

Die Relaxationsgeschwindigkeit (dLVP/dt<sub>min</sub>) war zu Beginn der Versuche, zu Beginn der Reperfusion, sowie nach 30 und 90 min Reperfusion in der ECCP-, EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe jeweils normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test p > 0,05) und eine Varianzhomogenität war jeweils gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test, p > 0,05). Bei diesen Voraussetzungen wurde jeweils eine einfaktorielle ANOVA berechnet, um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des dLVP/dt<sub>min</sub> zum jeweiligen Zeitpunkt abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab.

### 22.5.1 Versuchsbeginn (Baseline)

Zu Beginn der Versuche zeigte sich, dass sich der dLVP/dt<sub>min</sub> in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied (F (3, 28) = 0,5809; p = 0,6324; Abbildung 16 und Tabelle 14).

### 22.5.2 Klemmung

Die Daten der dLVP/dt<sub>min</sub> der ECCP-, EBCP-- und Buckberg-Gruppe waren während der Klemmung normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test p > 0,05), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe nach dem D'Agostino-Pearson Test (p = 0,0074) und dem Shapiro-Wilk Test (p = 0,0454) nicht normalverteilt. Allerdings waren die Daten nach dem Anderson-Darling Test (p = 0,0678) und dem Kolmogorov-Smirnov Test (p = 0,0665) wiederum normalverteilt. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test p > 0,05, Bartlett's Test p = 0,0464).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des dLVP/dt<sub>min</sub> gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test

berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{min}$  während der Klemmung nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,575$ ;  $p = 0,2175$ ; Abbildung 16 und Tabelle 14). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{min}$  während der Klemmung statistisch signifikant unterschied ( $H = 8,151$ ;  $p = 0,0430$ ; Abbildung 16 und Tabelle 14). Aber in Dunn's Post-Hoc Test zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Rängen der Gruppen.

### 22.5.3 Beginn der Reperfusion

Zu Beginn der Reperfusion zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{min}$  zu Beginn der Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 3,065$ ;  $p = 0,0442$ ; Abbildung 16 und Tabelle 14). Allerdings zeigte sich in Tukey's multiplen Mittelwertvergleich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

### 22.5.4 30 min Reperfusion

Nach 30 min Reperfusion zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{min}$  in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 2,945$ ;  $p = 0,0501$ ; Abbildung 16 und Tabelle 14).

### 22.5.5 60 min Reperfusion

Die Daten der  $dLVP/dt_{min}$  der EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren nach 60 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen war die Daten der ECCP-Gruppe nach dem D'Agostino-Pearson Test nicht normalverteilt ( $p = 0,0346$ ). Allerdings zeigte sich in den weiteren Normalverteilungstests (Anderson-Darling Test  $p = 0,1161$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,1385$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = > 0,1$ ), dass wahrscheinlich eine Normalverteilung vorlag. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des  $dLVP/dt_{min}$  nach 60 min Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{min}$  nach 60 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,761$ ;  $p = 0,1775$ ; Abbildung 16 und Tabelle 14). Auch in der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des  $dLVP/dt_{min}$  nach 60 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 5,503$ ;  $p = 0,1385$ ; Abbildung 16 und Tabelle 14).

### 22.5.6 90 min Reperfusion

Nach 90 min Reperfusion zeigte sich, dass sich der  $dLVP/dt_{min}$  in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,400$ ;  $p = 0,2633$ ; Abbildung 16 und Tabelle 14).

## 22.6 KORONARFLUSS (CF)

Abbildung 17 und Tabelle 15 zeigen die Mittelwerte des CF in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum. Zusätzlich sind in der Abbildung die Werte zu Beginn der Versuche (Baseline) als Ausgangswerte, nach 30 min Reperfusion als repräsentativer Wert nach kurzzeitiger Reperfusion und nach 90 min Reperfusion als Endergebnis hervorgehoben.

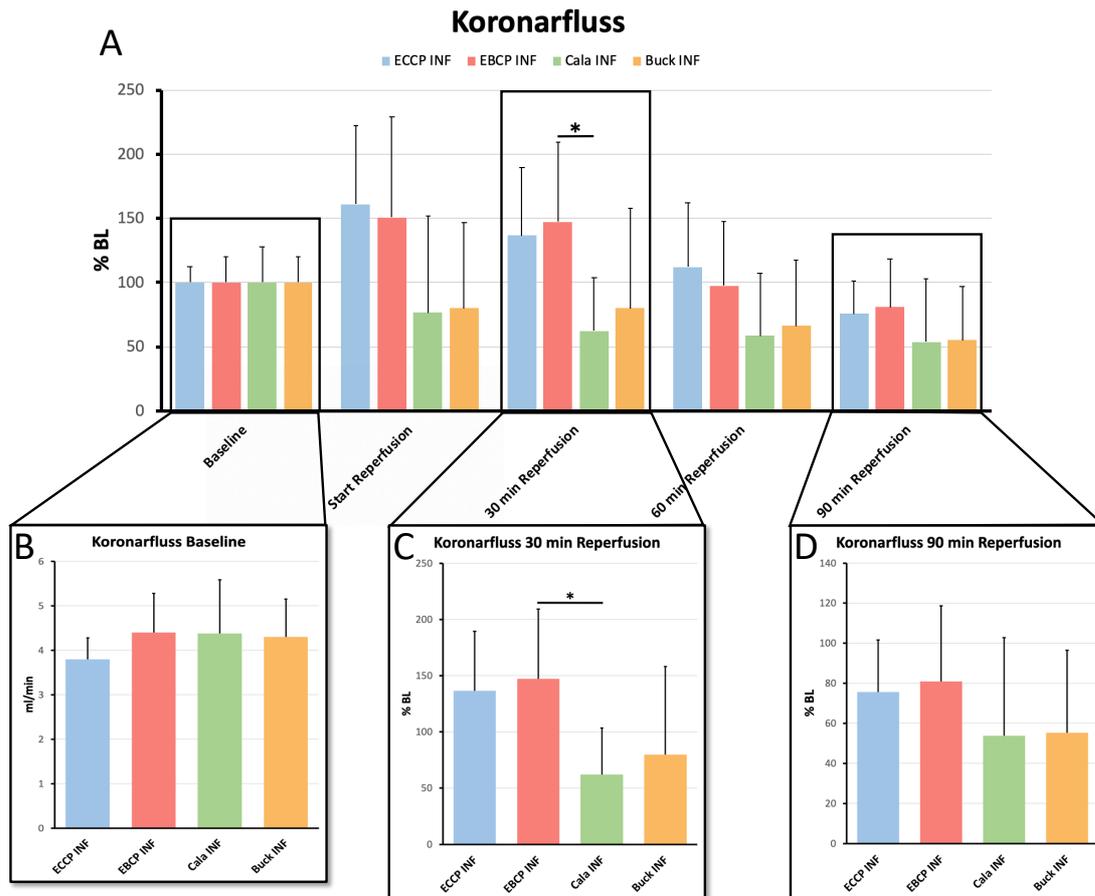


Abbildung 17: Mittelwerte des CF. A: Mittelwerte des CF in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des CF zu Beginn der Versuche [ml/min]. C: Mittelwerte des CF nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des CF nach 90 min Reperfusion [% BL]. \* $p < 0.05$ , einfaktorielle ANOVA mit Tukey's Post-hoc-Test. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

Koronarfluss	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (ml/min)	3,2 – 4,4 3,8 ± 0,5	3,2 – 5,6 4,4 ± 0,9	3,2 – 6,4 4,4 ± 1,2	3,2 – 5,2 4,3 ± 0,8	0,505*
Beginn Reperfusion (% BL)	31 – 216 162 ± 61	28 – 234 151 ± 78	17 – 247 77 ± 75	0 – 200 80 ± 67	<b>0,037*</b> 0,086 <sup>#</sup>
30 min Reperfusion (% BL)	31 – 200 137 ± 53	58 – 234 147 ± 62	22 – 153 62 ± 41	0 – 250 80 ± 78	<b>0,020*</b> <b>0,016<sup>#</sup></b>
60 min Reperfusion (% BL)	25 – 194 112 ± 50	33 – 189 98 ± 50	14 – 163 59 ± 49	0 – 139 66 ± 52	0,125* 0,124 <sup>#</sup>
90 min Reperfusion (% BL)	25 – 104 76 ± 26	33 – 149 81 ± 38	8 – 163 54 ± 49	0 – 116 55 ± 41	0,413* 0,254 <sup>#</sup>

Tabelle 15: Messergebnisse des CF an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des CF in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet. dLVP/dtmax bzw. dLVP/dtmin = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck.

### 22.6.1 Baseline

Der Koronarfluss (CF) war zu Beginn der Versuche in der ECCP-, EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ) und eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des CF zu Beginn der Versuche abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab, wurde aus diesem Grund eine einfaktorielle ANOVA berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der CF zu Beginn der Versuche nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 0,7990$ ;  $p = 0,5049$ ).

### 22.6.2 Beginn der Reperfusion

Die Daten des CF der EBCP- und Buckberg-Gruppe waren zu Beginn der Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0167$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0029$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0106$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,05$ ) und ECCP-Gruppe nach dem D'Agostino-Pearson Test ( $p = 0,0279$ ) nicht normalverteilt. Allerdings waren die Daten der ECCP-Gruppe für die weiteren Normalverteilungstests (Anderson-Darling Test  $p = 0,0645$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0502$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,1$ ) nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des CF zu Beginn der Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der CF zu Beginn der Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 3,250$ ;  $p = 0,0366$ ; Abbildung 17 und Tabelle 15). In Tukey's multiplen Mittelwertvergleich zeigte sich

allerdings kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der Gruppen. In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des CF zu Beginn der Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 6,608$ ;  $p = 0,0855$ ; Abbildung 17 und Tabelle 15).

### 22.6.3 30 min Reperfusion

Die Daten des CF der ECCP- und EBCP-Gruppe waren nach 30 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0289$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0088$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0299$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = 0,0080$ ) und Buckberg-Gruppe nach dem D'Agostino-Pearson Test ( $p = 0,0159$ ) nicht normalverteilt. Allerdings waren die Daten der Buckberg-Gruppe für die weiteren Normalverteilungstests (Anderson-Darling Test  $p = 0,1117$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0899$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,1$ ) nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test  $p > 0,05$ ). Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des CF nach 30 min Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der CF nach 30 min Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 3,861$ ;  $p = 0,0198$ ; Abbildung 17 und Tabelle 15). In Tukey's multiplen Mittelwertvergleich zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen dem CF in der EBCP-Gruppe (147,2 % BL) und dem CF der Calafiore Gruppe (62,2 % BL;  $p = 0,0401$ ). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des CF nach 30 min Reperfusion statistisch signifikant unterschied ( $H = 10,3$ ;  $p = 0,0162$ ; Abbildung 17 und Tabelle 15). In Dunn's Post-Hoc Test zeigte sich allerdings kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen dem mittleren Rang der Gruppen.

### 22.6.4 60 min Reperfusion

Die Daten des CF der ECCP-, EBCP- und Buckberg-Gruppe waren nach 60 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe nicht normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0217$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = 0,0408$ ). Allerdings waren die Daten der Calafiore-Gruppe für die weiteren Normalverteilungstests (Anderson-Darling Test  $p = 0,0677$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0570$ ) nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des CF nach 60 min Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-

Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der CF nach 60 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 2,087$ ;  $p = 0,1245$ ; Abbildung 17 und Tabelle 15). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des CF nach 60 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 5,759$ ;  $p = 0,1240$ ; Abbildung 17 und Tabelle 15).

#### **22.6.5 90 min Reperfusion**

Die Daten des CF der ECCP-, EBCP- und Buckberg-Gruppe waren nach 90 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe nicht normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0072$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0452$ ). Allerdings waren die Daten der Calafiore-Gruppe für die weiteren Normalverteilungstests (Anderson-Darling Test  $p = 0,0646$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,1$ ) nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des CF nach 90 min Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der CF nach 90 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 0,9883$ ;  $p = 0,4125$ ; Abbildung 17 und Tabelle 15). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang des CF nach 90 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 4,075$ ;  $p = 0,2535$ ; Abbildung 17 und Tabelle 15).

## 22.7 HERZFREQUENZ (HF)

Abbildung 18 und Tabelle 16 zeigen die Mittelwerte der Herzfrequenz in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum. Zusätzlich sind in der Abbildung die Werte zu Beginn der Versuche (Baseline) als Ausgangswerte, nach 30 min Reperfusion als repräsentativer Wert nach kurzzeitiger Reperfusion und nach 90 min Reperfusion als Endergebnis hervorgehoben.

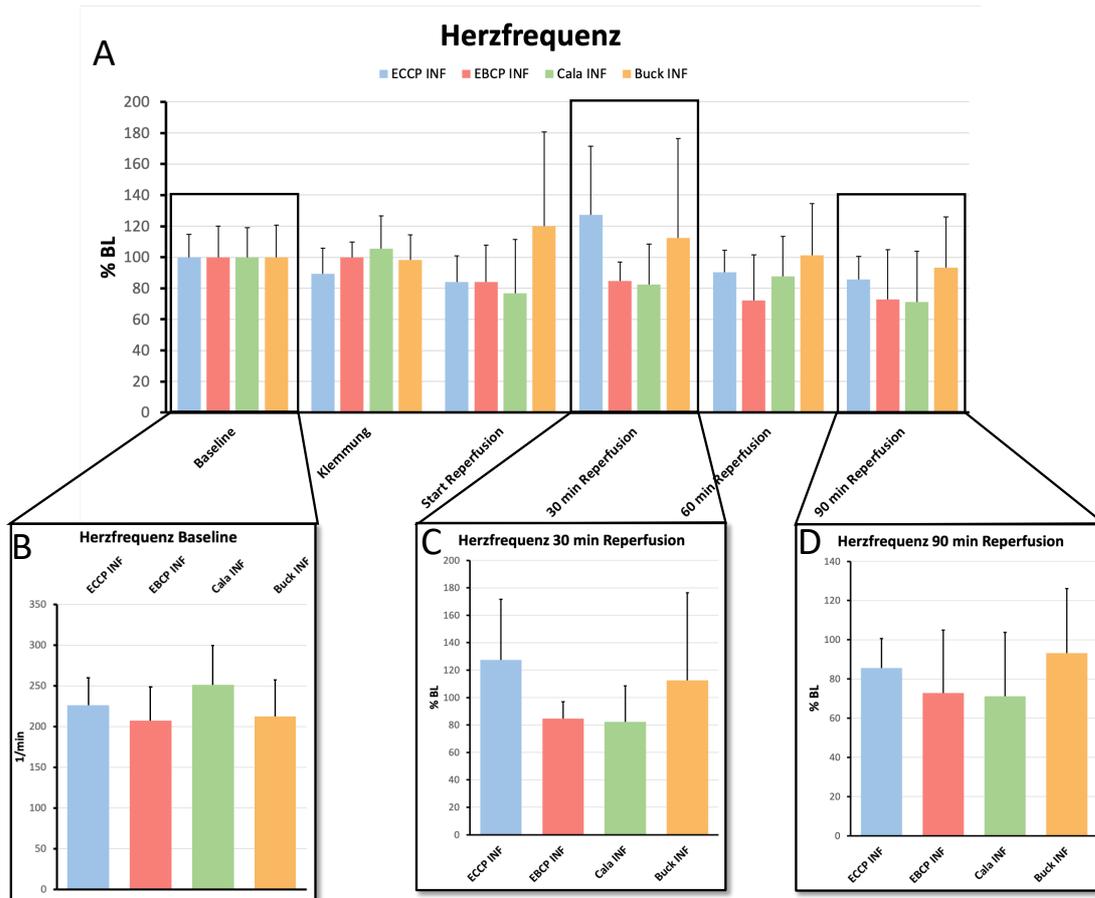


Abbildung 18: Mittelwerte der HF. A: Mittelwerte des HF in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des HF zu Beginn der Versuche [1/min]. C: Mittelwerte des HF nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des HF nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

Herzfrequenz	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (1/min)	184 – 272 227 ± 33	148 – 262 208 ± 42	213 – 358 252 ± 48	150 – 299 213 ± 44	0,182* 0,192#
Klemmung (% BL)	61 – 107 90 ± 16,	80 – 110 100 ± 10	83 – 148 106 ± 21	77 – 126 98 ± 16	0,284*
Beginn Reperfusion (% BL)	49 – 103 84 ± 17	47 – 110 84 ± 24	25 – 112 77 ± 35	63 – 257 120 ± 61	0,123* 0,283#
30 min Reperfusion (% BL)	60 – 102 85 ± 12,	44 – 108 80 ± 23	47 – 122 82 ± 26	65 – 258 113 ± 70	0,274* 0,713#
60 min Reperfusion (% BL)	69 – 111 90 ± 14	44 – 110 72 ± 29	53 – 126 88 ± 26	57 – 146 101 ± 33	0,207*
90 min Reperfusion (% BL)	64 – 108 86 ± 15	40 – 115 73 ± 32	27 – 120 71 ± 33	40 – 138 73 ± 33	0,390*

Tabelle 16: Messergebnisse der Herzfrequenz an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung der Herzfrequenz in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet. dLVP/dtmax bzw. dLVP/dtmin = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck.

Die Herzfrequenz (HF) war während der Klemmung, zu Beginn der Reperfusion, sowie nach 30 und 90 min Reperfusion in der ECCP-, EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren jeweils normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ) und eine Varianzhomogenität war jeweils gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ). Bei diesen Voraussetzungen wurde jeweils eine einfaktorische ANOVA berechnet, um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich der HF zum jeweiligen Zeitpunkt abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab.

### 22.7.1 Versuchsbeginn (Baseline)

Die Herzfrequenz (HF) war zu Beginn der Versuche in der ECCP-, EBCP- und Buckberg-Gruppe normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe nicht normalverteilt (Anderson-Darling Test  $p = 0,0443$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0061$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0243$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,1$ ). Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich die HF zu Beginn der Versuche gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktorischen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich die HF zu Beginn der Versuche nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,737$ ;  $p = 0,1821$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang der HF zu Beginn der Versuche nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 4,741$ ;  $p = 0,1917$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16).

### 22.7.2 Klemmung

Während der Klemmung zeigte sich, dass sich die HF in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,331$ ;  $p = 0,2842$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16).

### 22.7.3 Beginn der Reperfusion

Die Daten der HF der ECCP-, EBCP- und Calafiore-Gruppe waren zu Beginn der Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Buckberg-Gruppe nicht normalverteilt (Anderson-Darling Test  $p = 0,0270$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0037$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0231$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p = 0,0166$ ). Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ , Bartlett's Test  $p = 0,0082$ ).

Aus diesem Grund wurde neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich die HF zu Beginn der Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 2,096$ ;  $p = 0,1233$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang der HF zu Beginn der Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 3,810$ ;  $p = 0,2828$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16).

### 22.7.4 30 min Reperfusion

Die Daten der HF der ECCP-, EBCP- und Calafiore-Gruppe waren nach 30 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Buckberg-Gruppe nicht normalverteilt (Anderson-Darling Test  $p = 0,0130$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0021$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0069$ , Kolmogorov-Smirnov Test  $p > 0,1$ ). Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ , Bartlett's Test  $p = 0,0005$ ).

Aus diesem Grund wurde neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich die HF nach 30 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,365$ ;  $p = 0,2738$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang der HF nach 30 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 1,366$ ;  $p = 0,7134$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16).

### 22.7.5 60 min Reperfusion

Nach 60 min Reperfusion zeigte sich, dass sich die HF in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,620$ ;  $p = 0,2071$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16).

### 22.7.6 90 min Reperfusion

Nach 90 min Reperfusion zeigte sich, dass sich die HF in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,041$ ;  $p = 0,3898$ ; Abbildung 18 und Tabelle 16).

## 22.8 ZUSAMMENFASSUNG DER HÄMODYNAMISCHEN PARAMETER

Bei Studienbeginn waren die hämodynamische Leistung (LVpdP, dLVP/dtmax und dLVP/dtmin), sowie die Werte des Koronarflusses und der Herzfrequenz in den verschiedenen Versuchsarmen nahezu identisch und wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen allen Gruppen auf. Nach der Aortenklammung, sowie während der anschließenden Reperfusion für 90 Minuten erholte sich die hämodynamische Funktion der Herzen mit ECCP und EBCP tendenziell etwas besser als die der Herzen mit Calafiore und Buckberg, wiesen allerdings dennoch, bis auf wenige Ausnahmen (LVPSys nach 30 min Reperfusion; Abbildung 11; CF nach 30 min Reperfusion; Abbildung 17) in den meisten Parametern keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf (Tabelle 10, Tabelle 11, Tabelle 12, Tabelle 13, Tabelle 14, Tabelle 15, Tabelle 16).

Nach 90 Minuten Reperfusion erholten sich der LVpdP (ECCP 84,9% BL, EBCP 88,6% BL, Cala 56,3% BL, Buck 54,3% BL; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,222$ ; Abbildung 14), die Kontraktionsgeschwindigkeit (dLVP/dtmax: ECCP 99,3% BL, EBCP 103,3% BL, Cala 78,7% BL, Buck 73,5% BL; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,453$ ; Abbildung 15) und die Relaxationsgeschwindigkeit (dLVP/dtmin: ECCP 93,3% BL, EBCP 88,5% BL, Cala 68,5% BL, Buck 57,3% BL; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,263$ ; Abbildung 16) mit EBCP und ECCP tendenziell etwas besser, aber auch hier zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen.

## 23 METABOLISCHE PARAMETER

### 23.1 MYOKARDIALER SAUERSTOFFVERBRAUCH ( $M\dot{V}O_2$ )

Abbildung 19 und Tabelle 17 zeigen die Mittelwerte des myokardialen Sauerstoffverbrauchs in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum.

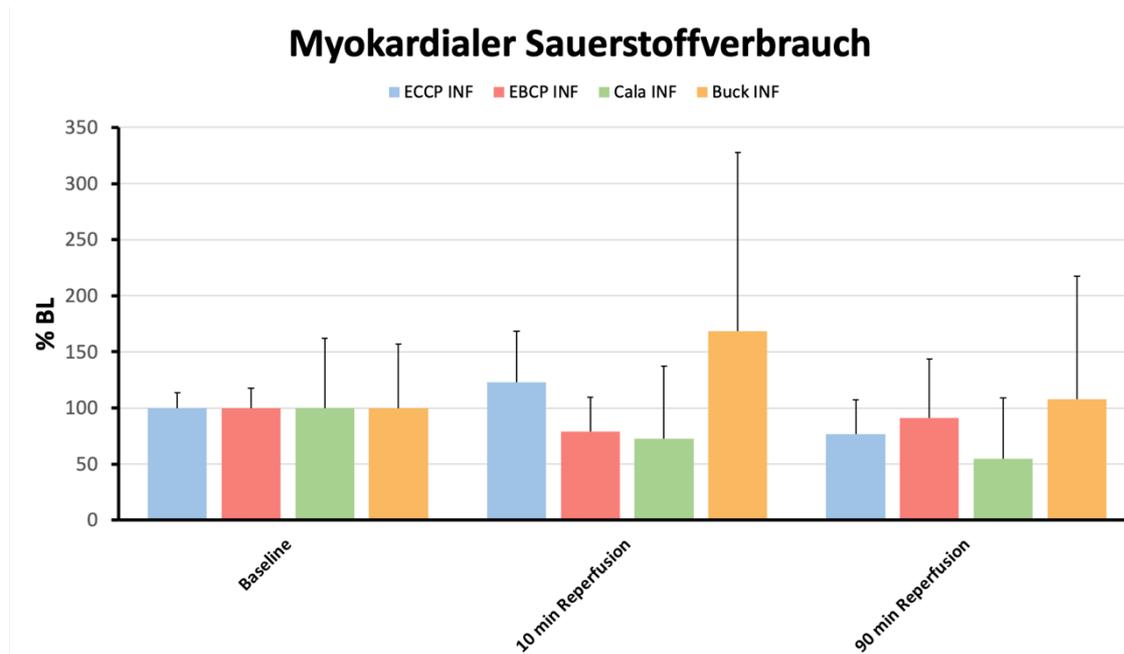


Abbildung 19: Mittelwerte des myokardialen Sauerstoffverbrauchs in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

$M\dot{V}O_2$	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (ml/(min*100g))	8,0 – 11,5 9,4 ± 1,3	6,4 – 0,11,6 9,4 ± 0,01,7	3,5 – 21,8 9,1 ± 5,7	1,4 – 12,2 6,3 ± 3,6	0,255* 0,158#
10 min Reperfusion (% BL)	28 – 174 123 ± 46	27 – 125 79 ± 31	16 – 214 73 ± 64	39 – 435 169 ± 159	0,142* 0,115#
90 min Reperfusion (% BL)	17 – 126 77 ± 31	17 – 179 91 ± 52	7 – 167 55 ± 54	19 – 301 108 ± 109	0,466*

Tabelle 17: Messergebnisse des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $M\dot{V}O_2$ ) an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $M\dot{V}O_2$ ) in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.

### 23.1.1 Versuchsbeginn (Baseline)

Abbildung 20 zeigt die Mittelwerte des Myokardialen Sauerstoffverbrauchs in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus jeweils zu Versuchsbeginn in  $\frac{\text{ml}}{\text{min} \times 100\text{g}}$ .

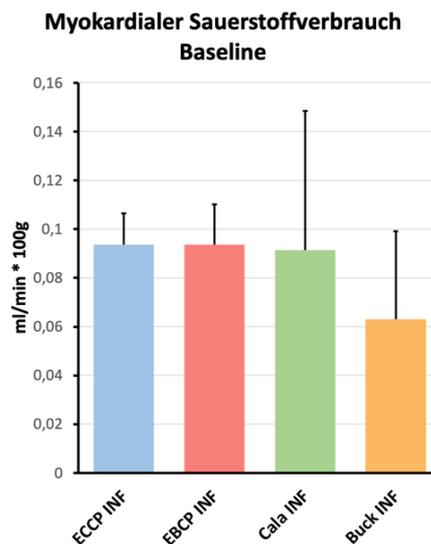


Abbildung 20: Mittelwerte des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $\dot{M}V\text{O}_2$ ) in den verschiedenen Versuchsgruppen zu Versuchsbeginn  $[\frac{\text{ml}}{\text{min} \times 100\text{g}}]$ . ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

Die Daten des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $\dot{M}V\text{O}_2$ ) der ECCP-, EBCP- und Buckberg-Gruppe waren zu Beginn der Versuche normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore-Gruppe nach dem D'Agostino-Pearson Test nicht normalverteilt ( $p = 0,0078$ ). Allerdings waren die Daten der Calafiore-Gruppe für die weiteren Normalverteilungstest nicht statistisch signifikant unterschiedlich (Anderson-Darling Test, Shapiro-Wilk Test, Kolmogorov-Smirnov Test,  $p > 0,05$ ). Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ , Bartlett's Test  $p = 0,0008$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich der  $\dot{M}V\text{O}_2$  zum Beginn der Versuche abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet.

In der ANOVA zeigte sich, dass sich der  $\dot{M}V\text{O}_2$  zum Beginn der Versuche nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,428$ ;  $p = 0,2554$ ; Abbildung 20 und Tabelle 17). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang der  $\dot{M}V\text{O}_2$  zum Beginn der Versuche nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 5,202$ ;  $p = 0,1576$ ; Abbildung 20 und Tabelle 17).

### 23.1.2 10 min Reperfusion

Die Daten des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $\dot{M}V\text{O}_2$ ) der ECCP- und EBCP-Gruppe waren nach 10 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore- und Buckberg-Gruppe nach dem D'Agostino-Pearson Test ( $p = 0,0113$ ) und dem Shapiro-Wilk Test ( $p = 0,0355$ ) nicht normalverteilt. Allerdings waren die Daten der Calafiore- und Buckberg-Gruppe für die weiteren Normalverteilungstests nicht statistisch signifikant unterschiedlich (Anderson-Darling Test, Kolmogorov-Smirnov Test,  $p > 0,05$ ). Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ , Bartlett's Test  $p = 0,0003$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich der  $\dot{M}V\text{O}_2$  während der Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der  $\dot{M}V\text{O}_2$  zum Beginn der Versuche nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,973$ ;  $p = 0,1419$ ; Abbildung 19 und Tabelle 17). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang der  $\dot{M}V\text{O}_2$  während der Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 5,924$ ;  $p = 0,1153$ ; Abbildung 19 und Tabelle 17).

### 23.1.3 90 min Reperfusion

Die Daten des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $\dot{M}V\text{O}_2$ ) der ECCP-, EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren nach 90 min Reperfusion normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ) und eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test  $p > 0,05$ , Bartlett's Test  $p = 0,0176$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich der  $\dot{M}V\text{O}_2$  nach 90 min Reperfusion gab, wurde aus diesem Grund eine einfaktoriellen ANOVA berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der  $\dot{M}V\text{O}_2$  nach 90 min Reperfusion nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 0,8748$ ;  $p = 0,4663$ ; Abbildung 19 und Tabelle 17).

## 23.2 MYOKARDIALE LAKTATPRODUKTION (MñLAC)

Abbildung 21 und Tabelle 18 zeigen die Mittelwerte der myokardialen Laktatproduktion in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum.

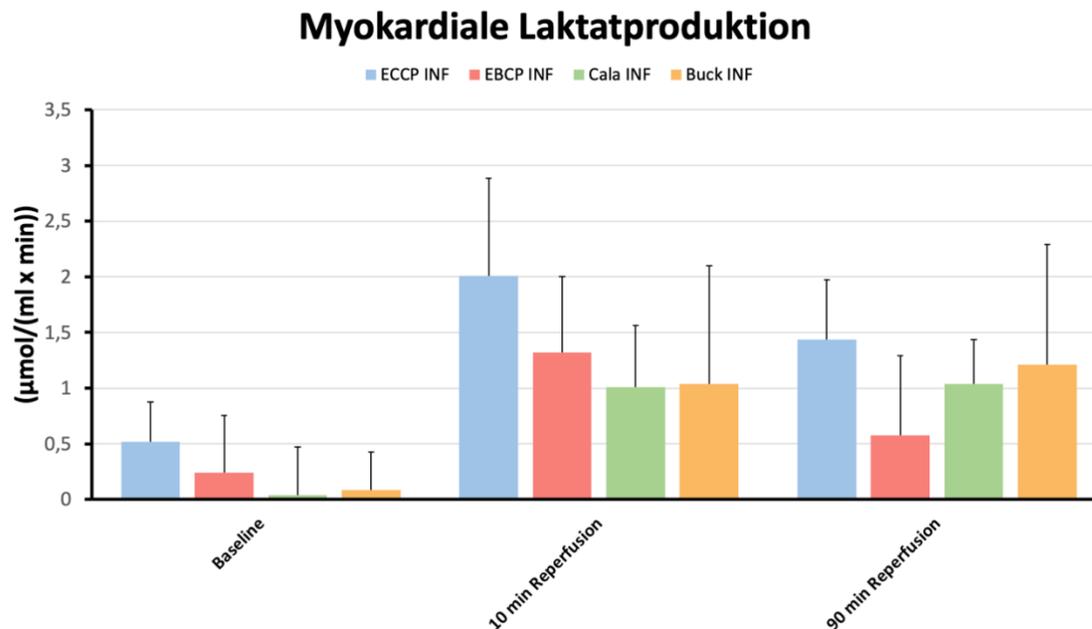


Abbildung 21: Mittelwerte der myokardialen Laktatproduktion (MñLac) in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

MñLac	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
Baseline (µmol/(ml*min))	-0,09 – 0,97 0,52 ± 0,36	-0,34 – 1,00 0,24 ± 0,51	-0,34 – 1,02 0,04 ± 0,43	-0,67 – 0,48 0,09 ± 0,34	0,114* 0,085#
10 min Reperfusion (µmol/(ml*min))	0,98 – 3,14 2,01 ± 0,88	0,29 – 2,45 1,32 ± 0,68	0,43 – 2,14 1,01 ± 0,55	-0,58 – 2,44 1,04 ± 1,06	0,071*
90 min Reperfusion (µmol/(ml*min))	0,76 – 2,12 1,43 ± 0,54	-0,84 – 1,61 0,58 ± 0,71	0,37 – 1,55 1,04 ± 0,40	0,32 – 3,26 1,22 ± 1,08	0,116*

Tabelle 18: Messergebnisse der Myokardialen Laktatproduktion (MñLac) an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung der Myokardialen Laktatproduktion (MñLac) in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.

### 23.2.1 Versuchsbeginn (Baseline)

Abbildung 22 zeigt die Mittelwerte der myokardialen Laktatproduktion in den verschiedenen Versuchsgruppen, sowie die Standardabweichung und die Signifikanzniveaus jeweils zu Versuchsbeginn in  $\frac{\mu\text{mol}}{\text{ml} \times \text{min}}$ .

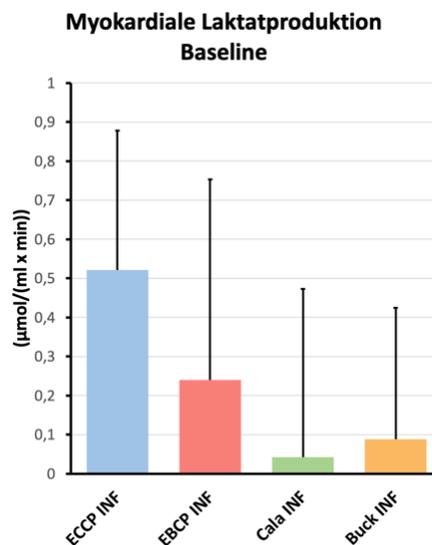


Abbildung 22: Mittelwerte der myokardialen Laktatproduktion (MnLac) in den verschiedenen Versuchsgruppen zu Versuchsbeginn  $\left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{ml} \times \text{min}}\right]$ . ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

Die Daten der myokardialen Laktatproduktion (MnLac) der ECCP- und EBCP-Gruppe waren zu Beginn der Versuche normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der Calafiore- (Anderson-Darling Test  $p = 0,0280$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0020$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0182$ , Kolmogorov-Smirnov Test,  $p > 0,1$ ) und Buckberg-Gruppe (Anderson-Darling Test  $p = 0,0195$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0035$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0265$ , Kolmogorov-Smirnov Test,  $p = 0,0498$ ) nicht normalverteilt. Eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich der MnLac zum Beginn der Versuche gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet. In der ANOVA zeigte sich, dass sich der MnLac zum Beginn der Versuche nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 2,167$ ;  $p = 0,1142$ ; Abbildung 22 und Tabelle 18). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang der MnLac zum Beginn der Versuche nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 6,623$ ;  $p = 0,0849$ ; Abbildung 22 und Tabelle 18).

### 23.2.2 Während der Reperfusion

Die Daten der myokardialen Laktatproduktion (MñLac) der ECCP-, EBCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren nach 10 und 90 min Reperfusion jeweils normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ) und eine Varianzhomogenität war jeweils gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ). Bei diesen Voraussetzungen wurde jeweils eine einfaktorielle ANOVA berechnet, um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich der MñLac zum jeweiligen Zeitpunkt abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab.

### 23.2.3 10 min Reperfusion

Während der Reperfusion zeigte sich, dass sich der MñLac in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 2,617$ ;  $p = 0,0714$ ; Abbildung 21 und Tabelle 18).

### 23.2.4 90 min Reperfusion

Nach 90 min Reperfusion zeigte sich, dass sich der MñLac in der einfaktoriellen ANOVA nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 2,167$ ;  $p = 0,1161$ ; Abbildung 21 und Tabelle 18).

## 23.3 ZUSAMMENFASSUNG DER METABOLISCHEN PARAMETER

Bei Studienbeginn waren die metabolischen Messwerte ( $\dot{M}V\text{O}_2$  und MñLac) in den verschiedenen Versuchsrmen nahezu identisch und wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen allen Gruppen auf (Tabelle 17, Tabelle 18).

Während der anschließenden Reperfusion für 90 Minuten wiesen die metabolischen Funktionen der Herzen zwischen den Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede auf. Nach 90 Minuten Reperfusion waren der myokardiale Sauerstoffverbrauch ( $\dot{M}V\text{O}_2$ : ECCP 76,5 % BL, EBCP 91,3 % BL, Calafiore 55,0 % BL, Buckberg 108,0% BL; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,466$ ; Abbildung 19) und die myokardiale Laktatproduktion (MñLac: ECCP  $1,43 \frac{\mu\text{mol}}{\text{ml} \times \text{min}}$ , EBCP  $0,58 \frac{\mu\text{mol}}{\text{ml} \times \text{min}}$ , Calafiore  $1,04 \frac{\mu\text{mol}}{\text{ml} \times \text{min}}$ , Buck  $1,22 \frac{\mu\text{mol}}{\text{ml} \times \text{min}}$ ; einfaktorielle ANOVA  $p = 0,116$ ; Abbildung 21) in einem ähnlichen Bereich und es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen.

## 24 INFARKTFÄRBUNG

## 24.1 INFARKTANTEIL DES MYOKARDINFARKTS AN DER GESAMTFLÄCHE

Abbildung 23 und Tabelle 19 zeigen die Mittelwerte des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> in den verschiedenen Versuchsgruppen.

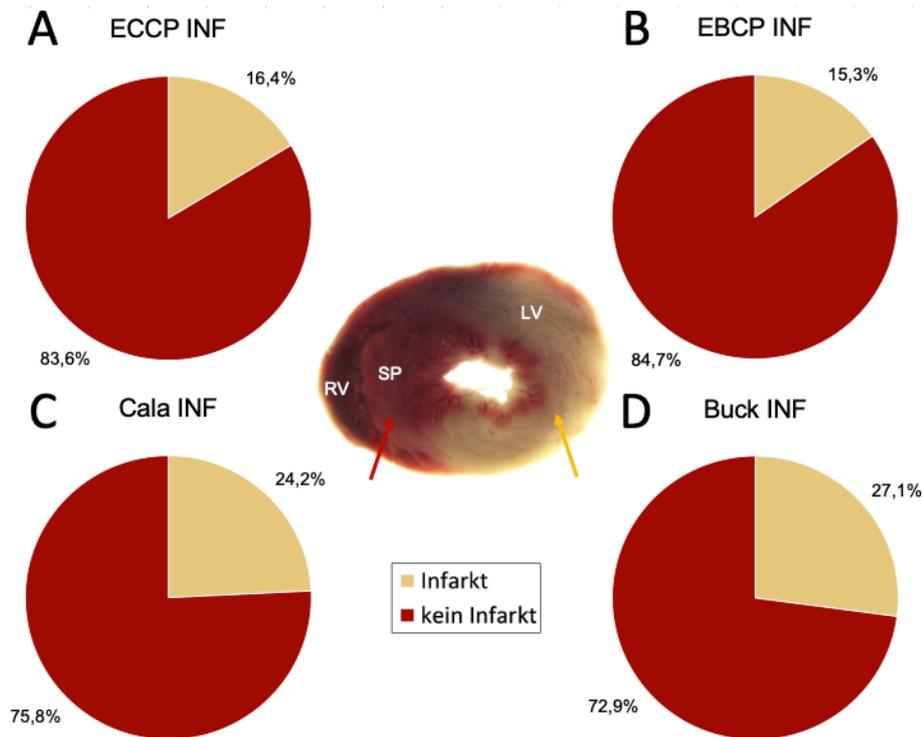


Abbildung 23: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] der Rattenherzen nach 30-minütiger Ligatur der RIVA mit anschließender 90-minütiger Reperfusion. Einfaktorielle ANOVA:  $p = 0,1452$ . Kruskal-Wallis Test:  $p = 0,123$ . A: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] mit ECCP Kardioplegie. B: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] mit EBCP Kardioplegie. C: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] mit Calafiore Kardioplegie. D: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] mit Buckberg Kardioplegie. Typisches Erscheinungsbild des Infarktbereichs (blasses Gewebe, gelber Pfeil) im Vergleich zum nicht infarzierten Bereich (rotes Gewebe, roter Pfeil). RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel, SP = Septum. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

Infarktanteil <sub>Gesamtfläche</sub>	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
90 min Reperfusion (%)	9,7 – 30,1 16,4 ± 6,8	9,0 – 33,9 15,3 ± 8,6	10,5 – 48,9 24,2 ± 13,7	10,7 – 44,2 27,1 ± 13,6	0,145* 0,123 <sup>#</sup>

Tabelle 19: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] der Rattenherzen nach 30-minütiger Ligatur der RIVA mit anschließender 90-minütiger Reperfusion. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (<sup>#</sup>) berechnet.

Die Daten der ECCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der EBCP-Gruppe nicht normalverteilt (Anderson-Darling Test  $p = 0,0195$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0035$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0059$ , Kolmogorov-Smirnov Test,  $p = 0,0172$ ) und eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des Anteils des Myokardinfarkts an der Gesamtfläche abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet.

In der ANOVA zeigte sich, dass sich der Anteil des Myokardinfarkts an der Gesamtfläche nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,957$ ;  $p = 0,1452$ ; Abbildung 23 und Tabelle 19). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang der Anteil des Myokardinfarkts an der Gesamtfläche nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 5,771$ ;  $p = 0,1233$ ; Abbildung 23 und Tabelle 19).

## 24.2 INFARKTANTEIL DES MYOKARDINFARKTS AN DEM GESAMTGEWICHT

Abbildung 24 und Tabelle 20 zeigen die Mittelwerte des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> in den verschiedenen Versuchsgruppen.

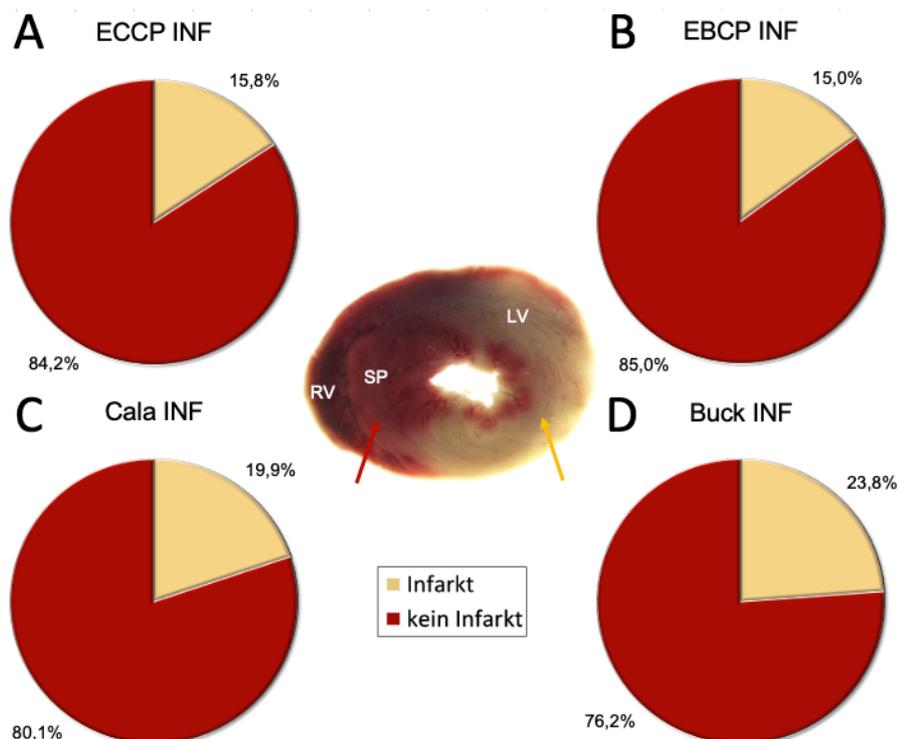


Abbildung 24: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] der Rattenherzen nach 30-minütiger Ligatur der RIVA mit anschließender 90-minütiger Reperfusion. Einfaktorielle ANOVA:  $p = 0,347$ . Kruskal-Wallis Test:  $0,294$ . A: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] mit ECCP Kardioplegie. B: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] mit EBCP Kardioplegie. C: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] mit Calafiore Kardioplegie. D: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] mit Buckberg Kardioplegie. Typisches Erscheinungsbild des Infarktbereichs (blasses Gewebe, gelber Pfeil) im Vergleich zum nicht infarzierten Bereich (rotes Gewebe, roter Pfeil). RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel, SP = Septum. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

Infarktanteil <sub>Gesamtgewicht</sub>	ECCP (n=8)	EBCP (n=8)	Calafiore (n=8)	Buckberg (n=8)	p
90 min Reperfusion (%)	9,3 – 29,7 15,8 ± 6,8	8,8 – 34,5 15,0 ± 9,1	7,9 – 39,7 19,9 ± 11,1	9,8 – 41,4 23,8 ± 13,2	0,346* 0,294#

Tabelle 20: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] der Rattenherzen nach 30-minütiger Ligatur der RIVA mit anschließender 90-minütiger Reperfusion. Der Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.

Die Daten der ECCP-, Calafiore- und Buckberg-Gruppe waren normalverteilt (D'Agostino-Pearson Test  $p > 0,05$ ), dagegen waren die Daten der EBCP-Gruppe nicht normalverteilt (Anderson-Darling Test  $p = 0,0195$ , D'Agostino-Pearson Test  $p = 0,0035$ , Shapiro-Wilk Test  $p = 0,0043$ , Kolmogorov-Smirnov Test,  $p = 0,0425$ ) und eine Varianzhomogenität war gegeben (Brown-Forsythe Test, Bartlett's Test,  $p > 0,05$ ).

Um zu untersuchen, ob es einen Unterschied bezüglich des Anteils des Myokardinfarkts an dem Gesamtgewicht abhängig von der Gruppenzugehörigkeit gab, wurde aus diesem Grund neben einer einfaktoriellen ANOVA auch ein Kruskal-Wallis Test berechnet.

In der ANOVA zeigte sich, dass sich der Anteil des Myokardinfarkts an dem Gesamtgewicht nicht statistisch signifikant unterschied ( $F(3, 28) = 1,153$ ;  $p = 0,3466$ ; Abbildung 24 und Tabelle 20). In der Kruskal-Wallis Statistik zeigte sich, dass sich der mittlere Rang der Anteil des Myokardinfarkts an dem Gesamtgewicht nicht statistisch signifikant unterschied ( $H = 3,711$ ;  $p = 0,2944$ ; Abbildung 24 und Tabelle 20).

### 24.3 ZUSAMMENFASSUNG DER INFARKTFÄRBUNG

Das Herbeiführen eines Myokardinfarkts war in allen Herzen erfolgreich, was durch die Größe des Infarktareals nach 90 Minuten Reperfusion dokumentiert werden konnte.

Der Anteil des Myokardinfarkts an der Gesamtfläche (Abbildung 23) und am Gesamtgewicht (Abbildung 24) war in der Gruppe mit EBCP (Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> = 15,3 % bzw. Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> = 15,0 %) und ECCP (16,4 % bzw. 15,8) etwas kleiner als in der Calafiore-Gruppe (24,2% bzw. 19,9) und Buckberg-Gruppe (27,1 % bzw. 23,8).

Der Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> bzw. des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigte allerdings keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben (Kruskal-Wallis Statistik  $p = 0,123$  bzw.  $p = 0,294$ ; Tabelle 19 und Tabelle 20).

## 25 ELEKTRONENMIKROSKOPIE

Die folgenden Daten wurden von Herrn Prof. Dr. med. Christian Mühlfeld und Frau Dr. rer. nat. Julia Schipke aus dem Institut für Funktionelle und Angewandte Anatomie der Medizinischen Hochschule Hannover (Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover) erhoben und dürfen mit deren freundlicher Genehmigung in dieser Arbeit verwendet werden. Die statistische und graphische Auswertung wiederum erfolgte aus eigener Hand.

Die Herzen der verschiedenen Kardioplegie-Gruppen zeigten in der Elektronenmikroskopie geringe Anzeichen einer Ischämie-Reperfusionsschädigung und die Anzeichen waren in allen Versuchsgruppen ähnlich darstellbar. Die Ultrastruktur der Kardiomyozyten in den elektronenmikroskopischen Aufnahmen war in allen Gruppen nahezu normal (Abbildung 25). Die quantitative morphometrische Auswertung der mitochondrialen Schwellung (V/S-Ratio; Abbildung 26) und des zellulären Ödemindex (CEI; Abbildung 27) zeigte ebenfalls keinen signifikanten Unterschied, was die qualitative Beobachtung einer geringen Ischämie-Reperfusionsschädigung mit Vergleichbarkeit in allen Versuchsgruppen untermauerte.

### 25.1 QUALITATIVE AUSWERTUNG

Die Herzen der verschiedenen Kardioplegie-Gruppen zeigten in der Elektronenmikroskopie im qualitativen Vergleich der Versuchsarme geringe Anzeichen einer Ischämie-Reperfusionsschädigung (Abbildung 25). Nach der Klemmung mit Kardioplegiegabe und anschließenden Reperfusion der Organe waren diese subtilen Veränderungen in allen Versuchsgruppen ähnlich darstellbar. Deshalb kann bei der qualitativen Beurteilung der Myokardproben gesagt werden, dass keine ultrastrukturellen Unterschiede zwischen den Gruppen zu entdecken waren.

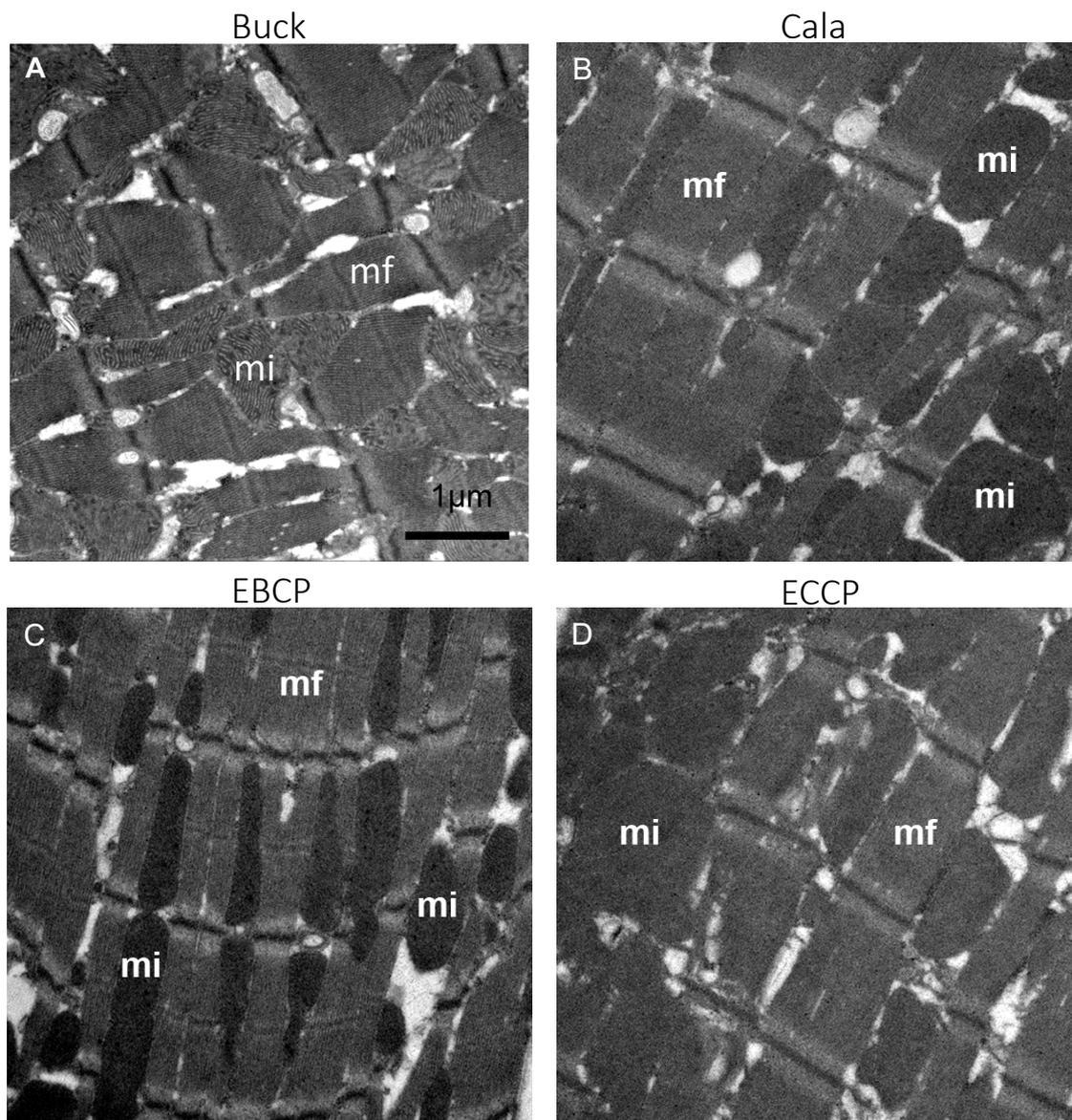


Abbildung 25: Übersicht repräsentativer elektronenmikroskopischer Aufnahmen aus linken Ventrikeln der Rattenherzen ( $n = 2$ ) der verschiedenen Versuchsgruppen nach 90-minütiger Reperfusion. A: Buckberg Blutkardioplegie. B: Calafiore Blutkardioplegie. C: Esmolol Blutkardioplegie. D: Esmolol kristalloide Kardioplegie. Testlinienlänge = 1 µm, mf = Myofibrille, mi = Mitochondrium. Vergrößerung: 14000 x.

## 25.2 QUANTITATIVE AUSWERTUNG

Auch wenn die quantitativen Daten bei  $n = 2$  keine statistische Aussagekraft haben, decken sie sich mit der qualitativen Einschätzung: Alle Proben zeigten eine sehr gute Myokardprotektion mit wenig Ödem und wenig geschwollenen Mitochondrien.

Im quantitativen Vergleich der Versuchsarme ist bezüglich des Ischämie-Reperfusionsschadens festzustellen, dass die Herzen aller untersuchten Gruppen eine annähernd gleiche Schädigung durch die Ischämie- und Reperusionsphase hatten. Sowohl bei der V/S-Ratio(mi) (Abbildung 26; einfaktorielle ANOVA  $F(3,4) = 1,154$ ,  $p = 0,4300$ ; Kruskal-Wallis Test  $H = 3,667$ ,  $p = 0,3810$ ), als auch bei dem CEI (Abbildung 27; einfaktorielle ANOVA  $F(3,4) = 1,154$ ,  $p = 0,3088$ ; Kruskal-Wallis Test  $H = 4,000$ ,  $p = 0,3429$ ), konnte keines der Kardioplegieverfahren einen statistisch signifikanten Unterschied erzielen.

### 25.2.1 Volumen-Oberflächen-Verhältnis bzw. Volume-Surface-Ratio (V/S-Ratio(mi))

Der Mittelwert der mitochondrialen Schwellung (V/S-Ratio) nach 90 Minuten Reperfusion betrug in der ECCP-Gruppe  $0,40 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,04 \mu\text{m}$ . In der EBCP-Gruppe betrug der Mittelwert  $0,43 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,01 \mu\text{m}$ . In der Calafiore-Gruppe betrug der Mittelwert  $0,35 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,06 \mu\text{m}$ . In der Buckberg-Gruppe betrug der Mittelwert  $0,29 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $0,01 \mu\text{m}$  (Abbildung 26).

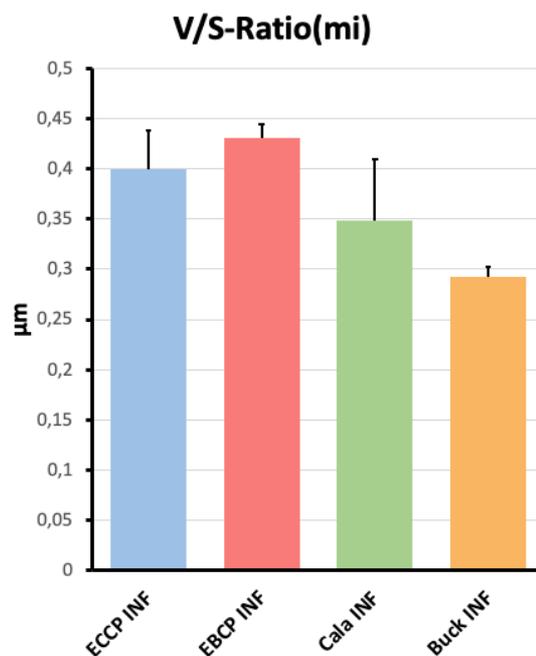


Abbildung 26: Mittelwerte der V/S-Ratio(mi) aus linken Ventrikeln der Rattenherzen ( $n = 2$ ) der verschiedenen Versuchsgruppen nach 90-minütiger Reperfusion. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

### 25.2.2 Zellulärer Ödemindex bzw. Cellular-oedema-index (CEI)

Der Mittelwert des zellulären Ödemindex (CEI) nach 90 Minuten Reperfusion betrug in der ECCP-Gruppe 0,40 mit einer Standardabweichung von 0,02. In der EBCP-Gruppe betrug der Mittelwert 0,39 mit einer Standardabweichung von 0,004. In der Calafiore-Gruppe betrug der Mittelwert 0,40 mit einer Standardabweichung von 0,14. In der Buckberg-Gruppe betrug der Mittelwert 0,53 mit einer Standardabweichung von 0,01 (Abbildung 27).

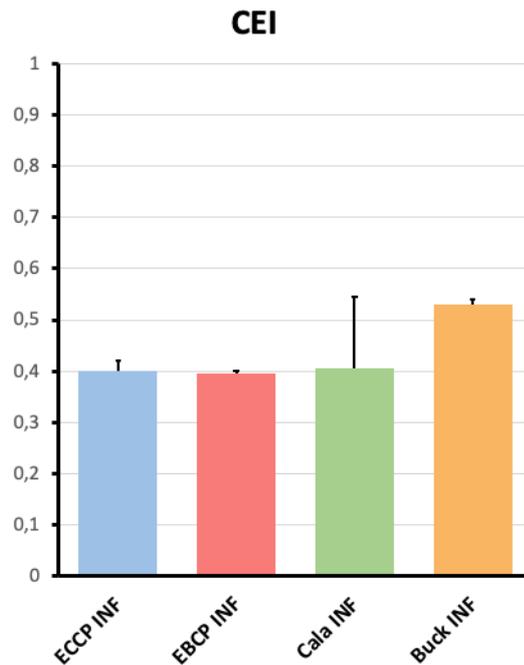


Abbildung 27: Mittelwerte des CEI aus linken Ventrikeln der Rattenherzen ( $n = 2$ ) der verschiedenen Versuchsgruppen nach 90-minütiger Reperfusion. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.

## IV DISKUSSION

### 26 ZUSAMMENFASSUNG DER HAUPTERGEBNISSE

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Erholung von funktionellen und metabolischen Parametern nach Ischämie und Reperfusion unter Einfluss verschiedener Kardioplegielösungen an Herzen erwachsener männlicher Ratten in einem in-vitro-Modell untersucht. Nach einer regionalen Myokardischämie folgte eine Phase mit einem kardioplegischen Herzstillstand und je nach Versuchsarm die Gabe von ECCP, EBCP, Calafiore oder Buckberg Kardioplegie mit einer anschließenden Reperfusion.

Zu Versuchsbeginn waren die hämodynamische Leistung und die biochemischen Messwerte in allen Versuchsgruppen nahezu gleich und wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Alle Baseline-Werte lagen in dem Bereich, der aufgrund früherer Experimente zu erwarten war (Böning et al. 2018b). Auch der myokardiale Sauerstoffverbrauch in Ruhe, der normalerweise bei  $8 \text{ bis } 13 \frac{\text{ml}}{\text{min} \times 100\text{g}}$  liegt (Hoffman und Buckberg 2014), entsprach bei den Versuchen den Erwartungen. In vorangehenden Versuchen konnte bereits gezeigt werden, dass Esmolol-basierte Kardioplegielösungen, insbesondere ECCP, bei der Applikation an Rattenherzen mit globaler Myokardischämie einen statistisch signifikant besseren Schutz des Myokards vor Ischämie-/Reperfusionsschäden im Vergleich zur Calafiore Blutkardioplegie bieten (Veitinger et al. 2021).

In dem in-vitro-Modell dieser Arbeit, mit einer zusätzlichen Phase mit einer regionalen Myokardischämie, boten Esmolol-basierte Kardioplegien nach 90-minütiger Reperfusion einen zumindest gleichwertig guten Schutz des Myokards vor Ischämie-/Reperfusionsschäden im Vergleich zu kaliumbasierten Blutkardioplegielösungen (LVpdP:  $p = 0,222$ ; dLVP/dt<sub>max</sub>:  $p = 0,453$ ; dLVP/dt<sub>min</sub>:  $p = 0,264$ ; CF:  $p = 0,254$ ; HF:  $p = 0,390$ ; M $\dot{V}$ O<sub>2</sub>:  $p = 0,466$ ; M $\dot{n}$ Lac:  $p = 0,116$ ). Die Infarktgröße war bei Herzen, die mit Kardioplegielösungen auf Esmolol-Basis behandelt wurden, tendenziell kleiner, aber dieser Unterschied war zwischen den Gruppen nicht statistisch signifikant (Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub>:  $p = 0,1233$ ; Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub>:  $p = 0,2944$ ), was möglicherweise auf eine zu kleine Stichprobengröße zurückzuführen ist.

Bell et. al. gingen davon aus, dass eine 30-35-minütige normotherme Ischämie ohne Blutfluss für ein Myokardinfarktmodell im Langendorff-Apparat optimal ist, da es in diesem Zeitraum zu einem Infarkt von etwa 50 % des Myokards innerhalb des gefährdeten Bereichs kommt (Bell et al. 2011). Nachdem die Infarktgröße bei allen in dieser Arbeit verwendeten Kardioplegielösungen deutlich unter diesem Wert liegt, kann

man davon ausgehen, dass alle verwendeten Kardioplegielösungen einen guten Schutz des Myokards vor Ischämie-/Reperfusionsschäden bieten.

Bei der Erholung der hämodynamischen Parameter zeigte sich nach 30 min Reperfusion in der EBCP- und ECCP-Gruppe ein statistisch signifikant höherer linksventrikulärer systolischer Druck gegenüber der Buckberg-Gruppe ( $p = 0,0261$ ), sowie in der EBCP-Gruppe ein ebenfalls statistisch signifikant höherer Koronarfluss gegenüber der Calafiore-Gruppe ( $p = 0,0401$ ). Während der Reperfusion zeigte sich in der ECCP und Buckberg-Gruppe ein tendenziell höherer myokardialer Sauerstoffverbrauch, was auf mehr erhaltenes vitales Myokard hinweisen könnte, aber dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant ( $p = 0,115$ ). Außerdem war der Sauerstoffverbrauch der EBCP-Gruppe nach 90 min Reperfusion sogar höher als während der Reperfusion, aber auch dies war statistisch nicht signifikant unterschiedlich ( $p = 0,4663$ ). Diese Ergebnisse untermauern die These, dass alle Lösungen in diesem speziellen Anwendungsfall einen vergleichbar guten Schutz des Myokards vor Ischämie-/Reperfusionsschäden bieten.

In Zusammenschau deutet die etwas bessere hämodynamische Erholung und der tendenziell höhere Sauerstoffverbrauch in der EBCP-Gruppe auf etwas mehr lebensfähiges Myokardgewebe nach der Reperfusion hin. Zu dieser Interpretation passt auch, dass die Laktatproduktion während und nach der Reperfusion in der EBCP-Gruppe im Vergleich zu ECCP, Calafiore und Buckberg, wenn auch nicht statistisch signifikant unterschiedlich, auf niedrigere Absolutwerte abnimmt ( $p = 0,116$ ). Insgesamt zeigte sich, dass Kardioplegielösungen auf Esmolol-Basis einen mindestens gleichwertigen Schutz des Myokardgewebes bieten, wie die weit verbreiteten hyperkaliämischen Kardioplegielösungen nach Calafiore und Buckberg. Während die Kardioplegie nach Calafiore und nach Buckberg auf einer Hyperkaliämie basiert, die einen depolarisierten diastolischen Herzstillstand mit einem Membranpotenzial um  $-40$  mV verursacht, ist Esmolol ein kurz wirksamer Betablocker, der einen diastolischen Herzstillstand mit einem Membranpotenzial um  $-70$  mV, also nahezu im Bereich des Ruhemembranpotenzials bewirkt (Abbildung 3) (Fallouh et al. 2010). Die geringen Unterschiede zwischen den Ergebnissen aller Versuchsgruppen deuten darauf hin, dass die unterschiedlichen Mechanismen, die zur Induktion des Herzstillstands verwendet wurden, zu keiner relevant schlechteren Erholung der Myokardfunktion nach regionaler Ischämie führen. Tendenziell zeigte sich in unserem Setting sogar eine leicht bessere Erholung der Myokardfunktion, was zu Ergebnissen vorangegangener Untersuchungen mit einer lediglich globalen Myokardischämie passen würde (Veitinger et al. 2021).

## 27 DISKUSSION DER METHODEN

### 27.1 EINFLUSS DER RAHMENBEDINGUNGEN

Die Gültigkeit der Ergebnisse beruht auf der Voraussetzung, dass die Randbedingungen in allen Gruppen vergleichbar waren. Dazu gehören die Konzentrationen der Elektrolyte (insbesondere Kalium, Magnesium, Calcium) und Erythrozyten in den kardioplegischen Lösungen und im Perfusat. Die Elektrolyt- und Erythrozytenkonzentrationen wurden für jeden Versuch mittels Messungen mit dem BGA-Gerät bestimmt und so eine adäquate Einstellung der Elektrolyte und Oxygenierung gewährleistet. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Rahmenbedingungen in allen Gruppen vergleichbar waren, da für alle Versuche dieselben Randbedingungen galten.

### 27.2 EINFLUSS DER VERSUCHSTIERE

#### 27.2.1 Einfluss des Herzgewichts

Zunächst ist in Betracht zu ziehen, inwieweit die Divergenz der Versuchsparameter die Ergebnisse der Versuche beeinflusst haben könnte. Zwar gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied der Versuchstiere im Körpergewicht, aber die Gruppen unterschieden sich statistisch signifikant im Herzgewicht. Dies könnte den Koronarfluss und den O<sub>2</sub>-Verbrauch beeinflusst haben, da das Gesamt-Herzvolumen ein Prädiktor für die maximale Sauerstoffaufnahme ist (Steding et al. 2010) und die Herzleistung bzw. das Herzzeitvolumen nachweislich mit der maximalen Sauerstoffaufnahme zusammenhängt (Saltin und Calbet 2006). Hier zeigten sich allerdings zu Beginn der Versuche keine signifikanten Gruppenunterschiede. Außerdem wurden bei allen Messungen die Baseline-Werte zugrunde gelegt, um dann die prozentuale Abweichung von diesen Werten zu bestimmen. Also selbst im Falle einer Abweichung würde in diesem Fall ein Gruppenunterschied bei den Baseline-Werten in der späteren Auswertung nicht mehr relevant werden, wie es im Gegensatz dazu bei Bestimmung von Absolutwerten gelten könnte.

Zudem hatte das Herzgewicht der Versuchstiere mit hoher Wahrscheinlichkeit auch einen Einfluss auf den Unterschied bei der Anzahl der Herzschnitte der verschiedenen Versuchssarme, welche jedoch lediglich die Genauigkeit der Annäherung an den Mittelwert des Infarktanteils an der Gesamtfläche bzw. der Gesamtmasse beeinflusst haben könnte. Auch hier ließ sich allerdings kein Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen ablesen.

### **27.2.2 Einfluss der koronaren Blutversorgung**

Ein anderer zu berücksichtigender Punkt bei der Interpretation der Ergebnisse ist, dass durch die Verwendung der Auszuchtlinie Wistar, RjHan:WI für die Durchführung der Versuche, durch die hohe interindividuelle genetische Variabilität, das Auftreten unterschiedlicher Koronarversorgungstypen der Herzen wahrscheinlicher wurde. Wie auch in der menschlichen Population ist der Koronarversorgungstyp bei Ratten nicht identisch und zeigt eine anatomische Variation (Ilia et al. 2001, Das et al. 2010).

Ein weiterer Aspekt ist auch der variierende Verlauf des RIVA, der zum einen nicht immer denselben Myokardbereich versorgt und andererseits auch nicht immer deutlich abgrenzbar ist, sodass es zur Verwechslung und Klemmung des falschen Koronargefäßes kommen kann (Yamanaka und Hobbs 1990, Angelini et al. 2002, Tuncer et al. 2006).

Insgesamt kann es durch die Variation des Koronarversorgungstyps und den Verlauf des RIVA zu einem Einfluss auf das Gebiet der Ischämie kommen (Lowe et al. 1978), wodurch ein Einfluss auf die Größe der Infarktfläche bzw. Infarktmasse innerhalb der Versuchsgruppen und damit auf die Ergebnisse der Untersuchungen nicht ausgeschlossen werden kann (Goldberg et al. 2007).

Zwar zeigte sich kein Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen in Bezug auf den Mittelwert des Infarktanteils an der Gesamtfläche bzw. der Gesamtmasse, allerdings könnte diese Variabilität bei der insgesamt kleinen Anzahl der Versuchstiere pro Gruppe zu einem nicht ausreichenden signifikanten Unterschied der Ergebnisse geführt haben. Tendenziell zeigte sich bei den Ergebnissen eine geringere Infarktfläche bzw. Infarktmasse in den Gruppen ECCP und EBCP, allerdings zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

### **27.2.3 Übertragbarkeit der Ergebnisse**

Obwohl versucht wurde die klinischen Bedingungen in Bezug auf Temperatur, Anwendung und Zusammensetzung der Kardioplegielösungen realitätsgetreu zu imitieren, ist der Versuchsaufbau dennoch konstruiert, da vom Organismus isolierte Rattenherzen und nicht das ganze Tier für die Durchführung der Versuche verwendet wurden.

Außerdem wurden diese Ergebnisse an gesunden Rattenherzen gewonnen, so dass unklar ist, ob die Ergebnisse auf den menschlichen Organismus mit vorbestehenden Herzerkrankungen übertragbar sind. Linksventrikuläre Hypertrophie führt am Herzen zu einem Anstieg des linksventrikulären enddiastolischen Volumens und Drucks, der Myokardarbeit und des Sauerstoffbedarfs. Außerdem ist der Stoffwechsel des stark hypertrophierten Herzmuskels anaerob (Zhu et al. 1996, Ascione et al. 2002). Die

linksventrikuläre Hypertrophie ist wiederum neben dem Alter der wichtigste Prädiktor für eine koronare Herzkrankheit (Agabiti-Rosei und Muiesan 2002). Die zuvor beschriebenen physiologischen und metabolischen Veränderungen machen Herzen mit koronarer Herzkrankheit wahrscheinlich anfälliger für Ischämie und Reperfusionsschäden. Andererseits sind beispielsweise bei Menschen ohne signifikante Koronarerkrankung und bei Ratten praktisch keine kollateralen Anastomosen vorhanden (Schaper 1984). Dagegen sind bei Menschen mit ischämischer Herzerkrankung in unterschiedlichem Ausmaß Kollateralen zwischen den verschiedenen Koronargefäßen ausgebildet (Reimer et al. 1977).

### *27.3 EINFLUSS DES BLUTPERFUSATS*

In dem angewandten Langendorff-Apparat wurde zur Perfusion der Herzen eine Suspension aus einer Pufferlösung und Erythrozyten anstelle von Vollblut verwendet. Außerdem wurden die Herzen nicht mit Erythrozyten derselben Spezies perfundiert, sondern mit Rindererythrozyten. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese Voraussetzungen die Ergebnisse beeinflusst haben.

Durch die Entfernung der Thrombozyten und Leukozyten aus der Perfusionslösung wurde allerdings auch deren möglicher Einfluss auf die Versuchsergebnisse bei einer akuten regionalen Ischämie eliminiert. Zum einen wurde das Erythrozytenperfusat bei der Herstellung mehrfach zentrifugiert, andererseits wurde das Perfusat während der Versuche kontinuierlich durch einen Bluttransfusionsfilter mit einer Porengröße von 40 µm gefiltert, wodurch Mikroaggregate aus noch verbliebenen Leukozyten, Fibrin und Thrombozyten, sowie andere Partikel und Verunreinigungen entfernt wurden (Snyder et al. 1981).

## 27.4 EINFLUSS DER KARDIOPLEGIELÖSUNG

Die elektive Induktion eines ischämischen Herzstillstands bildet den Grundstein des Myokardschutzes während Operationen am Herzen. Die Verwendung einer kardioplegischen Lösung, um einen schnellen elektrochemischen Stillstand des Myokards zu bewirken erfolgt zum einen zur Kardioprotektion während der Ischämiephase und zum anderen um dem Chirurgen ein ruhiges, nicht schlagendes Operationsfeld zu ermöglichen. Mithilfe eines kardioplegischen Stillstands wird sichergestellt, dass der myokardiale Sauerstoffverbrauch ( $MVO_2$ ) und das Absinken der zellulären ATP-Konzentration deutlich reduziert wird (Buckberg et al., 1977). Ein Herzstillstand kann auf verschiedene Weise induziert werden, indem auf bestimmte Prozesse innerhalb der Kopplung zwischen Herzanregung und Kontraktion abgezielt wird (Abbildung 3) (Chambers und Fallouh 2010).

### 27.4.1 Einfluss der Temperatur der Kardioplegielösung

Ascione et al. konnten durch die Variation verschiedener Infusionstemperaturen von Kardioplegielösungen zeigen, dass eine intermittierende antegrade hypotherme Blutkardioplegie besser wirksam ist, als eine normotherme Blutkardioplegie (Ascione et al. 2002). Der Grundgedanke hierbei ist, dass eine hypotherme Infusion einen sofortigen und anhaltenden elektromechanischen Stillstand des Herzens induziert, wodurch der Stoffwechsel des Herzens reduziert und so Schäden verringert werden. Zudem ist die Idee der hypothermen Applikation eine anhaltende und homogene Kühlung des Myokards (Geissler und Mehlhorn 2006). Allerdings kann die Hypothermie auch negative Auswirkungen haben, wie die Hemmung der Na-Pumpe, die zu Ödemen und einer Verschiebung der Sauerstoffbindungskurve von Hämoglobin nach links führt (Buckberg 1995).

Die bei der kalten Blutkardioplegie beobachtete geringere Stoffwechselbelastung des Myokards könnte zum Teil auch auf die Auswirkungen der Hypothermie selbst zurückzuführen sein, die den  $O_2$ -Bedarf des Herzens verringert haben könnte. Es wurde gezeigt, dass der Sauerstoffverbrauch eines normothermen Herzens (6 - 8 ml  $O_2$ /100 g/min) durch die Gabe einer normothermen hyperkaliämischen Kardioplegie auf 0,6-1,5 ml  $O_2$ /100 g/min gesenkt wird, was aber den basalen Energiebedarf der Myozyten nicht ausreichend wirksam reduziert. Die Verwendung einer hypothermen Lösung kann jedoch zur Senkung des basalen Energiebedarfs der Myozyten beitragen, da gezeigt wurde, dass Herzen nach Gabe einer hypothermen hyperkaliämischen Kardioplegie bei 22°C einen myokardialen Sauerstoffverbrauch von 0,31 ml  $O_2$ /100 g/min und bei 10-12°C von 0,135 ml  $O_2$ /100 g/min haben (Buckberg et al. 1977, Landymore 1989).

Allerdings haben, obwohl diese Vorstellung eher nicht intuitiv ist, andere Studien eher Vorteile für die Verwendung einer warmen Blutkardioplegie gezeigt (Fan et al. 2010, Abah et al. 2012). Auch Böning et. al. haben bereits in einer früheren Studie festgestellt, dass die Anwendung einer warmen Blutkardioplegie Vorteile, wie einen höheren linksventrikulären Druck und ein geringeres Zellödem bietet. Allerdings wurden hier nur geringe Unterschiede zwischen der warmen und kalten Calafiore BCP in Bezug auf die Herzfunktion, den Stoffwechsel und den Gewebeerhalt festgestellt (Böning et al. 2014). Zudem wurde festgestellt, dass bei einer warmen Kardioplegiegabe deutlich weniger Leitungsdefekte auftreten als bei einer kalten Kardioplegiegabe mit anschließendem Hot Shot (Flack 3rd et al. 1992). Andererseits konnten Böning et. al. auch zeigen, dass bei einem akuten Myokardinfarkt sowohl eine kalte, als auch eine warme Blutkardioplegie einen vergleichbar guten Schutz des Myokards liefern (Böning et al. 2018b).

Aus den oben gezeigten Aspekten haben wir beschlossen, beide Blutkardioplegien als Kontrollgruppen zu verwenden. Die Blutkardioplegie nach Calafiore wurde bei einer Temperatur von 36° und die Buckberg BCP zunächst als kalte Blutkardioplegie und am Ende der Kardioplegiephase warm ("hot shot") verabreicht.

Des Weiteren haben Nishina et. al. (2017) gezeigt, dass 32°C die ideale Temperatur für eine intermittierende Infusion von kristalloider Kardioplegie mit Esmolol ist, da bei dieser Temperatur die Kardioprotektion im Vergleich zu einer hyperkaliämischen kristalloiden Kardioplegie signifikant besser ist (Nishina und Chambers 2017). Aufgrund dessen verwendeten auch wir eine Temperatur von 32°C für ECCP. Für die Blutkardioplegie mit Esmolol haben wir ebenfalls eine Temperatur von 36°C angewendet, da klinische Studien (Fan et al. 2010, Abah et al. 2012, Fujii und Chambers 2013) und die vorherigen Erfahrungen der Arbeitsgruppe (Böning et al. 2014) gezeigt haben, dass es Vorteile für die Anwendung einer warmen Blutkardioplegie gibt.

Bereits Melendez et al. (1990) untersuchten die Wirkung von Esmolol im Blut bei Temperaturen zwischen 4°C und 37°C und beobachteten einen Anstieg der Halbwertszeit von Esmolol von 19 min bei 37°C auf 227 min bei 4°C. Es wurde vermutet, dass die verlängerte Halbwertszeit zu einer anhaltenden Betablockade führen könnte, die entweder einen zusätzlichen Schutz des Herzens nach einer Herzoperation bietet oder zu Schwierigkeiten bei der Entwöhnung von der Herz-Lungen-Maschine führen würde (Melendez et al. 1990). Wir vermuten, dass eine Temperatur von 36°C wie bei EBCP die Halbwertszeit (HWZ) von Esmolol während der Reperfusion im Vergleich zur Temperatur der ECCP (32°C) verkürzt. Es ist möglich, dass mit einer moderaten Hypothermie der EBCP weniger häufige Infusionsintervalle nötig sein würden oder die Wirksamkeit der Kardioprotektion durch Esmolol verbessert werden könnte. Inwieweit sich die gegensätzlichen Wirkungen einer hypothermen Kardioplegie mit verlängerter

Halbwertszeit und die oben beschriebenen Vorteile eine warmen Blutkardioplegie auf die Kardioprotektion auswirken und bei welcher Temperatur die optimale Balance zwischen diesen Effekten besteht ist nicht klar. Hier sind weitere Studien erforderlich, um den potentiellen Einfluss der Temperatur auf die Wirkung verschiedener Esmolol-basierter Blutkardioplegielösungen zu klären.

Auch in der vorliegenden Studie wurden verschiedene Kardioplegielösungen mit unterschiedlichen Temperaturen verwendet, wobei sich kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen zeigte. Trotzdem lässt sich aus dieser Studie kein Rückschluss auf den Einflussfaktor Temperatur ziehen, da bekanntermaßen auch verschiedene Kardioplegielösungen mit unterschiedlicher Zusammensetzung verwendet wurden.

Um den singulären Einflussfaktor Temperatur zu untersuchen, sind weitere Studien jeweils mit einer Kardioplegielösung mit derselben Zusammensetzung nötig, bei denen eben nur dieser Einflussfaktor der Temperatur verändert wird.

## 27.5 EINFLUSS DER MESSPARAMETER

### 27.5.1 Hämodynamische Parameter zur Evaluation der Myokardfunktion

Als funktionelle Parameter zur Messung der Myokardfunktionen dienten in dieser Messreihe der linksventrikuläre systolische und diastolische Druck, der daraus berechnet linksventrikuläre Spitzendruck, die Kontraktionsgeschwindigkeit, die Relaxationsgeschwindigkeit, der Koronarfluss und die Herzfrequenz. Diese Parameter bilden die Funktion des Myokardgewebes zu den verschiedenen Messzeitpunkten ab. Zu erwarten war ein Abfall der funktionellen Parameter während der Ischämiephase, sowie eine gewisse Erholung in der Reperfusionphase. Neben dem Ischämie-/Reperfusionsschaden gibt es allerdings auch reversible Ursachen für eine myokardiale Dysfunktion, wie zum Beispiel reaktive Sauerstoffspezies und Calciumüberladung der Myozyten, die verhindern, dass die Erregung und Kontraktion der Herzmuskelzellen normal ablaufen können (Opie 1989, Bolli und Marbán 1999). Diese Parameter wurden im Rahmen der Versuche nicht bestimmt, sodass sich ein Einfluss hieraus auf die Ergebnisse der Versuche nicht ausschließen lassen. Die Erholung von Myokardarealen, die durch eine Ischämie beschädigt worden sind, anschließend wieder perfundiert werden, allerdings noch akinetisch sind (sog. „stunned myocardium“) kann eine gewisse Zeit in Anspruch nehmen (Bolli und Marbán 1999). Diese Dysfunktion war im Rahmen der von uns gewählten Messparameter nicht bestimmbar. Allerdings ist es auch hier im Bereich des Möglichen, dass ein Einfluss dieses Effekts auf die Versuchsergebnisse, vor allem zwischen den verschiedenen Kardioplegieformen eine Rolle gespielt haben könnte. Daraus folgt, dass die gewählten funktionellen Parameter möglicherweise nicht die einzigen und ausreichenden Parameter sind, um den Ischämie-/Reperfusionsschaden korrekt einschätzen zu können.

### 27.5.2 Metabolische Parameter zur Evaluation der Myokardfunktion

Zu klären ist außerdem inwieweit die gewählten Messparameter zum Einschätzen der Myokardfunktion während und nach einer Myokardischämie geeignet sind.

Eine myokardiale Ischämie liegt dann vor, wenn die arterielle Blutversorgung nicht genügend Sauerstoff liefern kann, um den Energiebedarf des Gewebes zu decken und die Gewebefunktion aufrechtzuerhalten. Da, wie bereits in der Einleitung erläutert, während einer Myokardischämie ein anaerober Stoffwechsel vorliegt fällt vermehrt Laktat an, welches in Abwesenheit von Sauerstoff nicht weiter verstoffwechselt werden kann und nur sehr langsam in den Körperkreislauf diffundiert (Jennings und Reimer 1991, Detry 1996). Somit ist, unabhängig von den funktionellen Veränderungen, die

Anhäufung von Laktat ein unveränderlicher metabolischer Marker für eine akute Ischämie.

Während also am gut durchbluteten Herzen Laktat aufgenommen wird, kommt es bei Hypoxie des Herzens zu einer vermehrten Laktatabgabe in das koronarvenöse Blut. In klinischen Studien wird häufig die Laktatfreisetzung als ein Maß für die Ausdehnung und den Schweregrad einer Myokardhypoxie herangezogen (Halestrap et al. 1997, Ascione et al. 2002, Pape et al. 2014). Somit kann davon ausgegangen werden, dass der myokardiale Sauerstoffverbrauch und die Laktatproduktion jeweils gute metabolische Parameter für die Messung der Stoffwechselfunktion in ischämischen und postischämischen Myokardgewebe sind. Auch der Verlauf der Messwerte in unseren Versuchen über die verschiedenen Versuchszeitpunkte in den jeweiligen Gruppen passt zu den hier dargestellten biochemischen Grundlagen. Nach Beginn der Reperfusion kam es zu einem Anstieg des myokardialen Sauerstoffverbrauchs und es kam zu einem Rückgang der myokardialen Laktatproduktion (Abbildung 19 und Abbildung 21), da im Rahmen der Reperfusion eine Umstellung des Stoffwechsels auf aerobe Glykolyse erfolgt. Im weiteren Verlauf fielen die Werte des myokardialen Sauerstoffverbrauchs erneut in den Bereich der Ausgangswerte bzw. auf Werte leicht unter diesem Wert. (Abbildung 19). Dies kann damit erklärt werden, dass in allen Versuchsgruppen ein Anteil des Myokardgewebes im Anschluss an die Ischämie untergegangen ist und somit nicht mehr stoffwechselaktiv ist.

### **27.5.3 TTC-Färbung zur Vitalitätsdiagnostik**

Dagegen scheint die Größe des Myokardinfarkts in einer Vitalfärbung ein verlässliches Maß zu sein, um den Schaden einer myokardialen Ischämie mit anschließender Reperfusion zu quantifizieren und zu bestimmen, inwieweit eine Kardioplegielösung zur Reduktion desselben beiträgt. Die Myokardinfarktgröße ist der zuverlässigste Endpunkt zur Quantifizierung der Folgen von Myokardischämie/Reperfusion und zur Einschätzung der Auswirkungen kardioprotektiver Maßnahmen in myokardialem Gewebe (Heusch et al. 2011). Es wurde zudem gezeigt, dass die TTC-Färbung ein zuverlässiges und praktisches Mittel zur Quantifizierung der Myokardinfarktgröße und zur genauen Untersuchung der ischämischen Gewebeschädigung bereits in der frühen Phase (3 Stunden nach dem Koronarverschluss) ist, sogar bevor eindeutige histologische Veränderungen zu bestimmen sind (Fishbein et al. 1981).

In den meisten Fällen ist bereits 30 Minuten nach Verschluss der versorgenden Koronararterie eine Myokardischämie nachweisbar (Vivaldi et al. 1985). Bei einer Reperfusion von weniger als 60 Minuten zeigen sich allerdings in den Risikoregionen sowohl Bereiche mit gefärbten als auch ungefärbten Anteilen, was eine objektiv korrekte

Abgrenzung der Region des nekrotischen Gewebes erschweren kann. Dagegen ist für die Beurteilung der Infarktgröße eine Reperfusion von mehr als 60 Minuten optimal, da der Infarkt ab diesem Zeitpunkt homogen ungefärbt erscheint und bei einer längeren Reperfusion nicht entsprechend zunimmt (Schwarz et al. 2000). Deshalb sollte die Reperusionszeit von 90 min ausreichend sein, um das entsprechende Areal zu demarkieren und mithilfe der TTC-Färbung darzustellen. Außerdem kommt es bei der TTC-Färbung zu keiner Autolyse des Gewebes innerhalb von 6h bei Zimmertemperatur und dadurch zu einer Verminderung des Kontrastes. Daraus kann man schlussfolgern, dass die TTC-Färbung eine verlässliche Quantifizierung der Infarktgröße erlaubt (Vivaldi et al. 1985).

Das Erscheinungsbild der Infarktregion verbessert sich mit zunehmender Lagerungsdauer. Ein Herzschnitt, der direkt nach der Entnahme fotografiert wurde, zeigt eine klare Abgrenzung zwischen perfundiertem und vitalem Gewebe, während die Grenze zwischen vitalem und infarziertem Gewebe schwer zu erkennen ist. Die gleiche Herzscheibe, die nach drei Wochen Lagerung in PBS-Puffer aufgenommen wurde, zeigt eine scharfe Abgrenzung zwischen vitalem und infarziertem Gewebe. Darüber hinaus sind Regionen mit infarziertem Gewebe, die direkt nach der Entnahme nicht erkennbar waren, nach drei Wochen deutlich sichtbar (Pitts et al. 2007). Somit könnte eine Lagerungsdauer von nur einem Tag zu kurz gewesen sein und zu einer Verfälschung der Ergebnisse geführt haben.

Ein Grund für die fehlenden Abgrenzbarkeit ist das Vorhandensein interstitieller Hämorrhagie und hämhaltiger Proteine, wie bspw. Cytochrom c und Myoglobin, welche ebenfalls rot pigmentiert sind. Das Auswaschen dieser Stoffe aus dem infarzierten Gewebe mittels PBS-Puffer ist also ein wichtiger Faktor, um zwischen infarziertem und vitalem Gewebe zu unterscheiden (Pitts et al. 2007). Auch wir verwendeten deshalb PBS-Puffer zum Auswaschen. Zudem konnte gezeigt werden, dass sich die Infarktgröße nicht mit der Lagerungszeit ändert, was darauf hindeutet, dass die Lagerung keine physikalischen Veränderungen im Gewebe bewirkt, die die Messung der Infarktgröße verändern oder verfälschen würden (Pitts et al. 2007). Dadurch könnte man die einmal fixierte und gefärbte Herzschnitte bei zukünftigen Arbeiten als immer wieder Vergleichsparameter heranziehen.

Aber selbst bei einer genauen Messung der Infarktfläche gibt es noch mögliche Faktoren, die den Anteil des Infarkts an der Gesamtfläche und am Gesamtgewicht verfälschen können: Zu nennen wären hier unter anderem die Zerstörung von vitalem Gewebe durch die Präparation, die lange Perfusionsphase im Langendorff Apparat, das anschließende Gefrieren, sowie der Zeitverlust beim Wiegen und beim Überführen der Schnitte in die Eppendorfgefäße zur folgenden Färbung. Zum anderen haben Reimer

und Jennings (1984) die Frage aufgeworfen, ob in der unregelmäßigen angefärbten Grenzzone im Übergang von Infarkt zu perfundiertem Myokard, wo nekrotische und vitale Zellen nebeneinander liegen (Freeman et al. 1990, Ferrera et al. 2009), die Färbung der vitaler Zellen fälschlicherweise zur Unterschätzung des Infarktbereichs führen kann (Reimer 1984).

Zudem können potentiell vitale Zellen durch eine vorübergehende Beeinträchtigung der Dehydrogenaseaktivität, die auf die Ischämie selbst oder Ischämie-Reperfusionsschäden zurückzuführen ist, zum falschen Nachweis eines Infarkts durch TTC-Färbung führen (Benedek et al. 2006). Unklar ist außerdem, inwiefern die formalininduzierte Entfärbung des Herzens für diese bessere Abgrenzung verantwortlich ist. Zudem neigen mit Formalin fixierte Gewebeproben dazu zu schrumpfen (Kato et al. 2022).

Insgesamt sollten die oben aufgeführten Aspekte bei allen Versuchsgruppen im selben Maße einen Einfluss nehmen, sodass diese bei der Auswertung der Ergebnisse zu vernachlässigen sein sollten. In der vorliegenden Arbeit zeigte sich zudem kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen in Bezug auf die Infarktgröße (Abbildung 23 und Abbildung 24).

#### **27.5.4 Planimetrie zur Bestimmung der Infarktfläche**

Auch bei der Messung der Infarktfläche kann es durch verschiedene Aspekte zu einem Einfluss auf die Ergebnisse kommen. Zum einen ist die Grenze zwischen vitalem Gewebe (TTC-positiv) und infarziertem Gewebe (TTC-negativ) nicht immer klar zu erkennen, da die gelbbraun gesprenkelte Färbung des infarzierten Gewebes der Farbe des ziegelroten TTC-Präzipitats in vitalem Gewebe stark ähnelt (Abbildung 9). Zum anderen ist die Einteilung des jeweiligen Areals anhand eines bestimmten Farbspektrums vergleichsweise subjektiv, ist abhängig von den gewählten Bildeinstellungen am Mikroskop und Kamera und unterliegt auch einer Interobserver-Variabilität (Greve und Saetersdal 1991).

In der vorliegenden Arbeit wurden die Schnitte zwar von ein und demselben Untersucher markiert, dennoch handelt es sich hier um ein subjektives Verfahren. Um bei diesem subjektiven Verfahren möglichst geringe interindividuelle Einschätzungen wurden die Herzschnitte nur von einem einzigen Untersucher ausgewertet.

Obwohl einfache Intensitätsschwellenwerttechniken die Intra- oder Interobserver-Variabilität im Vergleich zur manuellen Konturierung durch den Menschen verringern würden (Hsu et al. 2006), gehen wir auch hier davon aus, dass die aufgeführten Punkte in allen Versuchsgruppen im selben Maße einen Einfluss nehmen.

### 27.5.5 Elektronenmikroskopie

Während die TTC-Färbung nur eine makroskopische, aber quantitative Charakterisierung (lebensfähiges vs. infarziertes Gewebe) des Myokards ermöglicht, bieten die Licht- und Elektronenmikroskopie eine detailliertere Analyse der Gewebestruktur und -zusammensetzung. Mit diesen Methoden lassen sich Anzahl und Größe der Kardiomyozyten und die Kapillardichte quantifizieren, sowie das Ausmaß der lokalen Entzündungsinfiltration (Neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten) beurteilen. Mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen können sogar die subzellulären Strukturen, wie Mitochondrienschwellung und Zellschwellung, analysiert werden (Heusch et al. 2011).

Hier wurde aufgrund der aufwändigen Methodik nur eine kleine Stichprobe von zwei Herzen pro Versuchsgruppe gewählt, sodass die Ergebnisse zwar keine statistische Aussagekraft haben, allerdings eine qualitative Einschätzung des Ischämie-/Reperfusionsschadens zulassen.

Innerhalb dieser kleinen Stichprobe konnte zwischen den verschiedenen Kardioplegielösungen kein Unterschied bezüglich der qualitativen Einschätzung des Ischämie-/Reperfusionsschadens entdeckt werden. Vorteilhaft ist hier auch zu nennen, dass andere Einflussfaktoren wie Komorbiditäten o.ä. bei den Versuchsherzen nicht vorlagen, sodass hier wirklich auf den Unterschied bzw. den eben nicht vorhandenen Unterschied zwischen den Kardioplegielösungen geschlossen werden kann. Welchen Einfluss andere Faktoren, die im klinischen Alltag relevant wären, auf die qualitative Einschätzung hätten kann hier nicht schlussgefolgert werden

## 28 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Anforderungen an eine ideale Kardioplegielösung zur Myokardprotektion sind folgende: die schnelle und komplette Induktion eines Herzstillstands, die Verringerung der metabolischen Aktivität des Myokardgewebes während der Ischämie und die rasche Reversibilität nach Ende der Kardioplegie. Zudem sollte sie keine toxischen Effekte auf den Körper und insbesondere das Herz des Patienten haben (Grieshaber und Böning 2017). Insgesamt soll das Myokard durch die Kardioplegielösung vor Schäden durch Ischämie während des kardiopulmonalen Bypasses und Schäden durch Reperfusion nach Wiederherstellung der Durchblutung geschützt werden.

### 28.1 EFFEKTE DER BETABLOCKERGABE

Durch ausführliche Untersuchungen an Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung ist bereits bekannt, dass Betablocker die Rate an kardiovaskulären Komplikationen in diesem Patientenkontext reduzieren. Die kardioprotektiven Eigenschaften der Betablocker kommen durch ein Verringern der Herzfrequenz und der Kontraktilität zustande. Durch die Verminderung der Herzarbeit und den daraus folgenden verringerten myokardialen Sauerstoffbedarf kommt es zu antiischämischen Effekten am Myokard. Zusätzlich besitzen Betablocker, vor allem nach einem frischen Myokardinfarkt, eine antiarrhythmische Wirkung (Frishman 2003, Daumerie und Fleisher 2008). Außerdem konnte gezeigt werden, dass Betablockergaben vor und während Herzoperationen postoperatives Vorhofflimmern vorbeugen können (Arsenault et al. 2013). Weiterhin haben Betablocker antiinflammatorische Effekte, bewirken eine Veränderung im Energiestoffwechsel im Myokard und besitzen dem RAAS entgegengesetzt wirkende Eigenschaften (Frishman 2003, Daumerie und Fleisher 2008).

Obwohl gezeigt wurde, dass Betablocker teilweise vorteilhaft für Patienten mit einem frischen Myokardinfarkt sind (Puymirat et al. 2016) ist es kontrovers, ob eine prä- oder intraoperative Gabe von Betablockern auch von Vorteil für Patienten mit einer reduzierten LVEF ohne frischen Myokardinfarkt sind (Brinkman et al. 2014) und ob Betablocker einem perioperativen Myokardinfarkt oder Herztod vorbeugen. Allerdings konnte kein Effekt der perioperativen Gabe von Betablockern auf die Häufigkeit der harten Endpunkte wie Mortalität, Myokardinfarkt oder Hospitalisationsdauer in der Herzchirurgie gezeigt werden (Wiesbauer et al. 2007). Die Wirksamkeit der Beta-Adrenozeptor-Blockade hängt dabei vom Funktionszustand des Herzens ab. Je mehr die linksventrikuläre Funktion durch ischämische Bereiche beeinträchtigt ist, desto

wahrscheinlicher ist es, dass die Gabe von Betablockern die Sauerstoffversorgung des geschädigten Myokards verbessert (Frishman 1980). Der frühzeitige Einsatz von Betablockern kann die Entwicklung von Myokardnekrosen stoppen, noch vitales Myokardgewebe retten und die unmittelbare Sterblichkeitsrate, sowie langfristig die ventrikuläre Pumpfunktion verbessern (Hjalmarson et al. 1981, Gottlieb et al. 1998).

Zudem ist bekannt, dass  $\beta$ -adrenerge Antagonisten das Ausmaß der Myokardschädigung während der Ischämie und Reperfusion abschwächen, indem sie den myokardialen Sauerstoffverbrauch und den Sympathikotonus senken und die Zellmembranen stabilisieren (Khandoudi et al. 1998). Im Gegensatz zu den meisten Betablockern, welche lang anhaltende negativ inotrope Wirkungen haben, hat der ultrakurz wirkende und kardioselektive Betablocker Esmolol eine Halbwertszeit von wenigen Minuten und seine Wirkung lässt nach Beendigung der Infusion rasch nach. Klinische Studien haben gezeigt, dass Esmolol verwendet werden kann, um Myokardkontraktionen während einer Operation auf ein Minimum zu reduzieren und gleichzeitig eine Ischämie mittels einer kontinuierlichen normothermen Koronarperfusion vermieden werden kann (Kuhn-Régnier et al. 1999). Diese Technik zeigte bei Patienten mit elektiven Operationen bei koronarer Herzkrankheit einen gleichwertigen oder besseren Schutz als hyperkaliämische Kristalloid- oder Blutkardioplegie.

Eine neuere tierexperimentelle Studie an Ratten bestätigt die Möglichkeit zur Verwendung einer intermittierenden sauerstoffhaltigen kristalloiden Kardioplegie mit Esmolol zum Herbeiführen eines Herzstillstands als Alternative zur St. Thomas' Hospital Kardioplegielösung (Bessho und Chambers 2002). Die Studie zeigte, dass die Zugabe von Esmolol zur Kardioplegielösung einen vollständigen Schutz des Myokardgewebes während einer globalen Ischämie bieten kann. Dies wird durch ein verbessertes Gleichgewicht zwischen myokardialem Sauerstoffangebot und -verbrauch, sowie einem erhöhten Blutfluss in den Ischämiebereichen erreicht. Die Autoren schlussfolgern daraus, dass die Verwendung von Esmolol als kardioplegisches Mittel eine vorteilhafte Alternative im Vergleich zu den bisherigen Standardtechniken darstellen kann. In Übereinstimmung dazu konnten auch wir zeigen, dass eine intermittierende kristalloiden Kardioplegie mit Esmolol während der Ischämie und der anschließenden Reperfusion keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die funktionellen und metabolischen Funktionen im Vergleich zu hyperkaliämischen Kardioplegie aufwies (Tabelle 10 bis Tabelle 18).

Allerdings stehen sie der Verabreichung von Esmolol in einer Blutkardioplegie, aufgrund von Inaktivierung durch Esterase kritisch gegenüber und schlussfolgern, dass hier

weitere Untersuchungen zur Bestimmung der Relevanz dieses Effekts und der Anwendbarkeit dieser Kardioplegielösung erforderlich sind (Bessho und Chambers 2002). In Gegensatz dazu konnten wir zeigen, dass eine intermittierende Blutkardioplegie mit Esmolol während der Ischämie und der anschließenden Reperfusion keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die funktionellen und metabolischen Funktionen im Vergleich zu hyperkaliämischen Kardioplegie aufwiesen und somit eine Anwendbarkeit gegeben ist (Tabelle 10 bis Tabelle 18).

## 28.2 ÜBERSICHT EXPERIMENTELLE STUDIEN MIT ESMOLOL ALS KARDIOPLEGIELÖSUNG

Studie	Spezies	Kardioplegie	Perfusat	Stabilisierung	Ischämie	Rep	Messparameter	Messpunkte	Ergebnis
Aass et al. 2016	Schwein	Initial 1,35 mmol/l für 3 min alle 20 min 0,68 mmol/l für 2 min Esmolol (STH-POL bei 12°C)	CBP mit EKZ bis 34°C	10 min	60 min global	10 min	LVP LV Volumen dLVP/dt <sub>max</sub> , sys/dia-Funktion, HR, Regionaler Blutfluss Echo, Arterielle BGA	60 min nach Declamping, 120 min, 180 min	STH-POL mit Esmolol zeigt vergleichbaren myokardialen Schutz und verbesserte Kontraktilität im Vergleich zu STH-2
Aass et al. 2017	Schwein	Initial 1,35 mmol/l für 3 min alle 20 min 0,68 mmol/l für 2 min Esmolol (STH-POL bei 12°C)	CBP mit EKZ bis 34°C	10 min	60 min global	10 min	LVP LV Volumen dLVP/dt <sub>max</sub> , sys/dia-Funktion HR, Myokardiale Biopsien Arterielle BGA	alle 15 min zw. 30 und 180 min nach Declamping, Biopsien 20 und 180 min nach Declamping	STH-POL mit Esmolol zeigt verbesserten Energiestatus während der Kardioplegie nach Reperfusion im Vergleich zu STH-2
Bessho et. al 2001	Wistar Ratte ♂	1 mmol/l alle 10 min für 2 min Esmolol (CCP bei 37°C)	oxygenierte KHB bei 37°C	20 min	40 min, global	60 min	LVDP LVEDP HR, CF Kontraktur	alle 10 min	Periodische Gabe von Esmolol zeigte besseren Schutz des Myokards als intermittierendes Cross-Clamping mit Kammerflimmern, dauerhafte Esmolol Infusion und St Thomas' Hospital Kardioplegie
Bessho et.al. 2002	Wistar Ratte ♂	1 mmol/l alle 12 min für 3 min Esmolol (CCP bei 37°C)	oxygenierte KHB bei 37°C	20 min	60 min, global	60, 75, 90, 120 min	LVDP LVEDP HR, CF Kontraktur	alle 10 min	Oxygenierung der Esmolol Kardioplegie ist essentiell für optimalen Schutz des Myokards. Periodische Infusion von oxygenierter Esmolol Kardioplegie zeigte guten Schutz des Myokards nach verlängerter Ischämiezeit bei normothermer Ischämie

Ede et al. 1997	Ratte, Kaninchen, Schwein	0,084 bis 6,7 mmol/l Esmolol (Ratte), 0,12 bis 1,45 mmol/l (Kaninchen)	oxygenierte KHB bei 37°C	n.a.	20, 60, 90, 120 min	20 min (Ratte) 60 min (Schwein)	LVpdP, LVEDP, dLVP/dt <sub>max</sub> , dLVP/dt <sub>min</sub> , HR	n.a.	Esmolol genauso effektiv, wie Kalium zum Initiieren und Aufrechterhalten einer reversiblen Kardioplegie während normothermer Herzoperationen
Fujii et. al. 2013	Wistar Ratte ♂	1) 3 mmol/l Esmolol (BCP & CCP bei 37°C) alle 10 min für 2 min 2): 2/3 mmol/l Esmolol (BCP bei 37°C) alle 15 min für 3 min 3) 2 mmol/l Esmolol (BCP bei 37°C) alle 15 min für 3 min	oxygenierte KHB gemischt mit Gelofusine bei 37°C	n.a.	1) 40 min global, 2) 45 min global, 3) 60 min global	60 min	LVDP LVEDP HR PP (Perfusion pressure) CK leakage	Alle 10 min	1) Esmolol BCP und Esmolol CCP führen zu besserer Erholung als hyperkaliämische Kardioplegie 2) 2 mmol/l Esmolol BCP führte zu besserer Regeneration 3) Längere Ischämie steigerte Unterschied in Regeneration von Esmolol BCP im Vergleich zu hyperkaliämischer Kardioplegie
Geissler et al. 2000	Hund	1,4 mg/min antegrad Esmolol (BCP) 25 mg (nach Cross-Clamp)	CBP mit EKZ	n.a.	105 min gesamt, 60 min regional (LAD), 60 min global	195 min	Myokardiale Biopsien MAP, mPAP, CVP, CI, HR, CF BGA (cLac, sO <sub>2</sub> )	Baseline 20 min Ischämie 30 min post CBP 60 min 120 min	hochdosierte Betablockade während kontinuierlicher Koronarperfusion, Nutzung Vorteile Warmherzchirurgie, gleichzeitig interstitielles Ödems/kardiale Dysfunktion vermeiden
Nishina et. al. 2017	Wistar Ratte ♂	1) 1 mmol/l Esmolol (CCP bei 32°C) einmalig für 3 min / alle 30 min für 3 min 2) 1 mmol/l Esmolol (CCP bei 20, 28, 32, 37°C) alle 30 min für 3 min	oxygenierte KHB bei 37°C	n.a.	1) 60, 90 und 120 min global, 2) 120 min global	60 min	LVDP LVEDP HR, CF CK leakage TTC	Alle 10 min	1) Esmolol CCP mit 32°C verbessert die Regeneration der Herzfunktion besser als hyperkaliämische Kardioplegie 2) Esmolol CCP verbessert die Regeneration der Herzfunktion besser als hyperkaliämische Kardioplegie bei den Temperaturen 20, 28, 32°C

Pirk et al. 1999	Wistar Ratte ♂	0,375, 0,75, 1,5 mmol/l Esmolol	oxygenierte KHB bei 37°C	25 min	20 min Esmolol Perfusion, + 0.75 mmol/l mit 45 min Perfusion	40 min	LVDP LVSP LVDevP HR, CF RPP (rate pressure product)	0 min 5 min 10 min 15 min 20 min 30 min 40 min	0,375 mmol/l Esmolol nur Bradykardie 0,75 mmol/l induziert kardialen Arrest 1,5 mmol/l führt zu keiner vollständigen Wiederherstellung der Herzfunktion 45 min Reperfusion führt zu späterer Normalisierung der Herzfunktion als 20 min
Veitinger et al. 2021	Wistar Ratte ♂	1 mmol/l alle 20 min für 3 min Esmolol (BCP ( Bei 36°C, CCP bei 32°C)	Erythrozyten perfusat bei 38°C	15,4 ± 3, 2 min	1) 90 min global 2) 30 min regional (RIVA) + 90 min global	90 min	LVpdP, dLVP/dt <sub>max</sub> , dLVP/dt <sub>min</sub> , HR, CF MVO <sub>2</sub> , MnLac TTC	10 min, 30 min 60 min 90 min	1) Intermittierende Gabe von Esmolol-Kardioplegie (v.a. ECCP) zeigt besseren Myokardschutz als Calafiore 2) Nach akutem Myokardinfarkt bietet intermittierende Gabe von Esmolol-Kardioplegie wirksamen und gleichwertigen Myokardschutz wie Calafiore

Tabelle 21: Übersicht experimentelle Studien mit Esmolol als Kardioplegielösung

### 28.3 HÄMODYNAMISCHE PARAMETER

Zu Versuchsbeginn und auch nach 90 min Reperfusion war die hämodynamische Leistung in allen Versuchsgruppen nahezu gleich und wies keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf (Tabelle 10 bis Tabelle 16).

Bei der Erholung der hämodynamischen Parameter zeigte sich nach 30 min Reperfusion in der EBCP- und ECCP-Gruppe ein statistisch signifikant höherer linksventrikulärer systolischer Druck gegenüber der Calafiore-Gruppe, sowie in der EBCP-Gruppe ein ebenfalls statistisch signifikant höherer Koronarfluss gegenüber der Calafiore-Gruppe (LVPsys nach 30 min Reperfusion; Abbildung 11; CF nach 30 min Reperfusion; Abbildung 17).

Bereits Ede et. al konnten zeigen, dass Esmolol genauso effektiv wie Kalium zum Imitieren und Aufrechterhalten einer vorhersagbaren und reversiblen Kardioplegie während normothermer Herzoperationen ist. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Infusion einer esmololbasierten kristalloiden Kardioplegielösung zu einer besseren Regeneration der Funktionsparameter, insbesondere des linksventrikulären Drucks und der Kontraktilität im Vergleich zu einer kaliumbasierten Kardioplegielösung führt (Ede et al. 1997).

Passend zu unseren Ergebnissen konnten Kuhn-Régnier et. al. nachweisen, dass Herzen, die während eines kardiopulmonalen Bypasses entweder eine kontinuierliche normotherme Koronarperfusion mit Esmolol angereichertem Blut oder eine antegrade Kaltblutkardioplegie nach Buckberg erhielten, keine Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf funktionelle Messparameter zeigten (Kuhn-Régnier et al. 1999).

Ähnlich konnten auch Mehlhorn et. al. zeigen, dass die fraktionierte Kontraktionsfläche nach kardiopulmonalem Bypass bei kontinuierlicher Koronarperfusion mit warmem, Esmolol angereichertem Blut und kristalloider Kardioplegie in beiden Gruppen ähnlich war. Allerdings konnte zusätzlich gezeigt werden, dass die Versuchsgruppe mit der myokardialen Betablockade im weiteren Verlauf eine geringere Stimulation mit inotropen Substanzen benötigte (Mehlhorn et al. 1999).

In Übereinstimmung dazu konnten auch Scorsin et. al. zeigen, dass bei Herzen, die eine kontinuierliche Koronarinfusion mit Kalium oder Esmolol während eines kardiopulmonalen Bypasses erhielten, die hämodynamischen Parameter und die Troponin I-Werte postoperativ unverändert waren (Scorsin et al. 2003).

Dagegen konnten Geissler et. al. zeigen, dass die globale linksventrikuläre Funktion nach einer regionalen Ischämie und 120 min Reperfusion bei kontinuierlicher Esmolol-

Gabe in der Reperfusionphase signifikanter höher war als bei kontinuierlicher Gabe einer warmen Blutkardioplegie. Die regionale linksventrikuläre Funktion des Ischämieareals zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen (Geissler et al. 2000). In Übereinstimmung dazu zeigten auch wir keinen Unterschied zwischen den Gruppen bei der linksventrikulären Funktion nach 90 min Reperfusion (Tabelle 10 bis Tabelle 14).

Weiterhin konnten Bessho et. al zeigen, dass die intermittierende Gabe einer ECCP zu einer besseren Erholung der Funktionsparameter führte, als intermittierendes Cross-Clamping mit Kammerflimmern, die dauerhafte Esmolol Infusion oder eine kaliumbasierten Kardioplegielösung (Bessho und Chambers 2001)

Auch Fujii et. al konnten zeigen, dass sowohl eine intermittierende, als auch eine kontinuierliche Gabe einer esmololbasierten Blutkardioplegie und einer esmololbasierten kristalloiden Kardioplegielösung zu einer besseren Erholung der funktionellen Messparameter führten, als bei Anwendung einer hyperkaliämische Kardioplegie. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass sich dieser Effekt einer verbesserten Regeneration von Esmolol BCP im Vergleich zu hyperkaliämischer Kardioplegie bei einer länger andauernden Ischämie sogar verstärkte (Fujii und Chambers 2013).

In Übereinstimmung dazu konnten Nishina et. al zeigen, dass die intermittierende Gabe einer esmololbasierten kristalloiden Kardioplegielösung im Rahmen einer globalen Myokardischämie im Vergleich zu einer kaliumbasierten Kardioplegielösung zu einer signifikant besseren Erholung der physiologischen Funktionsparameter, insbesondere des linksventrikulären Spitzendrucks, nach einer Ischämiedauer von bis zu 120 min und einer anschließenden Reperfusion über 60 min führten (Nishina und Chambers 2017).

Auch Aass et. al konnten zeigen, dass die intermittierende Gabe einer ECCP zu vergleichbaren Funktionsparametern, einer verbesserten Kontraktilität und einer verbesserten Relaxation des Myokards im Vergleich zu einer kaliumbasierten Kardioplegielösung führt (Aass et al. 2016, 2017)

Insgesamt deuten, passend zur bisherigen Literatur, auch die geringen Unterschiede zwischen den Ergebnissen aller Versuchsgruppen in unseren Untersuchungen darauf hin, dass die unterschiedlichen Mechanismen, die zur Induktion des Herzstillstands verwendet wurden, zu keiner relevant schlechteren Erholung der Myokardfunktion nach regionaler Ischämie führen. Tendenziell zeigte sich in sogar eine leicht bessere Erholung der Myokardfunktion, was zu Ergebnissen der oben dargestellten vorangegangenen Untersuchungen passen würde.

#### 28.4 METABOLISCHE PARAMETER

Zu Versuchsbeginn, während und nach 90 min Reperfusion waren die metabolischen Messwerte in allen unseren Versuchsgruppen nahezu gleich und wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf (Tabelle 17, Tabelle 18).

In Widerspruch dazu konnten Kuhn-Régnier et. al. zeigen, dass Herzen, die während eines kardiopulmonalen Bypasses entweder eine kontinuierliche normotherme Koronarperfusion mit Esmolol angereichertem Blut oder eine antegrade Kaltblutkardioplegie nach Buckberg erhielten, in der Gruppe mit einer kaliumbasierten Kardioplegie signifikant mehr Laktat freisetzen, was auf einen vermehrten anaeroben Stoffwechsel während der Ischämiephase hindeutet (Kuhn-Régnier et al. 1999).

Diese Ergebnisse konnten auch Mehlhorn et. al. in dem Sinne bestätigen, dass die Menge an freigesetztem Laktat nach kardiopulmonalen Bypass bei kristalloider Kardioplegie im Vergleich zu kontinuierlicher Koronarperfusion mit warmem, mit Esmolol angereichertem Blut, bei vergleichbarer Verringerung des myokardialen Sauerstoffverbrauchs während der Ischämiephase, deutlich höher waren (Mehlhorn et al. 1999).

Demgegenüber konnten Scorsin et. al. zeigen, dass bei Herzen, die eine kontinuierliche Koronarinfusion mit Kalium oder Esmolol während eines kardiopulmonalen Bypasses erhielten, es in der Esmolol Gruppe zu einem reduzierten transmyokardialen Gradienten des Sauerstoffgehalts, bei vergleichbaren Glukose- und Laktatgradienten während der Ischämiephase kam (Scorsin et al. 2003).

Weiterführend konnten Aass et. al zeigen, dass die intermittierende Gabe einer ECCP zu einem verbesserten Energiestatus während der Kardioplegie und früh nach der Reperfusion im Vergleich zu einer kaliumbasierten Kardioplegielösung führte (Aass et al. 2017). Im Gegensatz zu unseren Versuchen erfolgte hierbei allerdings die Messung des myokardialen Kreatinphosphats und der ATP-Level als metabolische Messparameter.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich während der Reperfusion in der ECCP und Buckberg-Gruppe ein tendenziell höherer myokardialer Sauerstoffverbrauch, was auf mehr erhaltenes vitales Myokard hinweisen könnte, aber dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant ( $p = 0,142$ ; Abbildung 19). Tendenzuell war der Sauerstoffverbrauch der EBCCP-Gruppe nach 90 min Reperfusion sogar höher als während der Reperfusion, aber auch dies war statistisch nicht signifikant unterschiedlich ( $p = 0,466$ ; Abbildung 19).

Messungen des myokardialen Sauerstoffverbrauchs während der Ischämiephase erfolgte im Gegensatz zu den oben aufgeführten Untersuchungen nicht, sodass hier kein Vergleich möglich ist. Im Gegensatz zu den oben aufgeführten Studien zeigte sich in unseren Versuchen keine statistisch signifikant unterschiedliche Laktatproduktion ( $p = 0,116$ ; Abbildung 21).

### 28.5 INFARKTGRÖÖE

Bei der Infarktgröße zeigte sich in unseren Versuchen nach 90-minütiger Reperfusion kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen.

Nishina et. al. verglichen in Ihren Untersuchungen zur intermittierenden Gabe einer esmololbasierten kristalloiden Kardioplegielösung im Rahmen einer globalen Ischämie im Vergleich zu einer kaliumbasierten Kardioplegielösung zwar nicht die Infarktfläche nach TTC-Färbung, allerdings wurde nach Färbung die Farbe aus dem Gewebe extrahiert und es wurde die Absorption des Überstands gemessen. Hier zeigte sich passend zu den Ergebnissen unserer Untersuchungen kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen (Nishina und Chambers 2017).

Hingegen konnten Geissler et. al. zeigen, dass bei Herzen, welche nach 2 Stunden einer regionalen Ischämie, eine folgende 2-stündige Reperfusion mit der Gabe von Esmolol erhielten, eine signifikant geringer Infarktgröße nachgewiesen werden konnte (Geissler et al. 2001).

Insgesamt ist hier eine Einordnung der Versuchsergebnisse schwierig, da in den meisten Untersuchungen zu esmololbasierter Kardioplegie keine Bestimmung der Infarktgröße erfolgte. Auch in der oben aufgeführten Studie von Nishina et. al. erfolgte im Gegensatz zu unseren Versuchen keine Planimetrie, sondern eine Adsorptionsmessung des Farbstoffs, sodass hier eine eingeschränkte Vergleichbarkeit vorliegt.

## 28.6 MYOKARDSTRUKTUR

In der qualitativen und quantitativen Auswertung der Myokardstruktur zeigte sich in allen unseren Vergleichsgruppen insgesamt geringe und jeweils ähnlich darstellbare Anzeichen einer Ischämie-Reperfusionsschädigung. In allen Versuchsgruppen zeigte sich eine sehr gute Myokardprotektion mit wenig Ödem und wenig geschwollenen Mitochondrien und keines der Kardioplegieverfahren konnte einen statistisch signifikanten Unterschied erzielen.

Dementgegen konnten Mehlhorn et. al. zeigen, dass der myokardiale Wassergehalt nach kardiopulmonalen Bypass mit kristalloider Kardioplegie im Vergleich zu kontinuierlicher Koronarperfusion mit warmem, mit Esmolol angereichertem Blut, deutlich angestiegen war, während in den Esmolol-Herzen der myokardiale Wassergehalt unverändert war und die Herzen weniger strukturelle Schäden aufwiesen (Mehlhorn et al. 1999).

Auch Geissler et. al. konnten zeigen, dass die Bildung eines interstitiellen Ödems nach einer regionalen Ischämie bei einer kontinuierlichen Gabe einer warmen Blutkardioplegie in der Reperusionsphase während des Aorten-Cross-Clamps und nach 120 min Reperfusion signifikanter höher war, als bei kontinuierlicher Esmolol-Gabe (Geissler et al. 2000)

Dazu passend konnten Geissler et. al. zeigen, dass bei Herzen, welche nach 2 Stunden einer regionalen Ischämie und einer folgenden 2-stündigen Reperfusion mit der Gabe von Esmolol, ein signifikant niedrigerer myokardialer Wassergehalt nachgewiesen werden konnte. Dagegen waren die ultrastrukturellen Veränderungen in beiden Gruppen vergleichbar und typisch für Ischämie-Reperfusionsschäden (Geissler et al. 2001).

Aass et. al konnten zeigen, dass bei intermittierender Gabe einer ECCP im Vergleich zu einer kaliumbasierten Kardioplegielösung das Oberfläche/Volumen-Verhältnis der Mitochondrien nach 20 min Reperfusion verringert war. Dieser Effekt war allerdings in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen nach 180 min Reperfusion nicht mehr darstellbar (Aass et al. 2017).

In Übereinstimmung zur Literatur deuten die Ergebnisse der Versuchsgruppen in unseren Untersuchungen darauf hin, dass die unterschiedlichen Mechanismen, die zur Induktion des Herzstillstands verwendet wurden, zu keiner negativen Veränderung der Ultrastruktur des Myokards nach regionaler Ischämie führen.

### 28.7 EINFLUSS DER KARDIOPLEGIEMETHODE

Auf der einen Seite konnten Fujii et al. (2013) zeigen, dass es zu einer besseren Erholung von ischämischen Herzen nach Behandlung mit Esmolol-Kristalloid-Kardioplegie im Vergleich zur Esmolol-Blutkardioplegie kam (Fujii und Chambers 2013). Andererseits scheinen, wenn auch die kalte kristalloide Kardioplegie bei elektiven Eingriffen mit einem ausgezeichneten klinischen Ergebnis assoziiert ist, Blutkardioplegietechniken in Hochrisikosituationen, wie z. B. bei fortgeschrittener linksventrikulärer Dysfunktion (Kron 1999, Flack et al. 2000), akut ischämischem Myokard (Schlensak et al. 1999), Herztransplantation (Luciani et al. 1999) und hypertrophiertem Myokard (Menasché et al. 1993, Ascione et al. 2002), eine bessere Kardioprotektion zu bieten. Im Gegensatz dazu konnte in der vorliegenden Arbeit kein Unterschied zwischen blutbasierter und kristalloider Kardioplegie bei Herzen mit regionaler Myokardischämie festgestellt werden.

Zu den theoretischen Vorteilen der blutbasierten Kardioplegie gehören die Vermeidung von Energiephosphatverlusten, eine bessere Sauerstoffversorgung mit Verbesserung des Zellstoffwechsels und eine geringere Schädigung des Endothels. Frühere Tierstudien haben gezeigt, dass eine blutbasierte Kardioplegie nur bei hypoxischen Herzen einen effizienten Schutz bietet (Kotani et al. 2013). Zudem verringern die antioxidativen Fähigkeiten der Erythrozyten in der Blutkardioplegie (Winterbourn und Stern 1987, Brown et al. 1989) die Ischämie-Reperfusionsschäden (Lapenna et al. 1994). Im infarzierten Myokard könnte dieser Effekt besonders relevant sein. Es liegen jedoch keine experimentellen oder klinischen Daten vor, die sich mit der spezifischen Wirkung von Erythrozyten und ihrer Interaktion mit infarziertem Myokard befassen. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um diesen Aspekt ausreichend zu untersuchen und die möglicherweise zugrunde liegenden Mechanismen zu finden.

Zu diskutieren sind außerdem die unterschiedlichen Mechanismen, die zur Auslösung des Herzstillstands führen. Während die Kardioplegie nach Calafiore und nach Buckberg auf einer Hyperkaliämie basiert, ist Esmolol ein kurz wirksamer Betablocker, der in hohen Dosen einen diastolischen Herzstillstand bewirkt (Fallouh et al. 2010).

Der Anstieg des extrazellulären Kaliums führt zu einer Depolarisation des Ruhemembranpotenzials, welches sich bei Kardiomyozyten normalerweise um -85 mV bewegt und bewirkt ein neues Ruhemembranpotenzial mit einem weniger negativen Wert, welcher von der Höhe der extrazellulären Kaliumkonzentration abhängt. Bei einer extrazellulären Kaliumkonzentration von etwa 10 mmol/l werden die

spannungsabhängigen Na<sup>+</sup>-Kanäle inaktiviert, wodurch der schnelle natriuminduzierte Anstieg des Aktionspotentials gehemmt und ein diastolischer Stillstand induziert wird (Abbildung 3). Dies führt zu einer Verringerung der elektromechanischen Aktivität und damit zu einer deutlichen Senkung des Sauerstoffbedarfs (Mauney und Kron 1995). Bei einem extrazellulären Kaliumspiegel von über 30 mmol/l werden Ca<sup>2+</sup>-Kanäle aktiviert, was zu einer Calciumaufnahme in die Myozyten führt. Dies birgt das Potenzial einer Calciumüberladung, die bekanntermaßen zu einem erhöhten myokardialen Sauerstoffverbrauch und zu Ischämie-Reperfusionsschäden führt (Chambers und Fallouh 2010). Allerdings fallen sowohl Calafiore BCP, als auch die Buckberg BCP in diesen relativ engen Sicherheitsbereich, der für hyperkaliämische kardioplegische Lösungen verwendet werden sollte.

Im Gegensatz dazu senkt Esmolol den myokardialen Sauerstoffverbrauch und verbessert die Sauerstoffverwertung bei menschlichen Patienten (Scorsin et al. 2003). Dahle et al. haben bereits untersucht, wie sich Esmolol als Zusatz bei einer hyperkaliämischen Blutkardioplegie auswirkt, und konnten zeigen, dass Esmolol die erhaltene systolische Herzfunktion in den ersten 3 Stunden nach der Reperfusion verbessert (Dahle et al. 2015). Die Zugabe von Esmolol zu einer kristalloiden Kardioplegielösung senkte die maximalen postoperativen Troponinwerte bei Hochrisikopatienten, die sich einer elektiven Herzoperation unterzogen (Bignami et al. 2017).

Alle diese Effekte lassen sich durch die Zugehörigkeit des Wirkstoffs zur Gruppe der Betablocker erklären, allerdings bewirkt der kurzwirksame Betablocker Esmolol selbst an einem isolierten Rattenherz ohne Katecholamineinfluss eine Bradykardie, negative Inotropie und in höheren Dosen die Induktion eines Herzstillstands. Es muss also eine alternative Erklärung für diese Wirkung geben, zumal andere Betablocker, wie Atenolol, bei äquivalenten Dosen keine negative Inotropie oder einen Herzstillstand auslösen (Chambers und Fallouh 2010). Neuere Studien haben gezeigt, dass hohe Konzentrationen von Esmolol von ca. 0,1 - 3 mmol/L die L-Typ Ca<sup>2+</sup>-Kanäle (Arlock et al. 2005, Chambers und Fallouh 2010) und die schnellen Na<sup>+</sup>-Kanäle hemmen (Deng et al. 2006, Chambers und Fallouh 2010). Die Hemmung dieser Kanäle führt zu einer negativ inotropen Wirkung und zu einer verringerten Weiterleitung des Aktionspotentials, wodurch ein diastolischer Herzstillstand mit nahezu normalem Ruhemembranpotential ausgelöst wird.

Klinisch hat der Einsatz von Esmolol in relativ hohen Konzentrationen während herzchirurgischer Eingriffe bereits seine sichere Anwendung gezeigt (Zaroslinski et al. 1982, Kuhn-Régnier et al. 1999, 2002, Mehlhorn et al. 1999). Allerdings könnte es in der

klinischen Verwendung auch sein, dass niedrigere Konzentrationen von Esmolol erforderlich sind, um das Sicherheitsprofil der Kardioplegie zu verbessern, die systemische Toxizität während der Reperfusion zu verringern und die Reversibilität zu optimieren.

In niedrigeren Konzentrationen senkt Esmolol die Herzfrequenz, was durch die Hemmung des  $\text{Na}^+$ -Stroms und des  $\text{Ca}^{2+}$ -Stroms im Sinusknoten, der die Geschwindigkeit der Schrittmacherdepolarisation beeinflusst, bewirkt wird (Fallouh et al. 2010). Insgesamt lässt sich aber sagen, dass bei einer Konzentration von etwa 1 mmol/L die negative Inotropie von Esmolol durch Hemmung des schnellen  $\text{Na}^+$ -Kanals und des L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanals für die Hauptwirkung des kardioplegischen Arrest verantwortlich ist (Abbildung 3) (Fallouh et al. 2010). Insgesamt ist es auch möglich, dass die Hemmung der schnellen  $\text{Na}^+$ -Kanäle und der L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle synergistisch wirken und den Schutz des Herzens verbessern.

Daneben hat sich die Gabe von Esmolol Blutkardioplegie und kristalloider Esmololkardioplegie in einem intermittierenden Infusionsintervall als geeignet erwiesen (Fujii und Chambers 2013, Nishina und Chambers 2017). Zudem wurde auch gezeigt, dass die Infusion mit Esmolol-basierten Kardioplegielösungen einen guten Schutz des Myokards auch bei längeren Perioden hypothermer (Nishina und Chambers 2017) und normothermer (Bessho und Chambers 2002) Ischämie bietet. Längere Infusionszeiten von mehr als 20 Minuten mit Esmolol-Konzentrationen von etwa 1,5 mmol/L führten dagegen jedoch zu einer nicht vollständigen kardialen Erholung und zeigten sogar eine längere Dauer bis zur Normalisierung der Herzfunktion, was darauf hindeutet, dass in diesem Fall die Reversibilität beeinträchtigt sein könnte (Pirk et al. 1999). Pirk et al. fanden auch heraus, dass Esmolol-Konzentrationen von 0,75 mmol/ optimal für die Reversibilität waren, so dass es Zweifel an zu hohen Esmolol-Konzentrationen für kardioplegische Lösungen geben könnte (Pirk et al. 1999, Chambers und Fallouh 2010). Wir sind jedoch der Meinung, dass das im Vergleich zu früheren Studien (Ede et al. 1997, Bessho und Chambers 2001, 2002) verlängerte Infusionsintervall und die hohe Esmolol-Konzentration von 1 mmol/l unsere Ergebnisse nicht verändert haben, da sich das Herz in der ECCP- und EBCP-Gruppe gut erholt hat und die Werte nahe den Ausgangswerten lagen. Obwohl beim akuten Myokardinfarkt fast ein Fünftel des lebensfähigen Myokardgewebes verloren ging, konnten wir eine Rückkehr der Ergebnisse in die Nähe der Ausgangswerte feststellen.

Eine andere Einflussgröße könnte der Clearance-Metabolismus von Esmolol sein. Esmolol wird in den Erythrozyten durch Esterasen mittels Hydrolyse abgebaut

(Halbwertszeit etwa 9 min) (Zaroslinski et al. 1982, Wiest und Haney 2012). In der ECCP-Kardioplegie bleibt der negativ inotrope Effekt von zirkulierendem Esmolol potentiell bis zum Zeitpunkt der Reperfusion bestehen, sollte allerdings zum Ende des kardiopulmonalen Bypasses durch Auswaschen schnell aufgehoben sein (Fallouh et al. 2010). In einer blutbasierten Kardioplegielösung könnten Esterasen in den Erythrozyten den Metabolismus von Esmolol beschleunigen. Allerdings sollte dieser Effekt im Rahmen unserer Messungen eine eher geringe Rolle spielen, da zum Zeitpunkt der Reperfusion in beiden Fällen kein wirksames Esmolol in klinisch relevanter Konzentration im Erythrozytenperfusat vorliegen sollte.

## 29 LIMITATIONEN DER ARBEIT

In der vorliegenden Arbeit wurde nur die Verwendung einer warmen Esmolol-Blutkardioplegie bei infarzierten Herzen miteinander verglichen. Die klinische Frage, ob bei diesen Patienten eine warme - oder kalte Blutkardioplegie eingesetzt werden sollte, lässt sich aus dieser Studie nicht ableiten. Weitere Studien sind erforderlich, um die potentiell unterschiedlichen Auswirkungen einer warmen bzw. kalten Kardioplegie bei Herzen mit verschiedenen Esmolol-Lösungen zu evaluieren.

Obwohl bei allen Versuchsgruppen versucht wurde, die klinische Realität hinsichtlich Temperatur, Anwendung und Zusammensetzung der Kardioplegie bestmöglich zu imitieren, ist unsere experimentelle Umgebung künstlich, da isolierte Rattenherzen und nicht das gesamte Tier verwendet wurden und zudem keine chirurgische Manipulation am Herzen, wie bei einer Operation erfolgte. Zudem ist nicht klar, inwieweit Unterschiede der verschiedenen Spezies einen Einfluss auf die Ergebnisse nehmen.

Außerdem wurde die regionalen Myokardischämie in einem zwar physiologisch aktiven und perfundierten Herzen für 120 Minuten erzeugt, allerdings sind die Ergebnisse dadurch nicht auf ein reales, unter Last stehendes Herz, welches über einen längeren Zeitraum ischämisch ist, übertragbar. Zudem ist unklar welchen Einfluss die in der Akuttherapie verwendeten Medikamente wie z.B. Morphin, Thrombozytenaggregationshemmer (Acetylsalicylsäure (=ASS), ADP-Rezeptor-Inhibitoren), Antikoagulantien (Heparine) und Nitrate die Kardioplegie beeinflussen.

Es wurde versucht, die RIVA immer auf gleicher Höhe an der Vorderwand des Herzens zu ligieren. Allerdings können Länge, Größe und Versorgungsgebiet der RIVA und ihrer Kollateralen variieren, was nicht berücksichtigt werden konnte. Eine Messung der Infarktgröße der Rattenherzen vor der Reperfusion war versuchsbedingt nicht möglich,

sodass ein zusätzlicher Ischämie-Reperfusionsschaden nicht ausgeschlossen werden kann. Zudem war die Gesamtzahl der verwendeten Tiere eher gering. Um die Versuche zu standardisieren wurde nur eine Abklemmzeit (90 Minuten) in den Experimenten untersucht. Die Auswirkungen anderer (kürzerer oder längerer) Abklemmzeiten auf die Effizienz der verschiedenen Schutzstrategien (z. B. auf die Entwicklung der Infarktgröße) müssen in weiteren Experimenten untersucht werden.

In dem verwendeten Modell wurden für die Perfusion zudem eine Suspension aus Pufferlösung und Rindererythrozyten anstelle von Vollblut verwendet, sodass man nicht sicher sein kann, wie dies die Ergebnisse beeinflusst hat. Außerdem wurde die Herzen nicht mit allogenen Blut, sondern xenogen mit dem Blut anderer Spezies perfundiert, was zu einer immunologischen Reaktion und einer daraus folgenden Beeinflussung der Experimente geführt haben könnte (Podesser et al. 2002). Weiterhin ist der Einfluss der extrakorporalen Zirkulation auf die Ergebnisse unklar, da diese zum einen eine Zerstörung der Blutbestandteile verursacht und es zum anderen infolgedessen zu einer systemischen Inflammation (SIRS) kommt (Day und Taylor 2005).

Darüber hinaus war die Zugabe der Kardioplegielösungen in den Infarktbereich durch die RIVA-Ligatur mit hoher Wahrscheinlichkeit beeinträchtigt. Das Ausmaß der Kollateralen und deren Auswirkung konnte allerdings nicht individuell beurteilt werden. Daher bleibt der tatsächliche Schutz des ischämischen Bereichs, der während des Experiments erreicht wurde, schwer fassbar. Jedoch wurde dieses Modell auch deshalb gewählt, um die entsprechende klinische Situation zu simulieren, in der die Zugabe von Kardioplegie in das Infarktgebiet ebenfalls schwierig ist. Andere klinisch verwendete Methoden zur Applikation von Kardioplegie in das Infarktgebiet (retrograde Applikation, Applikation über Bypass-Transplantate) wurden in diesem Versuchsaufbau auch nicht berücksichtigt.

Trotz all dieser Einschränkungen gibt es kein experimentelles Modell, das der klinischen Situation näherkommt. Zusätzlich konnten mit diesem Modell interindividuell unterschiedliche Merkmale wie z.B. Vorerkrankungen ausgeschlossen werden, die die Ergebnisse im klinischen Umfeld beeinflussen können. Außerdem sind die im klinischen Umfeld verwendeten Endpunkte oft zu allgemein oder nicht invasiv genug, um geringfügige Unterschiede und Veränderungen im Herzmuskel der Patienten beobachten zu können.

### 30 SCHLUSSFOLGERUNGEN DER ARBEIT

Bei einer Übertragung auf den klinischen Bereich zielt diese Studie auf die zunehmende Zahl älterer Patienten ab, die sich einem herzchirurgischen Eingriff unterziehen müssen (Sen et al. 2012). Wenn sich diese Patienten wegen einer regionalen Myokardischämie einer Operation unterziehen müssen sind therapeutische Entscheidungen zur Minimierung des perioperativen Risikos dieser Patientenklientel von entscheidender Bedeutung. Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten darauf hin, dass ECCP und EBCP im Vergleich zu etablierten hyperkaliämischen Kardioplegielösungen (Calafiore und Buckberg) einen ebenso wirksamen Myokardschutz bei Patienten mit regionaler Myokardischämie bieten (Veitinger et al. 2021).

Allerdings gibt es auch einige Einschränkungen, die sich aus dieser Arbeit ergeben:

In der vorliegenden Arbeit wurde nur die Verwendung einer warmen Esmolol Blutkardioplegie bei infarzierten Herzen mit anderen Kardioplegien verglichen. Die klinische Frage, ob bei diesen Patienten eine warme - oder kalte Blutkardioplegie eingesetzt werden sollte, lässt sich aus dieser Studie nicht ableiten. Weitere Studien sind erforderlich, um die potentiell unterschiedlichen Auswirkungen einer warmen bzw. kalten Kardioplegie bei Herzen mit verschiedenen Esmolol-Lösungen zu evaluieren.

Um die Versuche zu standardisieren wurde nur eine Abklemmzeit (90 Minuten) in den Experimenten untersucht. Die Auswirkungen anderer (kürzerer oder längerer) Abklemmzeiten auf die Effizienz der verschiedenen Schutzstrategien (z. B. auf die Entwicklung der Infarktgröße) bleibt noch unklar. Auch andere klinisch verwendete Methoden zur Applikation von Kardioplegie in das Infarktgebiet (retrograde Applikation, Applikation über Bypass-Transplantate) wurden hier nicht berücksichtigt.

Insgesamt sind die Ergebnisse dieser Untersuchung durch den geringen Stichprobenumfang begrenzt. Daher lassen die Ergebnisse keine endgültigen Schlussfolgerungen zu, sondern sollten eher als explorativ und hypothesengenerierend interpretiert werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechend allerdings dafür, dass ECCP und EBCP einen ebenso wirksamen Myokardschutz bei Patienten mit regionaler Myokardischämie bieten und im Vergleich zu etablierten hyperkaliämischen Kardioplegielösungen (wie beispielsweise nach Calafiore oder Buckberg) eine gute Alternative in dieser Situation sind.

### 30.1 AUSBLICK

In dem oben beschriebenen Tierversuchsmodell an Rattenherzen mit regionaler Myokardischämie bewirken ECCP- und EBCP zwar einen wirksamen Schutz des Myokards und bieten einen vergleichbar guten Schutz des Myokardgewebes wie kaliumbasierte Blutkardioplegien, dennoch sind weitere Experimente mit größeren Gruppen erforderlich, um zu klären, ob die oben genannten Kardioplegielösungen auf Esmolol-Basis möglicherweise sogar einen Vorteil gegenüber den etablierten hyperkaliämischen Kardioplegielösungen bei der Myokardprotektion in verschiedenen Situationen bieten. Es zeigte sich zwar eine Tendenz hin zu einer besseren Erholung der Esmolol-Gruppen, allerdings könnte durch die hohe Streuung bei kleiner Anzahl an Versuchstieren pro Gruppe zu einer fehlenden Signifikanz geführt haben.

Darüber hinaus muss die sichere Anwendung von Esmolol in hoher Konzentration als Kardioplegiezusatz bei menschlichen Patienten bewertet werden. Da Esmolol als Medikament bereits klinisch zugelassen ist und frühere klinische Studien Esmolol bereits bei kontinuierlicher Applikation als Kardioplegie eingesetzt haben, ohne dass es zu unerwünschten systemischen Wirkungen kam (Kuhn-Régnier et al. 1999, 2002, Mehlhorn et al. 1999), ist es unwahrscheinlich, dass kurze intermittierende Infusionsintervalle bei Hochdosis-Infusionen gravierendere systemische Auswirkungen auf den Organismus haben.

Dazu kommt, dass ein CABG nur in seltenen Fällen eine Notfallindikation ist, sondern häufiger ein elektiver Eingriff bei Patienten mit KHK oder in der subakuten Phase nach erfolgreicher PCI mit Stenteinlage des akut verschlossenen Gefäßes ist (Favaloro 1998). Ein chirurgischer Eingriff innerhalb von sechs Stunden ist nur einer kleinen Zahl von Hochrisikopatienten vorbehalten, darunter Patienten im kardiogenen Schock, in Notfallsituationen durch eine fortschreitende Ischämie, Zwischenfälle bei der Koronarangiographie, einer Mehrgefäßerkrankung oder einer anatomisch ungeeigneten Position für die perkutane Koronarintervention (Schumer et al. 2016). Hier wäre bei Überlegenheit einer der Kardioplegielösungen möglicherweise eine Art Risikostratifizierung nach Routineeingriff mit globaler Ischämie, Hochrisikoeingriff mit globaler Ischämie oder Notfalleingriff mit globaler und regionaler Ischämie zur Verbesserung des Outcomes möglich.

Von Vorteil ist hierbei auch der Metabolismus von Esmolol durch Erythrozyten. Die systemische Clearance ist im Gegensatz zu vielen anderen Arzneimitteln unabhängig

von der Nieren- oder Leberfunktion (Fallouh et al. 2010), welche nach einem kardiopulmonalen Bypass beeinträchtigt sein kann und bei der zunehmenden Zahl älterer und vorerkrankter Patienten, die sich herzchirurgischen Eingriffen unterziehen müssen, bereits häufig im Vorhinein eingeschränkt ist (Sen et al. 2012).

Ein zukünftiger Schritt wird also darin bestehen, die Anwendung von verschiedenen Esmololkardioplegielösungen bei chirurgischer Myokardrevaskularisation bei Patienten mit unterschiedlichen Vorerkrankungen und in diversen Risikosituationen in randomisierten klinischen Studien zu untersuchen und herauszufinden, welche Patientenuntergruppen von diesen Kardioplegiearten profitieren könnten.

## V ZUSAMMENFASSUNG

**HINTERGRUND:** Es konnte bereits gezeigt werden, dass eine Esmolol-basierte Blutkardioplegie (Fujii und Chambers 2013) und eine Esmolol-basierte kristalloide Kardioplegie gegenüber einer hyperkaliämischen kristalloiden Kardioplegielösung eine statistisch signifikant bessere Kardioprotektion bietet (Nishina und Chambers 2017). Zudem ist beschrieben, dass die Gabe von Esmolol als intermittierende Infusion das Myokard besser als eine kontinuierliche Esmololinfusion schützt (Bessho und Chambers 2001) und der protektive Effekt auch bei längeren Ischämieperioden anhält (Bessho und Chambers 2002).

**ZIEL:** Da es weder experimentelle Daten für die intermittierende Gabe von Esmolol-basierter Kardioplegie mit einem längeren Infusionsintervall (20 min) im Vergleich zu hyperkaliämischen blutbasierten Kardioplegielösungen, noch entsprechende Untersuchungen in einem mit blutperfundierten Langendorffapparat gibt, war das Ziel dieser Arbeit den Einfluss einer kristalloiden Esmolol Kardioplegie (ECCP), einer Esmolol Blutkardioplegie (EBCP), der Calafiore Blutkardioplegie (Cala) und der Buckberg Blutkardioplegie (Buck) nach herbeigeführter Ischämie auf die Herzfunktion, den Stoffwechsel und die Infarktgröße in isolierten Rattenherzen zu untersuchen.

**METHODEN:** An den Herzen wurde jeweils für 30 Minuten ein regionaler Myokardinfarkt innerhalb des RIVA-Gebiets erzeugt. Im Anschluss wurde die Aorta abgeklemmt und es wurde ein Herzstillstand mittels einer der jeweiligen Kardioplegielösungen (ECCP, EBCP, Cala oder Buck) induziert. Nach einer 90-minütigen Aortenklammung wurde die Ligatur entfernt und für weitere 90 min reperfundiert. Über diesen Zeitraum wurde kontinuierlich der linksventrikuläre Spitzendruck (LVpdP), die Kontraktionsgeschwindigkeit ( $dLVP/dt_{max}$ ), die Relaxationsgeschwindigkeit ( $dLVP/dt_{min}$ ), die Herzfrequenz und der Koronarfluss aufgezeichnet. Darüber hinaus wurden Stoffwechselfparameter analysiert, die Infarktgröße wurde planimetrisch bestimmt und die Myokardschädigung wurde elektronenmikroskopisch ermittelt.

**ERGEBNISSE:** Bei der Erholung der hämodynamischen Parameter zeigte sich nach 30 min Reperfusion in der EBCP- und ECCP-Gruppe ein statistisch signifikant höherer linksventrikulärer systolischer Druck gegenüber der Calafiore-Gruppe (EBCP  $119 \pm 53$  vs. Cala  $84 \pm 25$  %BL,  $p = 0,046$ ; ECCP  $114 \pm 33$  vs. Cala  $84 \pm 25$  %BL,  $p = 0,026$ ). Zudem zeigte sich in der EBCP-Gruppe ein statistisch signifikant höherer Koronarfluss nach 30 min Reperfusion gegenüber der Calafiore-Gruppe (EBCP  $147 \pm 62$  vs. Cala  $62 \pm 41$  %BL,  $p = 0,040$ ). Während der Reperfusion zeigte sich in der ECCP und Buckberg-Gruppe ein tendenziell höherer myokardialer Sauerstoffverbrauch, was auf mehr erhaltenes vitales Myokard hinweisen könnte, aber dieser Unterschied war nicht

statistisch signifikant. Außerdem war der Sauerstoffverbrauch der EBCP-Gruppe nach 90 min Reperfusion sogar höher als während der Reperfusion, aber auch dies war statistisch nicht signifikant verschieden. Man kann also davon ausgehen, dass alle Lösungen in diesem Anwendungsfall einen vergleichbar guten Schutz des Myokards vor Ischämie-/Reperfusionsschäden bieten. Die Myokardinfarktgröße und der Erhalt der elektronenmikroskopischen Ultrastruktur war in allen Gruppen ähnlich.

**SCHLUSSFOLGERUNGEN:** Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass ECCP und EBCP in dem oben beschriebenen Tierversuchsmodell an Rattenherzen mit regionaler Myokardischämie eine wirksame Kardioprotektion und einen vergleichbar guten Schutz des Myokardgewebes wie kaliumbasierte Blutkardioplegien wie Calafiore und Buckberg Blutkardioplegie bieten.

### 31 VISUELLE ZUSAMMENFASSUNG

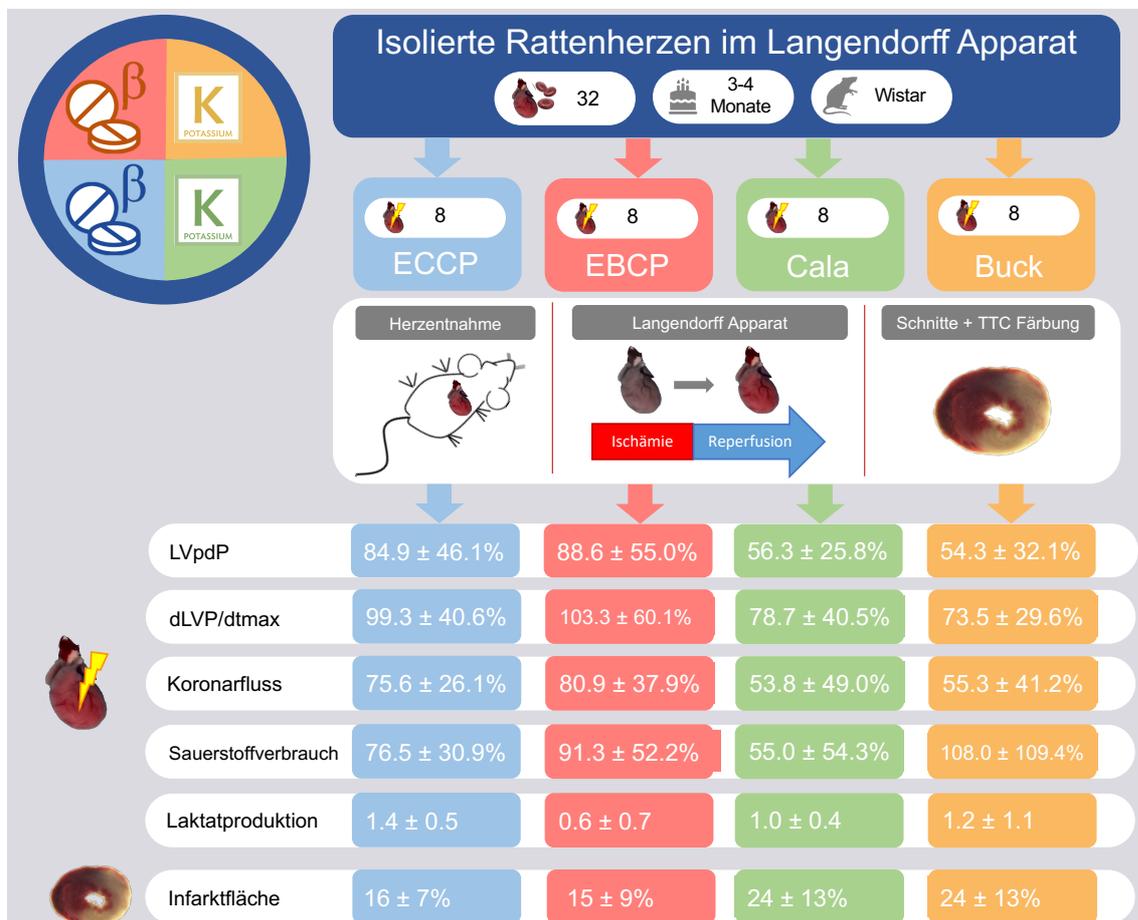


Abbildung 28: Visuelle Zusammenfassung.

## VI SUMMARY

**BACKGROUND:** Esmolol-based blood cardioplegia (Fujii und Chambers 2013) and esmolol-based crystalloid cardioplegia have previously been shown to provide statistically significantly better cardioprotection compared with hyperkalemic crystalloid cardioplegia (Nishina und Chambers 2017). In addition, administration of esmolol as an intermittent infusion has been described to protect the myocardium better than continuous esmolol infusion (Bessho und Chambers 2001), and the protective effect persists during prolonged periods of ischemia (Bessho und Chambers 2002).

**OBJECTIVES:** Because there are no experimental data for intermittent administration of esmolol-based cardioplegia with a longer infusion interval (20 min) compared with hyperkalemic blood-based cardioplegia solutions, nor corresponding studies in a Langendorff apparatus perfused with blood, the aim of this work was to investigate the influence of crystalloid esmolol cardioplegia (ECCP), esmolol blood cardioplegia (EBCP), Calafiore blood cardioplegia (Cala), and Buckberg blood cardioplegia (Buck) on cardiac function, metabolism, and infarct size in isolated rat hearts.

**METHODS:** Regional myocardial infarction within the RIVA area was produced in each heart for 30 minutes. Subsequently, the aorta was clamped and cardiac arrest was induced using one of the respective cardioplegia solutions (ECCP, EBCP, Cala, or Buck). After 90 min of aortic clamping, the ligature was removed and reperfused for an additional 90 min. Over this period, peak left ventricular pressure (LVpdP), contraction velocity (dLVP/dtmax), relaxation velocity (dLVP/dtmin), heart rate, and coronary flow were continuously recorded. In addition, metabolic parameters were analyzed, infarct size was determined by planimetry, and myocardial damage was assessed by electron microscopy.

**RESULTS:** Recovery of hemodynamic parameters showed statistically significantly higher left ventricular systolic pressure after 30 min of reperfusion in the EBCP and ECCP groups compared with the Calafiore group (EBCP  $119 \pm 53$  vs. Cala  $84 \pm 25\%BL$ ,  $p = 0.046$ ; ECCP  $114 \pm 33$  vs. Cala  $84 \pm 25\%BL$ ,  $p = 0.026$ ).

In addition, the EBCP group showed statistically significantly higher coronary flow after 30 min of reperfusion compared with the Calafiore group (EBCP  $147 \pm 62$  vs. Cala  $62 \pm 41\%BL$ ,  $p = 0.040$ ). During reperfusion, the ECCP and Buckberg groups tended to show higher myocardial oxygen consumption, which may indicate more preserved vital myocardium, but this difference was not statistically significant. In addition, oxygen consumption in the EBCP group was even higher after 90 min of reperfusion than during reperfusion, but this was also not statistically significantly different. Thus, it is reasonable to assume that all solutions in this use case provide comparable protection of the

myocardium from ischemia/reperfusion injury. Myocardial infarct size and preservation of electron microscopic ultrastructure were similar in all groups.

**CONCLUSIONS:** The results of this work demonstrate that ECCP and EBCP provide effective cardioprotection and comparable protection of myocardial tissue compared with potassium-based blood cardioplegia such as Calafiore and Buckberg blood cardioplegia in the experimental animal model of rat hearts with regional myocardial ischemia described above.

## VII ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	<i>Prozent</i>
% BL	<i>Prozent von Baseline</i>
°C	<i>Grad Celsius</i>
ACS	<i>Akutes Koronarsyndrom</i>
ACVB	<i>aortocoronarer Venenbypass</i>
A <sub>G</sub>	<i>Gesamtfläche des Herzschnitts</i>
A <sub>I</sub>	<i>Infarktfläche des Herzschnitts</i>
A <sub>L</sub>	<i>Fläche Lumen des Herzschnitts</i>
AMP	<i>Adenosinmonophosphat</i>
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
AP	<i>Aktionspotential</i>
AP <sub>mean</sub>	<i>mittlerer Aortendruck</i>
ASS	<i>Acetylsalicylsäure</i>
ATP	<i>Adenosinriphosphat</i>
A <sub>V</sub>	<i>Fläche vitales Myokard des Herzschnitts</i>
BÄK	<i>Bundesärztekammer</i>
BCP	<i>Blutkardioplegielösung = oxygeniertes Erythrozytenperfusat</i>
BGA	<i>Blutgasanalyse</i>
BMI	<i>Body-Mass-Index</i>
BSA	<i>Bovines Serumalbumin</i>
Buck	<i>Buckberg Blutkardioplegielösung</i>
c	<i>Konzentration</i>
Ca <sup>2+</sup>	<i>Calciumion</i>
CABG	<i>coronary artery bypass graft</i>
CaCl <sub>2</sub>	<i>Calciumchlorid</i>
Cala	<i>Calafiore Blutkardioplegielösung</i>
cAMP	<i>Cyclisches Adenosinmonophosphat</i>
cCa <sup>2+</sup>	<i>Konzentration Calcium</i>
CCP	<i>kristalloide Kardioplegie</i>
CEI	<i>cellular edema index</i>
CEI	<i>cellular edema index</i>
CF	<i>koronarer Blutfluss</i>
cGlu	<i>Konzentration Glukose</i>
CI	<i>cardiac index</i>
CK	<i>Creatin-Kinase</i>
cK <sup>+</sup>	<i>Konzentration K</i>
Cl <sup>-</sup>	<i>Chloridion</i>
cLac	<i>Laktatkonzentration</i>
cLac	<i>Konzentration Laktat</i>

cNa <sup>+</sup>	Konzentration Natrium
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CPB	cardiopulmonary bypass
ctHb	Konzentration Hb
CVP	central venous pressure
Destatis	Statistisches Bundesamt
DHPR	Dihydropyridinrezeptor = L-Typ-Calciumkanal
dia	diastolisch
dLVP/dtmax	maximale Kontraktionsgeschwindigkeit linker Ventrikel
dLVP/dtmin	maximale Relaxationsgeschwindigkeit linker Ventrikel
EBCP	Esmolol Blutkardioplegielösung
ECCP	Esmolol kristalloide Kardioplegielösung
Echo	Echokardiographie
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
EZ	Extrazellulärraum
g	Gramm
G	Erdschwerebeschleunigung
G <sub>s</sub> -Protein	stimulatorisches G-Protein
h	Stunde
H <sup>+</sup>	Wasserstoffion
H <sub>2</sub> O	Wasser
Hb	Hämoglobinkonzentration
HDL	High Density Lipoprotein
HEPES	Hydroxyethylpiperazin-Ethansulfonsäure
HF	Herzfrequenz
HR	heart rate
HTK-Lösung	Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat Lösung
I.E.	Internationale Einheit
I(x)	Schnittpunkt x
i <sub>Ca L</sub>	L-Typ Ca <sup>2+</sup> -Einwärtsstrom
i <sub>Ca T</sub>	T-Typ Ca <sup>2+</sup> -Einwärtsstrom
i <sub>Cl</sub>	Cl <sup>-</sup> -Einwärtsstrom
i <sub>K r</sub>	schneller K <sup>+</sup> -Auswärtsstrom
i <sub>K s</sub>	langsamer K <sup>+</sup> -Auswärtsstrom
i <sub>K to</sub>	transienter K <sup>+</sup> Auswärtsstrom
i <sub>K ur</sub>	ultra-schneller K <sup>+</sup> -Auswärtsstrom
I <sub>K,ATP</sub>	ATP-abhängiger Kaliumstrom
i <sub>K1</sub>	Ruhe K <sup>+</sup> -Auswärtsstrom
i <sub>Na</sub>	schneller Na <sup>+</sup> -Einwärtsstrom

INF	<i>Myokardinfarkt</i>
IZ	<i>Intrazellulärraum</i>
K <sup>+</sup>	<i>Kaliumion</i>
KCl	<i>Kaliumchlorid</i>
kg	<i>Kilogramm</i>
KG	<i>Körpergewicht</i>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	<i>Kaliumdihydrogenphosphat</i>
KHB	<i>Krebs–Henseleit Pufferlösung</i>
KHK	<i>Koronare Herzkrankheit</i>
KP	<i>Kardioplegiegabe</i>
l	<i>Liter</i>
L	<i>Länge</i>
LAD	<i>left anterior descending coronary artery</i>
LCA	<i>left coronary artery</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LIMA	<i>left internal mammary artery</i>
LV	<i>linker Ventrikel</i>
LVEDP	<i>linksventrikulärer enddiastolischer Druck</i>
LVEF	<i>linksventrikuläre Ejektionsfraktion</i>
LVP	<i>linksventrikulärer Druck</i>
LVPdia	<i>diastolischer linksventrikulärer Druck</i>
LVpdP	<i>left ventricular peak developed pressure</i> <i>= linksventrikulärer Spitzendruck</i>
LVPsys	<i>systolischer linksventrikulärer Druck</i>
M-CSF	<i>Monozytenkolonien-stimulierender Faktor</i>
M $\dot{V}$ O <sub>2</sub>	<i>myokardialer Sauerstoffverbrauch</i>
MAP	<i>mean arterial pressure</i>
mf	<i>Myofibrillen</i>
m <sub>G</sub>	<i>Gewichts der Herzschnitte</i>
MgSO <sub>4</sub>	<i>Magnesiumsulfat</i>
mi	<i>Mitochondrien</i>
ml	<i>Milliliter</i>
mmHg	<i>Millimeter-Quecksilbersäule</i>
mmol	<i>Millimol</i>
MñLac	<i>myokardiale Laktatproduktion</i>
mPAP	<i>mean pulmonary arterial pressure</i>
ms	<i>Millisekunde</i>
mV	<i>Millivolt</i>
MW	<i>Mittelwert</i>
myo	<i>Myozyten</i>
n	<i>Anzahl</i>

Na <sup>+</sup>	<i>Natriumion</i>
Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATPase	<i>Natrium-Kalium-Transmembranpumpe</i>
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	<i>Dinatriumhydrogenphosphat</i>
NaCl	<i>Natriumchlorid</i>
NADH	<i>Nicotinamidadenindinukleotid</i>
NADPH	<i>Nicotinamidadenindinukleotidphosphat</i>
NaHCO <sub>3</sub>	<i>Natriumhydrogencarbonat</i>
NCX	<i>Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>-Austauscher</i>
NHE	<i>Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>-Austauscher</i>
NO	<i>Stickstoffmonoxid</i>
NSTEMI	<i>non-ST-elevation myocardial infarction</i>
nuc	<i>Zellkerne</i>
O <sub>2</sub>	<i>Sauerstoff</i>
OPCAB	<i>Off-Pump Coronary Artery Bypass</i>
p(x)	<i>Punkt x</i>
PBS	<i>phosphate-buffered saline</i>
PCI	<i>Perkutane Koronarintervention</i>
pCO <sub>2</sub>	<i>Kohlendioxidpartialdruck</i>
pH	<i>Potential des Wasserstoffs</i>
PLB	<i>Phospholamban</i>
PMCA	<i>Plasmamembran Ca<sup>2+</sup>-ATPase</i>
pO <sub>2</sub>	<i>Sauerstoffpartialdruck</i>
PP	<i>perfusion pressure</i>
RAAS	<i>Renin-Angiotensin-Aldosteron-System</i>
RCA	<i>right coronary artery</i>
RCX	<i>Ramus circumflexus</i>
Rep	<i>Reperfusion</i>
RIMA	<i>right internal mammary artery</i>
RIVA	<i>Ramus interventricularis anterior</i>
ROS	<i>Reaktive Sauerstoffspezies</i>
RPP	<i>rate pressure product</i>
RV	<i>rechter Ventrikel</i>
RyR	<i>Ryanodin-Rezeptor = Calciumkanal sarkoplasmatisches Retikulum</i>
SD	<i>Standardabweichung</i>
SERCA	<i>Sarcoplasmic Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase</i>
SIRS	<i>Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom</i>
sO <sub>2</sub>	<i>Sauerstoffsättigung</i>
SP	<i>Ventrikelseptum</i>
sp	<i>Sarkoplasma</i>
SR	<i>Sarkoplasmatisches Retikulum</i>

STEMI	<i>ST-elevation myocardial infarction</i>
STH-2	<i>St. Thomas' Hospital cardioplegic solution No 2</i>
STH-POL	<i>St. Thomas' Hospital polarizing cardioplegic solution</i>
$S_v(\text{mi}/\text{myo})$	<i>Oberflächendichte der Mitochondrien Myozyt</i>
sys	<i>systolisch</i>
t-PA	<i>Gewebespezifischer Plasminogenaktivator</i>
T-Tubuli	<i>Transversales tubuläres System</i>
TCFA	<i>Thin-cap fibroatheroma</i>
THAM	<i>Trometamol</i>
TTC	<i>Triphenyltetrazoliumchlorid</i>
V/S-Ratio(mi)	<i>Volumen-Oberflächen-Verhältnis der Mitochondrien</i>
VSD	<i>Ventrikelseptumdefekt</i>
$V_v(x/\text{myo})$	<i>Volumendichte Zellkompartiment Myozyt</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
x	<i>Nummer des Herzschnitts</i>
zw	<i>zwischen</i>
$\Delta A_G$	<i>Mittelwert der Gesamtfläche des Herzschnitts</i>
$\Delta A_I$	<i>Mittelwert der Infarktfläche des Herzschnitts</i>
$\Delta A_L$	<i>Mittelwert der Fläche Lumen des Herzschnitts</i>
$\mu\text{g}$	<i>Mikrogramm</i>
$\mu\text{l}$	<i>Mikroliter</i>
$\mu\text{m}$	<i>Mikrometer</i>
$\mu\text{mol}$	<i>Mikromol</i>
$\Sigma A_G$	<i>Summe Mittelwerte der Gesamtfläche der Herzschnitte</i>
$\Sigma mG$	<i>Gesamtgewicht Herz</i>

## VIII ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Physiologisches Aktionspotential einer Arbeitsmyokardzelle.  $i_{Na}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $Na^+$ -Kanäle;  $i_{K_{to}}$  = transienter  $K^+$  Auswärtsstrom;  $i_{Cl}$  =  $Cl^-$  Einwärtsstrom;  $i_{Ca_T}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte T-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle;  $i_{Ca_L}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte L-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle bzw. Dihydropyridinrezeptoren;  $i_{K_{ur}}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte ultra-schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K_r}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K_s}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte langsame  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K1}$  = Auswärtsstrom in Ruhe über  $K^+$ -Kanäle; RyR = Auswärtsstrom über  $Ca^{2+}$ -Kanäle im sarkoplasmatischen Retikulum = Ryanodinrezeptoren; SERCA =  $Ca^{2+}$ -ATPase im sarkoplasmatischen Retikulum; PLB = Phospholamban;  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase =  $Na^+$ - $K^+$ -Austauscher; NCX =  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -Austauscher;  $Ca^{2+}$ -ATPase = Plasma Membran  $Ca^{2+}$ -ATPase im Sarkolemm = PMCA;  $Na^+$  = Natrium;  $K^+$  = Kalium;  $Cl^-$  = Chlorid;  $Ca^{2+}$  = Calcium; IZ = Intrazellulärraum; EZ = Extrazellulärraum; SR = sarkoplasmatischen Retikulum.  
.....8

Abbildung 2: Einfluss von Ischämie auf das Aktionspotential im Arbeitsmyokard.  $i_{Na}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $Na^+$ -Kanäle;  $i_{K_{to}}$  = transienter  $K^+$  Auswärtsstrom;  $i_{Cl}$  =  $Cl^-$  Einwärtsstrom;  $i_{Ca_T}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte T-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle;  $i_{Ca_L}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte L-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle bzw. Dihydropyridinrezeptoren;  $i_{K_{ur}}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte ultra-schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K_r}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K_s}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte langsame  $K^+$ -Kanäle;  $i_{K1}$  = Auswärtsstrom in Ruhe über  $K^+$ -Kanäle; RyR = Auswärtsstrom über  $Ca^{2+}$ -Kanäle im sarkoplasmatischen Retikulum = Ryanodinrezeptoren; SERCA =  $Ca^{2+}$ -ATPase im sarkoplasmatischen Retikulum; PLB = Phospholamban;  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase =  $Na^+$ - $K^+$ -Austauscher; NCX =  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -Austauscher;  $Ca^{2+}$ -ATPase = Plasma Membran  $Ca^{2+}$ -ATPase im Sarkolemm = PMCA; NHE =  $Na^+$ - $H^+$ -Austauscher;  $Na^+$  = Natrium;  $K^+$  = Kalium;  $Cl^-$  = Chlorid;  $Ca^{2+}$  = Calcium; IZ = Intrazellulärraum; EZ = Extrazellulärraum; SR = sarkoplasmatischen Retikulum.....11

Abbildung 3: Einfluss verschiedener Kardioplegielösungen auf das Aktionspotential im Arbeitsmyokard.  $i_{Na}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $Na^+$ -Kanäle;  $i_{K_{to}}$  = transienter  $K^+$  Auswärtsstrom;  $i_{Cl}$  =  $Cl^-$  Einwärtsstrom;  $i_{Ca_T}$  = Einwärtsstrom über spannungsgesteuerte T-Typ  $Ca^{2+}$ -Kanäle;  $i_{Ca_L}$  = Einwärtsstrom

über spannungsgesteuerte L-Typ  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle bzw. Dihydropyridinrezeptoren;  $i_{K_{ur}}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte ultra-schnelle  $\text{K}^+$ -Kanäle;  $i_{K_r}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte schnelle  $\text{K}^+$ -Kanäle;  $i_{K_s}$  = Auswärtsstrom über spannungsgesteuerte langsame  $\text{K}^+$ -Kanäle;  $i_{K1}$  = Auswärtsstrom in Ruhe über  $\text{K}^+$ -Kanäle; RyR = Auswärtsstrom über  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle im sarkoplasmatischen Retikulum = Ryanodinrezeptoren ; SERCA =  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase im sarkoplasmatischen Retikulum; PLB = Phospholamban ;  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase =  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -Austauscher; NCX =  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher;  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase = Plasma Membran  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase im Sarkolemm = PMCA;  $\text{Na}^+$  = Natrium;  $\text{K}^+$  = Kalium;  $\text{Cl}^-$  = Chlorid;  $\text{Ca}^{2+}$  = Calcium; IZ = Intrazellulärraum; EZ = Extrazellulärraum; SR = sarkoplasmatischen Retikulum.  
.....27

Abbildung 4: Experimenteller Versuchsaufbau mit einem Langendorff Apparat. Das Perfusat wurde gefiltert, mit Sauerstoff angereichert (1) und mithilfe einer Schlauchpumpe (rote Pfeile) zum Aortenblock (2) gepumpt. Es wurde ein konstanter Perfusionsdruck von 70 mmHg eingestellt, mit welchem das Herz perfundiert wurde. Überstieg der aktuelle Druck den eingestellten Sollwert, öffnete sich ein Überdruckventil, das den übermäßigen Fluss in das Vorratsgefäß zurückgeleitet hat (4). Das aus dem Herzen abtropfende Koronarsinusblut wurde gesammelt und rezirkuliert ebenfalls (3). Ein Latexballon im linken Ventrikel war mit einem Druckwandler verbunden, um den vom Myokard aufgebauten Druck zu messen. BGA: Blutgasanalyse; APmean: mittlerer Aortendruck; LVP: linksventrikulärer Druck. ....40

Abbildung 5: A: Organpräparation am Versuchstier. B: Präpariertes Rattenherz mit abgesetzter Aorta, Herzohren und linker Koronararterie (LCA) mit Gefäßabgängen.  
.....42

Abbildung 6: Versuchsgruppen: ECCP = Esmolol kristalloide Kardioplegie, EBCP = Esmolol Blutkardioplegie, Calafiore Blutkardioplegie, Buckberg Blutkardioplegie. N = Anzahl Versuchstiere pro Gruppe. ....43

Abbildung 7: Versuchsablauf. Zeitachse der Experimente in Minuten mit Messzeitpunkten, Angabe von Zeitabschnitten und Zeitpunkten der Gabe der Kardioplegielösung. Die Versuche erfolgten bei erwachsenen Rattenherzen, die einem 30-minütigen Myokardinfarkt im Versorgungsgebiet des RIVA bzw. LAD ausgesetzt waren. KP = Kardioplegiegabe, RIVA: Ramus interventricularis anterior, LAD: left anterior descending,  $\text{O}_2$  = myokardialer Sauerstoffverbrauch, Laktat =

- myokardiale Laktatproduktion, Häodynamik = hämodynamische Messungen, TTC-Färbung = Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung. ....49
- Abbildung 8: A: Koronararterielle Blutversorgung am Rattenherzen. Orangener Pfeil = LCA, gelber Pfeil = linkes Herzohr, grüner Pfeil = RCX, blauer Pfeil = RIVA, roter Blitz = Stelle für die Ligatur des RIVA mit einem Faden. B: Regionale Ischämiephase. Blauer Pfeil = Fadenligatur des RIVA.....50
- Abbildung 9: Beispielhafte TTC-Färbung eines Herzschnittes. Typisches Erscheinungsbild des Infarktbereichs (farbloses Gewebe, gelber Pfeil) im Vergleich zum nicht infarzierten Bereich (rotes Gewebe, roter Pfeil). RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel, SP = Septum. ....56
- Abbildung 10: Beispielhafte Planimetrie der Herzschnitte. Darstellung nach manueller Umrandung der vitalen und avitalen Bereiche. ....57
- Abbildung 11: Mittelwerte des LVPsys. A: Mittelwerte des LVPsys in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des LVPsys zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des LVPsys nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des LVPsys nach 90 min Reperfusion [% BL]. \*p < 0.05, einfaktorische ANOVA mit Tukey's Post-hoc-Test. #p < 0.05, Kruskal-Wallis Test mit Dunn's Post-hoc-Test. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt. ....65
- Abbildung 12: Ränge des LVPsys nach 30 min Reperfusion. Berechnet mittels Kruskal-Wallis Test. . #p < 0.05, Kruskal-Wallis Test mit Dunn's Post-hoc-Test .....67
- Abbildung 13: Mittelwerte des LVPdia. A: Mittelwerte des LVPdia in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des LVPdia zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des LVPdia nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des LVPdia nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt. ....69
- Abbildung 14: Mittelwerte des LVpdP. A: Mittelwerte des LVpdP in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des LVpdP zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des LVpdP nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des LVpdP nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala:

- Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.  
 .....72
- Abbildung 15: Mittelwerte des dLVP/dtmax. A: Mittelwerte des dLVP/dtmax in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des dLVP/dtmax zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des dLVP/dtmax nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des dLVP/dtmax nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt. ....75
- Abbildung 16: Mittelwerte des dLVP/dtmin. A: Mittelwerte des dLVP/dtmin in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des dLVP/dtmin zu Beginn der Versuche [mmHg]. C: Mittelwerte des dLVP/dtmin nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des dLVP/dtmin nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt. ....78
- Abbildung 17: Mittelwerte des CF. A: Mittelwerte des CF in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des CF zu Beginn der Versuche [ml/min]. C: Mittelwerte des CF nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des CF nach 90 min Reperfusion [% BL]. \*p < 0.05, einfaktorielle ANOVA mit Tukey's Post-hoc-Test. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt. ....81
- Abbildung 18: Mittelwerte der HF. A: Mittelwerte des HF in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. B: Mittelwerte des HF zu Beginn der Versuche [1/min]. C: Mittelwerte des HF nach 30 min Reperfusion [% BL]. D: Mittelwerte des HF nach 90 min Reperfusion [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.....85
- Abbildung 19: Mittelwerte des myokardialen Sauerstoffverbrauchs in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.....89
- Abbildung 20: Mittelwerte des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $MVO_2$ ) in den verschiedenen Versuchsgruppen zu Versuchsbeginn [ $mlmin * 100g$ ]. ECCP:

Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.....90

Abbildung 21: Mittelwerte der myokardialen Laktatproduktion (MñLac) in den verschiedenen Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum [% BL]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt. ....92

Abbildung 22: Mittelwerte der myokardialen Laktatproduktion (MñLac) in den verschiedenen Versuchsgruppen zu Versuchsbeginn [ $\mu\text{molml} \times \text{min}$ ]. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.....93

Abbildung 23: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] der Rattenherzen nach 30-minütiger Ligatur der RIVA mit anschließender 90-minütiger Reperfusion. Einfaktorielle ANOVA:  $p = 0,1452$ . Kruskal-Wallis Test:  $p = 0,123$ . A: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] mit ECCP Kardioplegie. B: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] mit EBCP Kardioplegie. C: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] mit Calafiore Kardioplegie. D: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] mit Buckberg Kardioplegie. Typisches Erscheinungsbild des Infarktbereichs (blasses Gewebe, gelber Pfeil) im Vergleich zum nicht infarzierten Bereich (rotes Gewebe, roter Pfeil). RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel, SP = Septum. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt. ....95

Abbildung 24: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] der Rattenherzen nach 30-minütiger Ligatur der RIVA mit anschließender 90-minütiger Reperfusion. Einfaktorielle ANOVA:  $p = 0,347$ . Kruskal-Wallis Test:  $0,294$ . A: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] mit ECCP Kardioplegie. B: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] mit EBCP Kardioplegie. C: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] mit Calafiore Kardioplegie. D: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtgewicht</sub> [%] mit Buckberg Kardioplegie. Typisches Erscheinungsbild des Infarktbereichs (blasses Gewebe, gelber Pfeil) im Vergleich zum nicht infarzierten Bereich (rotes Gewebe, roter Pfeil). RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel, SP = Septum. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt. ....96

- Abbildung 25: Übersicht repräsentativer elektronenmikroskopischer Aufnahmen aus linken Ventrikeln der Rattenherzen (n = 2) der verschiedenen Versuchsgruppen nach 90-minütiger Reperfusion. A: Buckberg Blutkardioplegie. B: Calafiore Blutkardioplegie. C: Esmolol Blutkardioplegie. D: Esmolol kristalloide Kardioplegie. Testlinienlänge = 1  $\mu\text{m}$ , mf = Myofibrille, mi = Mitochondrium. Vergrößerung: 14000 x.....99
- Abbildung 26: Mittelwerte der V/S-Ratio(mi) aus linken Ventrikeln der Rattenherzen (n = 2) der verschiedenen Versuchsgruppen nach 90-minütiger Reperfusion. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.....100
- Abbildung 27: Mittelwerte des CEI aus linken Ventrikeln der Rattenherzen (n = 2) der verschiedenen Versuchsgruppen nach 90-minütiger Reperfusion. ECCP: Esmolol kristalloide Kardioplegie; EBCP: Esmolol Blutkardioplegie; Cala: Calafiore Blutkardioplegie; Buck: Buckberg Blutkardioplegie; INF: Myokardinfarkt.....101
- Abbildung 28: Visuelle Zusammenfassung. ....135

## IX TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Verwendete Chemikalien.....	33
Tabelle 2: Verwendete Pharmaka .....	33
Tabelle 3: Verwendete Geräte .....	37
Tabelle 4: Zusammensetzung und Konzentrationen der Krebs-Henseleit Pufferlösung. .....	38
Tabelle 5: Zusammensetzung und Konzentrationen der Esmolol kristalloiden Kardioplegielösung (ECCP). Die Konzentrationen sind für die gebrauchsfertige Mischung aus Pufferlösung und Esmolol angegeben. Na <sup>+</sup> = Natrium, K <sup>+</sup> = Kalium, Ca <sup>2+</sup> = Calcium, pCO <sub>2</sub> = Kohlendioxidpartialdruck, pO <sub>2</sub> = Sauerstoffpartialdruck, sO <sub>2</sub> = Sauerstoffsättigung, Hb = Hämoglobinkonzentration. ....	44
Tabelle 6: Zusammensetzung und Konzentrationen der Esmolol Blutkardioplegielösung (EBCP). Die Konzentrationen sind für die gebrauchsfertige Mischung aus Pufferlösung, Erythrozytenperfusat und Esmolol angegeben. Na <sup>+</sup> = Natrium, K <sup>+</sup> = Kalium, Ca <sup>2+</sup> = Calcium, pCO <sub>2</sub> = Kohlendioxidpartialdruck, pO <sub>2</sub> = Sauerstoffpartialdruck, sO <sub>2</sub> = Sauerstoffsättigung, Hb = Hämoglobinkonzentration. .....	45
Tabelle 7: Zusammensetzung der Calafiore Blutkardioplegielösung. Die Konzentrationen sind für die gebrauchsfertige Mischung aus Pufferlösung, Erythrozytenperfusat und Kardioplegie angegeben. Das Mischungsverhältnis Blut zu Kardioplegie betrug 44:1 für die Anfangsdosis (I) und 94:1 für die Folgedosen (II). Na <sup>+</sup> = Natrium, K <sup>+</sup> = Kalium, Cl <sup>-</sup> = Chlorid; MgSO <sub>4</sub> = Magnesiumsulfat. ....	46
Tabelle 8: Zusammensetzung der Buckberg Blutkardioplegielösung. Buckbergs Lösung I wurde für die kalte Induktion, Lösung II für die kalte Reinfusion und Lösung III für die warme Reperfusion („Hot Shot“) verwendet. Die Konzentrationen sind für das gebrauchsfertige 4:1-Gemisch aus Blut und Kardioplegie angegeben. Na <sup>+</sup> = Natrium, K <sup>+</sup> = Kalium, Cl <sup>-</sup> = Chlorid, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> = Dinatriumhydrogenphosphat, THAM = Tris(hydroxymethyl)aminomethan. ....	48
Tabelle 9: Messergebnisse der Versuchsparameter Körpergewicht und Herzgewicht zu Beginn der Versuche. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden beim Körpergewicht aufgrund einer fehlenden Varianzhomogenität durch eine Welch ANOVA (#) und	

- einen Kruskal-Wallis Test, sowie beim Herzgewicht durch eine einfaktorische ANOVA (\*) mit Tukey's Post-hoc-Test berechnet. ....63
- Tabelle 10: Messergebnisse des LVPsys an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des LVPsys in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigte zum Beginn der Reperfusion und nach 30 min Reperfusion signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet. dLVP/dtmax bzw. dLVP/dtmin = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck.....66
- Tabelle 11: Messergebnisse des LVPdia an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des LVPdia in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet. dLVP/dtmax bzw. dLVP/dtmin = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck.....70
- Tabelle 12: Messergebnisse des LVpdP an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des LVpdP in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten zu Beginn der Reperfusion und nach 30 min Reperfusion signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet. dLVP/dtmax bzw. dLVP/dtmin = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck.....73
- Tabelle 13: Messergebnisse der dLVP/dt<sub>max</sub> an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung der dLVP/dt<sub>max</sub> in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet. dLVP/dtmax

bzw.  $dLVP/dt_{min}$  = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck, Rep = Reperfusion.....76

Tabelle 14: Messergebnisse der  $dLVP/dt_{min}$  an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung der  $dLVP/dt_{min}$  in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigte während der Klemmung und zu Beginn der Reperfusion einen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.  $dLVP/dt_{max}$  bzw.  $dLVP/dt_{min}$  = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck, Rep = Reperfusion. ....79

Tabelle 15: Messergebnisse des CF an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des CF in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.  $dLVP/dt_{max}$  bzw.  $dLVP/dt_{min}$  = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck.....82

Tabelle 16: Messergebnisse der Herzfrequenz an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung der Herzfrequenz in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.  $dLVP/dt_{max}$  bzw.  $dLVP/dt_{min}$  = Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit, LVpdP = linksventrikulärer Spitzendruck.....86

Tabelle 17: Messergebnisse des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $MVO_2$ ) an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung des myokardialen Sauerstoffverbrauchs ( $MVO_2$ ) in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorische ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.....89

- Tabelle 18: Messergebnisse der Myokardialen Laktatproduktion (MñLac) an perfundierten Rattenherzen. Die Erholung der Myokardialen Laktatproduktion (MñLac) in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.....92
- Tabelle 19: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] der Rattenherzen nach 30-minütiger Ligatur der RIVA mit anschließender 90-minütiger Reperfusion. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet. ....95
- Tabelle 20: Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub> [%] der Rattenherzen nach 30-minütiger Ligatur der RIVA mit anschließender 90-minütiger Reperfusion. Der Mittelwert des Infarktanteil<sub>Gesamtfläche</sub>) in Rattenherzen mit Myokardinfarkt nach Gabe von ECCP und EBCP zeigten keinen signifikanten Unterschied gegenüber Rattenherzen, die eine Calafiore oder Buckberg BCP erhalten haben. Die Werte sind als Bereich und Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die p-Werte wurden durch eine einfaktorielle ANOVA (\*) und einen Kruskal-Wallis Test (#) berechnet.....97
- Tabelle 21: Übersicht experimentelle Studien mit Esmolol als Kardioplegielösung....120

## X LITERATURVERZEICHNIS

- Aass T, Stangeland L, Moen CA, Salminen P-R, Dahle GO, Chambers DJ, Markou T, Eliassen F, Urban M, Haaverstad R, et al. 2016. Myocardial function after polarizing versus depolarizing cardiac arrest with blood cardioplegia in a porcine model of cardiopulmonary bypass. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 50(1):130–139.
- Aass T, Stangeland L, Chambers DJ, Hallström S, Rossmann C, Podesser BK, Urban M, Nesheim K, Haaverstad R, Matre K, et al. 2017. Myocardial energy metabolism and ultrastructure with polarizing and depolarizing cardioplegia in a porcine model†. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 52(1):180–188.
- Abah U, Roberts PG, Ishaq M, De Silva R. 2012. Is cold or warm blood cardioplegia superior for myocardial protection? *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, 14(6):848–855.
- Ad N, Holmes SD, Patel J, Pritchard G, Shuman DJ, Halpin L. 2016. Comparison of EuroSCORE II, Original EuroSCORE, and The Society of Thoracic Surgeons Risk Score in Cardiac Surgery Patients. *The Annals of Thoracic Surgery*, 102(2):573–579.
- Agabiti-Rosei E, Muiesan ML. 2002. Left ventricular hypertrophy and heart failure in women. *Journal of hypertension. Supplement : official journal of the International Society of Hypertension*, 20(2):S34-8.
- Allen DG, Cairns SP, Turvey SE, Lee JA. 1993. Intracellular Calcium and Myocardial Function During Ischemia BT - Interactive Phenomena in the Cardiac System. In: Sideman S, Beyar R, Hrsg. 19–29, Boston, MA: Springer US;
- Angelini P, Velasco JA, Flamm S. 2002. Coronary Anomalies, Incidence, Pathophysiology, and Clinical Relevance. *Circulation*, 105(20):2449–2454.
- Arlock P, Wohlfart B, Sjöberg T, Steen S. 2005. The negative inotropic effect of esmolol on isolated cardiac muscle. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, 39(4):250–254.
- Arsenault KA, Yusuf AM, Crystal E, Healey JS, Morillo CA, Nair GM, Whitlock RP. 2013. Interventions for preventing post-operative atrial fibrillation in patients undergoing heart surgery. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (1).

- Ascione R, Caputo M, Gomes WJ, Lotto AA, Bryan AJ, Angelini GD, Suleiman M-S. 2002. Myocardial injury in hypertrophic hearts of patients undergoing aortic valve surgery using cold or warm blood cardioplegia. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 21(3):440–446.
- Atsuko Y, M. BA. 1989. Rapid  $\beta$ -Adrenergic Modulation of Cardiac Calcium Channel Currents by a Fast G Protein Pathway. *Science*, 245(4913):71–74.
- Axelrod PJ, Verrier RL, Lown B. 1975. Vulnerability to ventricular fibrillation during acute coronary arterial occlusion and release. *The American Journal of Cardiology*, 36(6):776–782.
- Bassani JWM, Yuan W, Bers DM. 1995. Fractional SR Ca release is regulated by trigger Ca and SR Ca content in cardiac myocytes. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1995.268.5.C1313>, 268(5 37-5).
- Battle WE, Naimi S, Avitall B, Brilla AH, Banas JS, Bete JM, Levine HJ. 1974. Distinctive time course of ventricular vulnerability to fibrillation during and after release of coronary ligation. *The American Journal of Cardiology*, 34(1):42–47.
- Beckman JA, Creager MA, Libby P. 2002. Diabetes and Atherosclerosis. *JAMA*, 287(19):2570.
- Beckmann A, Meyer R, Lewandowski J, Markewitz A, Gummert J. 2021. German Heart Surgery Report 2020: The Annual Updated Registry of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, 69(04):294–307.
- Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. 2011. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 50(6):940–950.
- Benedek A, Móricz K, Jurányi Z, Gigler G, Lévay G, Hársing LG, Mátyus P, Szénási G, Albert M. 2006. Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats. *Brain Research*, 1116(1):159–165.
- Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, Tracy RE, Wattigney WA. 1998. Association between Multiple Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in Children and Young Adults. *New England Journal of Medicine*, 338(23):1650–1656.

- Bers DM. 2002. Cardiac excitation–contraction coupling. *Nature* 2002 415:6868, 415(6868):198–205.
- Bessho R, Chambers DJ. 2001. Myocardial protection: The efficacy of an ultra-short-acting  $\beta$ -blocker, esmolol, as a cardioplegic agent. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 122(5):993–1003.
- Bessho R, Chambers DJ. 2002. Myocardial protection with oxygenated esmolol cardioplegia during prolonged normothermic ischemia in the rat. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 124(2):340–351.
- Bignami E, Guarnieri M, Franco A, Gerli C, De Luca M, Monaco F, Landoni G, Zangrillo A. 2017. Esmolol before cardioplegia and as cardioplegia adjuvant reduces cardiac troponin release after cardiac surgery. A randomized trial. *Perfusion*, 32(4):313–320.
- Bittl JA, Ingwall JS. 1985. Reaction rates of creatine kinase and ATP synthesis in the isolated rat heart. A  $^{31}\text{P}$  NMR magnetization transfer study. *Journal of Biological Chemistry*, 260(6):3512–3517.
- Bolli R, Marbán E. 1999. Molecular and Cellular Mechanisms of Myocardial Stunning. *Physiological Reviews*, 79(2):609–634.
- Böning A, Hagmueller 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(08):683–689.
- Böning A, Rohrbach S, Kohlhepp L, Heep M, Hagmüller S, Niemann B, Mühlfeld C. 2015. Differences in ischemic damage between young and old hearts — Effects of blood cardioplegia. *Experimental Gerontology*, 67:3–8.
- Böning A, Assling-Simon L, Heep M, Böngler K, Niemann B, Grieshaber P. 2018a. Buckberg's blood cardioplegia for protection of adult and senile myocardium in a rat in vitro model of acute myocardial infarction. *Experimental gerontology*, 104:98–104.
- Böning A, Assling-Simon L, Heep M, Böngler K, Niemann B, Schipke J, Mühlfeld C, Grieshaber P. 2018b. Blood cardioplegia for cardiac surgery in acute myocardial infarction: rat experiments with two widely used solutions. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, 27(1):88–94.

- Braimbridge M V, Chayen J, Bitensky L, Hearse DJ, Jynge P, Canković-Darracott S. 1977. Cold cardioplegia or continuous coronary perfusion?: Report on preliminary clinical experience as assessed cytochemically. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 74(6):900–906.
- Bretschneider HJ, Hübner G, Knoll D, Lohr B, Nordbeck H, Spieckermann PG. 1975. Myocardial resistance and tolerance to ischemia: physiological and biochemical basis. *The Journal of cardiovascular surgery*, 16(3):241–260.
- Bretschneider HJ, Gebhard MM, Preusse CJ. 1984. Cardioplegia BT - Physiology and Pathophysiology of the Heart. In: Sperelakis N, Hrsg. 605–616, Boston, MA: Springer US;
- Brinkman W, Herbert MA, O'Brien S, Filardo G, Prince S, Dewey T, Magee M, Ryan W, Mack M. 2014. Preoperative  $\beta$ -Blocker Use in Coronary Artery Bypass Grafting Surgery. *JAMA Internal Medicine*, 174(8):1320.
- Brown JM, Grosso MA, Terada LS, Beehler CJ, Toth KM, Whitman GJ, Harken AH, Repine JE. 1989. Erythrocytes decrease myocardial hydrogen peroxide levels and reperfusion injury. *The American journal of physiology*, 256(2 Pt 2):H584-8.
- Brown MS, Goldstein JL. 1983. Lipoprotein Metabolism in the macrophage: Implications for Cholesterol Deposition in Atherosclerosis. *Ann. Review Biochem*, 52:223–61.
- Brown PS, Holland FW, Parenteau GL, Clark RE. 1991. Magnesium ion is beneficial in hypothermic crystalloid cardioplegia. *The Annals of Thoracic Surgery*, 51(3):359–367.
- Buckberg GD. 1995. Update on current techniques of myocardial protection. *The Annals of Thoracic Surgery*, 60(3):805–814.
- Buckberg GD, Brazier JR, Nelson RL, Myron Goldstein S, McConnell DH, Cooper N. 1977. Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass: I. The adequately perfused beating, fibrillating, and arrested heart. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 73(1):87–94.
- Buckberg GD, Allen BS, Beyersdorf F. 1993. Blood cardioplegic strategies during adult cardiac operations. *Ischemia-reperfusion in cardiac surgery*. 181–227, Springer;

- Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV),  
Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften  
(AWMF). 2019. Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische KHK.
- Calafiore AM, Teodori G, Mezzetti A, Bosco G, Verna AM, Di Giammarco G, Lapenna  
D. 1995. Intermittent antegrade warm blood cardioplegia. *The Annals of Thoracic  
Surgery*, 59(2):398–402.
- Calafiore AM, Teodori G, Bosco G, Di Giammarco G, Vitolla G, Fino C, Contini M.  
1996. Intermittent Antegrade Warm Blood Cardioplegia in Aortic Valve  
Replacement. *Journal of Cardiac Surgery*, 11(5):348–354.
- Cao C, Manganas C, Horton M, Bannon P, Munkholm-Larsen S, Ang SC, Yan TD.  
2013. Angiographic outcomes of radial artery versus saphenous vein in coronary  
artery bypass graft surgery: A meta-analysis of randomized controlled trials. *The  
Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 146(2):255–261.
- Caputo M, Bryan AJ, Calafiore AM, Suleiman M-S, Angelini GD. 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*, 14(6):596–  
601.
- Carden DL, Granger DN. 2000. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *The  
Journal of Pathology*, 190(3):255–266.
- Chambers DJ. 2003. Mechanisms and alternative methods of achieving cardiac arrest.  
*The Annals of Thoracic Surgery*, 75(2):S661–S666.
- Chambers DJ, Braimbridge MV. 1993. Cardioplegia with an extracellular formulation.  
*Ischemia-reperfusion in cardiac surgery*. 135–179, Springer;
- Chambers DJ, Fallouh HB. 2010. Cardioplegia and cardiac surgery: Pharmacological  
arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion. *Pharmacology  
& Therapeutics*, 127(1):41–52.
- Chambers DJ, Hearse DJ. 2001. Cardioplegia and surgical ischemia. *Heart physiology  
and pathophysiology*. 887–925, Elsevier;
- Chambers J. 2005. Aortic stenosis. *BMJ*, 330(7495):801–802.
- Chang TI, Leong TK, Kazi DS, Lee HS, Hlatky MA, Go AS. 2013. Comparative

- effectiveness of coronary artery bypass grafting and percutaneous coronary intervention for multivessel coronary disease in a community-based population with chronic kidney disease. *American Heart Journal*, 165(5):800-808.e2.
- Chiang T, Messing RO, Chou W-H. 2011. Mouse Model of Middle Cerebral Artery Occlusion. *Journal of Visualized Experiments*, (48):e2761.
- Dahle GO, Salminen P-R, Moen CA, Eliassen F, Jonassen AK, Haaverstad R, Matre K, Grong K. 2015. Esmolol Added in Repeated, Cold, Oxygenated Blood Cardioplegia Improves Myocardial Function After Cardiopulmonary Bypass. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 29(3):684–693.
- Das H, Das G, Das DC, Talukdar K. 2010. A Study of Coronary Dominance in the Population of Assam. *Journal of Anatomical Society of India*, 59(2):187–191.
- Daumerie G, Fleisher LA. 2008. Perioperative beta-blocker and statin therapy. *Current Opinion in Anaesthesiology*, 21(1):60–65.
- Davierwala PM, Leontyev S, Verevkin A, Rastan AJ, Mohr M, Bakhtiary F, Misfeld M, Mohr FW. 2016. Temporal Trends in Predictors of Early and Late Mortality After Emergency Coronary Artery Bypass Grafting for Cardiogenic Shock Complicating Acute Myocardial Infarction. *Circulation*, 134(17):1224–1237.
- Davies MJ, Thomas AC. 1985. Plaque fissuring--the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *British heart journal*, 53(4):363–73.
- Davignon J, Ganz P. 2004. Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. *Circulation*, 109(suppl III):III-27-III-32.
- Day JRS, Taylor KM. 2005. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *International Journal of Surgery*, 3(2):129–140.
- Deng CY, Lin SG, Zhang WC, Kuang SJ, Qian WM, Wu SL, Shan ZX, Yang M, Yu XY. 2006. Esmolol inhibits Na(+) current in rat ventricular myocytes. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 28(10):697.
- Detry J-MR. 1996. The pathophysiology of myocardial ischaemia.
- DiBona DR, Powell WJ, Powell Jr WJ. 1980. Quantitative correlation between cell swelling and necrosis in myocardial ischemia in dogs. *Circulation research*, 47(5):653–665.

- Doering AE, Lederer WJ. 1993. The mechanism by which cytoplasmic protons inhibit the sodium-calcium exchanger in guinea-pig heart cells. *The Journal of Physiology*, 466(1):481–499.
- Ede M, Ye J, Gregorash L, Summers R, Pargaonkar S, LeHouerou D, Lessana A, Salerno TA, Deslauriers R. 1997. Beyond Hyperkalemia:  $\beta$ -Blocker–Induced Cardiac Arrest for Normothermic Cardiac Operations. *The Annals of Thoracic Surgery*, 63(3):721–727.
- Epstein FH, Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. 1989. Beyond Cholesterol. *New England Journal of Medicine*, 320(14):915–924.
- Epstein FH, Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. 1992. The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine*, 326(5):310–318.
- Erhardt PW, Woo CM, Matier WL, Gorczynski RJ, Anderson WG. 1983. Ultra-short-acting  $\beta$ -adrenergic receptor blocking agents. 3. Ethylenediamine derivatives of (aryloxy)propanolamines having esters on the aryl function. *Journal of Medicinal Chemistry*, 26(8):1109–1112.
- Falk E. 2006. Pathogenesis of Atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(8):C7–C12.
- Falk V, Baumgartner H, Bax JJ, De Bonis M, Hamm C, Holm PJ, Jung B, Lancellotti P, Lansac E, Muñoz DR, et al. 2017. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 52(4):616–664.
- Fallouh HB, McLatchie LM, Shattock MJ, Chambers DJ, Kentish JC. 2007. Abstract 1556: Esmolol As A Cardioplegic Agent; An Effect Beyond  $\beta$ -blockade. *Circulation*, 116(suppl\_16):II\_323-II\_324.
- Fallouh HB, Kentish JC, Chambers DJ. 2009. Targeting for cardioplegia: arresting agents and their safety. *Current Opinion in Pharmacology*, 9(2):220–226.
- Fallouh HB, Bardswell SC, McLatchie LM, Shattock MJ, Chambers DJ, Kentish JC. 2010. Esmolol cardioplegia: the cellular mechanism of diastolic arrest. *Cardiovascular Research*, 87(3):552–560.
- Fan Y, Zhang A-M, Xiao Y-B, Weng Y-G, Hetzer R. 2010. Warm versus cold

- cardioplegia for heart surgery: a meta-analysis. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 37(4):912–9.
- Farkouh ME, Domanski M, Sleeper LA, Siami FS, Dangas G, Mack M, Yang M, Cohen DJ, Rosenberg Y, Solomon SD, et al. 2012. Strategies for Multivessel Revascularization in Patients with Diabetes. *New England Journal of Medicine*, 367(25):2375–2384.
- Favaloro RG. 1998. Critical Analysis of Coronary Artery Bypass Graft Surgery: A 30-Year Journey. *Journal of the American College of Cardiology*, 31(4):1B-63B.
- Ferguson TB, Hammill BG, Peterson ED, DeLong ER, Grover FL. 2002. A decade of change—risk profiles and outcomes for isolated coronary artery bypass grafting procedures, 1990–1999: a report from the STS National Database Committee and the Duke Clinical Research Institute. *The Annals of Thoracic Surgery*, 73(2):480–489.
- Ferrera R, Larese A, Berthod F, Guidollet J, Rodriguez C, Dureau G, Dittmar A. 1993. Quantitative Reduction of MTT by Hearts Biopsies In Vitro is an Index of Viability. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 25(9):1091–1099.
- Ferrera R, Benhabbouche S, Bopassa JC, Li B, Ovize M. 2009. One Hour Reperfusion is Enough to Assess Function and Infarct Size With TTC Staining in Langendorff Rat Model. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 23(4):327–331.
- Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Lando U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Corday E, Ganz W. 1981. Early phase acute myocardial infarct size quantification: Validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *American Heart Journal*, 101(5):593–600.
- Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ, Keon WJ, Hooper GD, Burton JR. 1996. Coronary bypass graft fate and patient outcome: Angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years. *Journal of the American College of Cardiology*, 28(3):616–626.
- Flack 3rd JE, Hafer J, Engelman RM, Rousou JA, Deaton DW, Pekow P. 1992. Effect of normothermic blood cardioplegia on postoperative conduction abnormalities and supraventricular arrhythmias. *Circulation*, 86(5 Suppl):II385-92.
- Flack JE, Cook JR, May SJ, Lemeshow S, Engelman RM, Rousou JA, Deaton DW. 2000. Does Cardioplegia Type Affect Outcome and Survival in Patients With

- Advanced Left Ventricular Dysfunction? . *Circulation*, 102(suppl\_3):lii-84-iii-89.
- Follette DM, Mulder DG, Maloney Jr J V, Buckberg GD. 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.
- Freeman I, Grunwald AM, Robin B, Rao PS, Bodenheimer MM. 1990. Effect of early reperfusion on use of triphenyltetrazolium chloride to differentiate viable from non-viable myocardium in area of risk. *Cardiovascular Research*, 24(2):109–114.
- Friedrich M, Benndorf K, Schwalb M, Hirche H. 1990. Effects of anoxia on K and Ca currents in isolated guinea pig cardiocytes. *Pflügers Archiv* 1990 416:1, 416(1):207–209.
- Frishman W, Silverman R. 1979. Clinical pharmacology of the new beta-adrenergic blocking drugs. Part 2. Physiologic and metabolic effects. *American Heart Journal*, 97(6):797–807.
- Frishman WH. 1980. Clinical pharmacology of the new beta-adrenergic blocking drugs. Part 12. Beta-adrenoceptor blockade in myocardial infarction:the continuing controversy. *American Heart Journal*, 99(4):528–536.
- Frishman WH. 2003. Beta-Adrenergic Blockers. *Circulation*, 107(18):e117–e119.
- Fuchs FD, Chambless LE, Whelton PK, Nieto FJ, Heiss G. 2001. Alcohol Consumption and the Incidence of Hypertension. *Hypertension*, 37(5):1242–1250.
- Fujii M, Chambers DJ. 2013. Cardioprotection with esmolol cardioplegia: efficacy as a blood-based solution. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 43(3):619–627.
- Gay WA, Ebert PA. 1973. Functional, metabolic, and morphologic effects of potassium-induced cardioplegia. *Surgery*, 74(2):284–90.
- Geissler HJ, Mehlhorn U. 2006. Cold crystalloid cardioplegia. *Multimedia manual of cardiothoracic surgery : MMCTS*, 2006(109):mmcts.2004.001040.
- Geissler HJ, Davis KL, Laine GA, Ostrin EJ, Mehlhorn U, Hekmat K, Warters RD, Allen SJ. 2000. Myocardial protection with high-dose b-blockade in acute myocardial ischemia. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 17(1):63–70.

- Geissler HJ, Davis KL, Buja LM, Laine GA, Brennan ML, Mehlhorn U, Allen SJ. 2001. Esmolol and cardiopulmonary bypass during reperfusion reduce myocardial infarct size in dogs. *The Annals of Thoracic Surgery*, 72(6):1964–1969.
- Gerrity RG. 1981. The role of the monocyte in atherogenesis: I. Transition of blood-borne monocytes into foam cells in fatty lesions. *The American journal of pathology*, 103(2):181–90.
- Gibbon Jr JH, Allbritten Jr FF, Templeton III JY, Finley Jr RK, Amadeo JH, Lewis DW. 1954. The results of mitral valvotomy for mitral stenosis. *Annals of Surgery*, 139(6):786.
- Glass CK, Witztum JL. 2001. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell*, 104(4):503–16.
- Goldberg A, Southern DA, Galbraith PD, Traboulsi M, Knudtson ML, Ghali WA. 2007. Coronary dominance and prognosis of patients with acute coronary syndrome. *American Heart Journal*, 154(6):1116–1122.
- Goldlust EJ, Paczynski RP, He YY, Hsu CY, Goldberg MP. 1996. Automated measurement of infarct size with scanned images of triphenyltetrazolium chloride-stained rat brains. *Stroke*, 27(9):1657–62.
- Goldstein LJ, Brown SM. 1977. The Low-Density Lipoprotein Pathway and its Relation to Atherosclerosis.
- Görge G, Chatelain P, Schaper J, Lerch R. 1991. Effect of increasing degrees of ischemic injury on myocardial oxidative metabolism early after reperfusion in isolated rat hearts. *Circulation research*, 68(6):1681–1692.
- Gottlieb RA, Engler RL. 1999. Apoptosis in Myocardial Ischemia-Reperfusion. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 874(1):412–426.
- Gottlieb SS, McCarter RJ, Vogel RA. 1998. Effect of Beta-Blockade on Mortality among High-Risk and Low-Risk Patients after Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine*, 339(8):489–497.
- Greve G, Saetersdal T. 1991. Problems related to infarct size measurements in the rat heart. *Cells Tissues Organs*, 142(4):366–373.
- Grieshaber P, Böning A. 2017. Myokardprotektion. *Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie*, 31(5):315–327.

- Gundersen HJG, BENDTSEN TF, KORBO L, MARCUSSEN N, Møller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sørensen FB, Vesterby A. 1988. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Apmis*, 96(1-6):379–394.
- Guru V, Omura J, Alghamdi AA, Weisel R, Fremes SE. 2006. Is blood superior to crystalloid cardioplegia? A meta-analysis of randomized clinical trials. *Circulation*, 114(1 Suppl):I331-8.
- Guth BD, Schulz R, Heusch G. 1993. Time course and mechanisms of contractile dysfunction during acute myocardial ischemia. *Circulation*, 87(5 Suppl):IV35-42.
- Halestrap AP, Wang X, Poole RC, Jackson VN, Price NT. 1997. Lactate Transport in Heart in Relation to Myocardial Ischemia. *The American Journal of Cardiology*, 80(3, Supplement 1):17A-25A.
- Han SH, Bae JH, Holmes DR, Lennon RJ, Eeckhout E, Barsness GW, Rihal CS, Lerman A. 2008. Sex differences in atheroma burden and endothelial function in patients with early coronary atherosclerosis. *European Heart Journal*, 29(11):1359–1369.
- Hansson GK. 2005. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine*, 352(16):1685–1695.
- Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. 2003. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 91(3):7–11.
- Hausenloy DJ, Boston-Griffiths E, Yellon DM. 2012. Cardioprotection during cardiac surgery. *Cardiovascular Research*, 94(2):253–265.
- Head SJ, Kieser TM, Falk V, Huysmans HA, Kappetein AP. 2013. Coronary artery bypass grafting: Part 1—the evolution over the first 50 years. *European Heart Journal*, 34(37):2862–2872.
- Head SJ, Davierwala PM, Serruys PW, Redwood SR, Colombo A, Mack MJ, Morice M-C, Holmes Jr DR, Feldman TE, Ståhle E, et al. 2014. Coronary artery bypass grafting vs. percutaneous coronary intervention for patients with three-vessel disease: final five-year follow-up of the SYNTAX trial. *European Heart Journal*, 35(40):2821–2830.
- Head SJ, Parasca CA, Mack MJ, Mohr FW, Morice M-C, Holmes Jr DR, Feldman TE,

- Dawkins KD, Colombo A, Serruys PW, et al. 2015. Differences in baseline characteristics, practice patterns and clinical outcomes in contemporary coronary artery bypass grafting in the United States and Europe: insights from the SYNTAX randomized trial and registry†. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 47(4):685–695.
- Head SJ, Milojevic M, Taggart DP, Puskas JD. 2017. Current Practice of State-of-the-Art Surgical Coronary Revascularization. *Circulation*, 136(14):1331–1345.
- Hearse DJ. 1990. Ischemia, reperfusion, and the determinants of tissue injury. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 4(S4):767–776.
- Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge M V. 1976. Cellular protection during myocardial ischemia: the development and characterization of a procedure for the induction of reversible ischemic arrest. *Circulation*, 54(2):193–202.
- Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge M V. 1978. Myocardial protection during ischemic cardiac arrest: The importance of magnesium in cardioplegic infusates. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 75(6):877–885.
- Hearse DJ, 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.
- Heusch G, Skyschally A, Schulz R. 2011. The in-situ pig heart with regional ischemia/reperfusion — Ready for translation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 50(6):951–963.
- Hjalmarson Å, Herlitz J, Málek I, Rydén L, Vedin A, Waldenström A, Wedel H, Elmfeldt D, Holmberg S, Nyberg G, et al. 1981. EFFECT ON MORTALITY OF METOPROLOL IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION. *The Lancet*, 318(8251):823–827.
- Horneffer PJ, Healy B, Gott VL, Gardner TJ. 1987. The rapid evolution of a myocardial infarction in an end-artery coronary preparation. *Circulation*, 76(5 Pt 2):V39-42.
- Hoth M, Wischmeyer E. 2012a. Aktionspotenziale (AP). In: Behrends J, Bischofberger J, Deutzmann R, et al., Hrsg. *Duale Reihe Physiologie*. 2. Auflage 2. Auflage. 77–81, Thieme;
- Hoth M, Wischmeyer E. 2012b. Elektromechanische Koppelung. In: Behrends J,

- Bischofberger J, Deutzmann R, et al., Hrsg. Duale Reihe Physiologie. 2. Auflage 2. Auflage. 81–83, Thieme;
- Hoth M, Wischmeyer E. 2012c. Einfluss des vegetativen Nervensystems auf die Herztätigkeit. In: Behrends J, Bischofberger J, Deutzmann R, et al., Hrsg. Duale Reihe Physiologie. 2. Auflage 2. Auflage. Thieme;
- Howard G, Wagenknecht LE, Burke GL, Diez-Roux A, Evans GW, McGovern P, Nieto FJ, Tell GS, Investigators for the A. 1998. Cigarette Smoking and Progression of Atherosclerosis. *JAMA*, 279(2):119.
- Hsu L, Natanzon A, Kellman P, Hirsch GA, Aletras AH, Arai AE. 2006. Quantitative myocardial infarction on delayed enhancement MRI. Part I: Animal validation of an automated feature analysis and combined thresholding infarct sizing algorithm. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 23(3):298–308.
- Hueb W, Lopes NH, Gersh BJ, Soares P, Machado LAC, Jatene FB, Oliveira SA, Ramires JAF. 2007. Five-year follow-up of the Medicine, Angioplasty, or Surgery Study (MASS II): a randomized controlled clinical trial of 3 therapeutic strategies for multivessel coronary artery disease. *Circulation*, 115(9):1082–9.
- Hueb W, Lopes N, Gersh BJ, Soares PR, Ribeiro EE, Pereira AC, Favarato D, Rocha ASC, Hueb AC, Ramires JAF. 2010. Ten-Year Follow-Up Survival of the Medicine, Angioplasty, or Surgery Study (MASS II). *Circulation*, 122(10):949–957.
- Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, Caforio ALP, Crea F, Goudevenos JA, Halvorsen S, et al. 2018. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *European Heart Journal*, 39(2):119–177.
- Ilija R, Rosenshtein G, Marc Weinstein J, Cafri C, Abu-Ful A, Gueron M. 2001. Left anterior descending artery length in left and right coronary artery dominance. *Coronary Artery Disease*, 12(1).
- Ingwall JS. 2002. *ATP and the Heart*. Springer Science & Business Media.
- Ingwall JS. 2009. Energy metabolism in heart failure and remodelling. *Cardiovascular Research*, 81(3):412–419.
- Inui M, Saito A, Fleischer S. 1987. Isolation of the ryanodine receptor from cardiac

- sarcoplasmic reticulum and identity with the feet structures. *Journal of Biological Chemistry*, 262(32):15637–15642.
- Irisawa H, Sato R. 1986. Intra- and extracellular actions of proton on the calcium current of isolated guinea pig ventricular cells. *Circulation Research*, 59(3):348–355.
- Jennings R, Reimer K. 1983. Factors involved in salvaging ischemic myocardium: effect of reperfusion of arterial blood. *Circulation*, 68.
- Jennings RB, Reimer KA. 1991. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annual review of medicine*, 42:225–246.
- Jennings RB, Reimer KA, Steenbergen C. 1991. Effect of inhibition of the mitochondrial ATPase on net myocardial ATP in total ischemia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 23(12):1383–1395.
- Jha AK, Fisher ES, Li Z, Orav EJ, Epstein AM. 2005. Racial Trends in the Use of Major Procedures among the Elderly. *New England Journal of Medicine*, 353(7):683–691.
- Julian DG, Valentine PA, Miller GG. 1964. Disturbances of rate, rhythm and conduction in acute myocardial infarction: A prospective study of 100 consecutive unselected patients with the aid of electrocardiographic monitoring. *The American Journal of Medicine*, 37(6):915–927.
- Jynge P, Hearse DJ, Feuvray D, Mahalu W, Canković-Darracott S, O'Brien K, Braimbridge M V. 1981. The St. Thomas' hospital cardioplegic solution: a characterization in two species. *Scandinavian journal of thoracic and cardiovascular surgery. Supplementum*, 30:1–28.
- Kappetein AP, Feldman TE, Mack MJ, Morice M-C, Holmes DR, Ståhle E, Dawkins KD, Mohr FW, Serruys PW, Colombo A. 2011. Comparison of coronary bypass surgery with drug-eluting stenting for the treatment of left main and/or three-vessel disease: 3-year follow-up of the SYNTAX trial. *European Heart Journal*, 32(17):2125–2134.
- Kappetein AP, Head SJ, Morice M-C, Banning AP, Serruys PW, Mohr F-W, Dawkins KD, Mack MJ, Investigators on behalf of the S. 2013. Treatment of complex coronary artery disease in patients with diabetes: 5-year results comparing outcomes of bypass surgery and percutaneous coronary intervention in the

- SYNTAX trial†. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 43(5):1006–1013.
- Kato Y, Matsuyama T, Fujishiro M, Hashimoto M, Sone H, Onizuka-Yamochi T. 2022. Local Variation and Age-Related Change in Atrial and Ventricular Myocardial Contiguity at the Atrioventricular Junction in Human Hearts. *Circulation Reports*, 4(4):158.
- Katz AM, Tada M. 1972. The "stone heart": a challenge to the biochemist. *The American journal of cardiology*, 29(4):578–580.
- Khandoudi N, Percevault-Albadine J, Bril A. 1998. Comparative effects of carvedilol and metoprolol on cardiac ischemia-reperfusion injury. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 32(3):443–451.
- Kiechl S, Willeit J, Rungger G, Egger G, Oberhollenzer F, Bonora E. 1998. Alcohol Consumption and Atherosclerosis: What Is the Relation? *Stroke*, 29(5):900–907.
- Kieser TM, Lewin AM, Graham MM, Martin B-J, Galbraith PD, Rabi DM, Norris CM, Faris PD, Knudtson ML, Ghali WA. 2011. Outcomes Associated With Bilateral Internal Thoracic Artery Grafting: The Importance of Age. *The Annals of Thoracic Surgery*, 92(4):1269–1276.
- Kim K-B, Hwang HY, Hahn S, Kim JS, Oh SJ. 2014. A randomized comparison of the Saphenous Vein Versus Right Internal Thoracic Artery as a Y-Composite Graft (SAVE RITA) trial: One-year angiographic results and mid-term clinical outcomes. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 148(3):901–7; discussion 907-8.
- Kinlay S, Behrendt D, Wainstein M, Beltrame J, Fang JC, Creager MA, Selwyn AP, Ganz P. 2001. Role of Endothelin-1 in the Active Constriction of Human Atherosclerotic Coronary Arteries. *Circulation*, 104(10):1114–1118.
- Kirmani BH, Mazhar K, Fabri BM, Pullan DM. 2013. Comparison of the EuroSCORE II and Society of Thoracic Surgeons 2008 risk tools†. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 44(6):999–1005.
- Kleber AG. 1983. Resting membrane potential, extracellular potassium activity, and intracellular sodium activity during acute global ischemia in isolated perfused guinea pig hearts. *Circulation Research*, 52(4):442–450.
- Klein HH, Puschmann S, Schaper J, Schaper W. 1981. The mechanism of the

- tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histology*, 393(3):287–297.
- Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, et al. 2020. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes: The Task Force for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 41(3):407–477.
- Kotani Y, Tweddell J, Gruber P, Pizarro C, Austin EH, Woods RK, Gruenwald C, Caldarone CA. 2013. Current Cardioplegia Practice in Pediatric Cardiac Surgery: A North American Multiinstitutional Survey. *The Annals of Thoracic Surgery*, 96(3):923–929.
- Krebs HA, Henseleit K. 1932. Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Klinische Wochenschrift*, 11(18):757–759.
- Kron IL. 1999. Protection in the failing heart. *The Annals of Thoracic Surgery*, 68(5):1971–1973.
- Kuhn-Régnier F, Natour E, Dhein S, Dapunt O, Geissler HJ, LaRosé K, Görg C, Mehlhorn U. 1999. Beta-blockade versus Buckberg blood-cardioplegia in coronary bypass operation. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 15(1):67–74.
- Kuhn-Régnier F, Geissler HJ, Marohl S, Mehlhorn U, de Vivie ER. 2002. Beta-Blockade in 200 Coronary Bypass Grafting Procedures. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, 50(3):164–167.
- Landmesser U, Harrison DG. 2001. Oxidant Stress as a Marker for Cardiovascular Events. *Circulation*, 104(22):2638–2640.
- Landymore R. 1989. Effect of hypothermia and cardioplegia on intramyocardial voltage and myocardial oxygen consumption. *CanJ Surg*, 32:452–455.
- Langendorff O. 1897. Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen. *Pflüger, Archiv für die Gesamte Physiologie des Menschen und der Thiere*, 66(7–8):355–400.
- Lapenna D, Mezzetti A, De Gioia S, Pierdomenico SD, Verna AM, Daniele F, Marzio L, Di Ilio C, Calafiore AM, Cuccurullo F. 1994. Blood cardioplegia reduces oxidant burden in the ischemic and reperfused human myocardium. *The Annals of*

- Thoracic Surgery, 57(6):1522–1525.
- Laurila A, Bloigu A, Näyhä S, Hassi J, Leinonen M, Saikku P. 1997. Chronic Chlamydia pneumoniae Infection Is Associated With a Serum Lipid Profile Known to Be a Risk Factor for Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 17(11):2910–2913.
- Lerman A, Holmes DR, Bell MR, Garratt KN, Nishimura RA, Burnett JC. 1995. Endothelin in Coronary Endothelial Dysfunction and Early Atherosclerosis in Humans. *Circulation*, 92(9):2426–2431.
- Lewis FJ, Taufic M. 1953. Closure of atrial septal defects with the aid of hypothermia; experimental accomplishments and the report of one successful case. *Surgery*, 33(1):52–59.
- Li L, Desantiago J, Chu G, Kranias EG, Bers DM. 2000. Phosphorylation of phospholamban and troponin I in  $\beta$ -adrenergic-induced acceleration of cardiac relaxation. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 278(3 47-3):769–779.
- Libby P. 2012. Inflammation in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 32(9):2045–51.
- Lie KI, Wellens HJ, Downar E, Durrer D. 1975. Observations on patients with primary ventricular fibrillation complicating acute myocardial infarction. *Circulation*, 52(5):755–9.
- Liebold A, Fraund S, Böhle AS, Cremer J. 2012. Grundlagen der Herzchirurgie. In: Henne-Bruns D, Hrsg. *Duale Reihe Chirurgie*. 4. Auflage 4. Auflage. Thieme;
- Lowe JE, Reimer KA, Jennings RB. 1978. Experimental infarct size as a function of the amount of myocardium at risk. *The American journal of pathology*, 90(2):363–79.
- Luciani GB, Faggian G, Montalbano G, Casali G, Forni A, Chiominto B, Mazzucco A. 1999. Blood versus crystalloid cardioplegia for myocardial protection of donor hearts during transplantation: A prospective, randomized clinical trial. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 118(5):787–795.
- Lynch J, Krause N, Kaplan GA, Salonen R, Salonen JT. 1997. Workplace Demands, Economic Reward, and Progression of Carotid Atherosclerosis. *Circulation*, 96(1):302–307.

- Lyttleton JW. 1954. The antithrombin activity of heparin. *The Biochemical journal*, 58(1):15–23.
- Malek AM, Alper SL, Izumo S. 1999. Hemodynamic Shear Stress and Its Role in Atherosclerosis. *JAMA*, 282(21):2035–2042.
- Maruyama Y, Chambers DJ, Ochi M. 2013. Future Perspective of Cardioplegic Protection in Cardiac Surgery. *Journal of Nippon Medical School*, 80(5):328–341.
- Mauney MC, Kron IL. 1995. The physiologic basis of warm cardioplegia. *The Annals of Thoracic Surgery*, 60(3):819–823.
- Mayer-Davis EJ, Ralph D'Agostino J, Karter AJ, Haffner SM, Rewers MJ, Saad M, Bergman RN, Investigators for the I. 1998. Intensity and Amount of Physical Activity in Relation to Insulin Sensitivity. *JAMA*, 279(9):669.
- Mayhew TM, Olsen DR. 1991. Magnetic resonance imaging (MRI) and model-free estimates of brain volume determined using the Cavalieri principle. *Journal of anatomy*, 178:133.
- Maza SR, Frishman WH. 1987. Therapeutic options to minimize free radical damage and thrombogenicity in ischemic/reperfused myocardium. *American Heart Journal*, 114(5):1206–1215.
- Mehlhorn U. 1997. Improved Myocardial Protection Using Continuous Coronary Perfusion with Normothermic Blood and Beta-Blockade with Esmolol. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, 45(05):224–231.
- Mehlhorn U, Sauer H, Kuhn-Régnier F, Südkamp M, Dhein S, Eberhard F, Grond S, Horst M, Hekmat K, Geissler HJ, et al. 1999. Myocardial  $\beta$ -Blockade as an Alternative to Cardioplegic Arrest during Coronary Artery Surgery: *Cardiovascular Surgery*, 7(5):549–557.
- Melendez JA, Stone JG, Delphin E, Quon CY. 1990. Influence of temperature on in vitro metabolism of esmolol. *Journal of Cardiothoracic Anesthesia*, 4(6):704–706.
- Melrose DG, Dreyer B, Bentall HH, Baker JBE. 1955. Elective cardiac arrest. *The Lancet*, 266(6879):21–23.
- Menasché P, Pradier F, Grousset C, Peynet J, Mouas C, Bloch G, Piwnica A. 1993. Improved recovery of heart transplants with a specific kit of preservation solutions. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 105(2):353–363.

- Mohammadi S, Dagenais F, Doyle D, Mathieu P, Baillot R, Charbonneau E, Perron J, Voisine P. 2008. Age cut-off for the loss of benefit from bilateral internal thoracic artery grafting. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 33(6):977–982.
- Mohr FW, Morice M-C, Kappetein AP, Feldman TE, Stähle E, Colombo A, Mack MJ, Holmes DR, Morel M, Dyck N Van, et al. 2013. Coronary artery bypass graft surgery versus percutaneous coronary intervention in patients with three-vessel disease and left main coronary disease: 5-year follow-up of the randomised, clinical SYNTAX trial. *The Lancet*, 381(9867):629–638.
- Moore KJ, Tabas I. 2011. Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Cell*, 145(3):341–355.
- Moreno PR, Falk E, Palacios IF, Newell JB, Fuster V, Fallon JT. 1994. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes. Implications for plaque rupture. *Circulation*, 90(2):775–8.
- Mühlfeld C, Urru M, Rümelin R, Mirzaie M, Schöndube F, Richter J, Dörge H. 2006. Myocardial ischemia tolerance in the newborn rat involving opioid receptors and mitochondrial K<sup>+</sup> channels. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 288(3):297–303.
- Mühlfeld C, Nyengaard JR, Mayhew TM. 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.
- Mullins LJ. 1977. A mechanism for Na/Ca transport. *Journal of General Physiology*, 70(6):681–695.
- Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. 1990. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circulation research*, 66(4):913–931.
- Naito M, Suzuki H, Mori T, Matsumoto A, Kodama T, Takahashi K. 1992. Coexpression of type I and type II human macrophage scavenger receptors in macrophages of various organs and foam cells in atherosclerotic lesions. *The American journal of pathology*, 141(3):591–9.
- Napoli C, D'Armiento FP, Mancini FP, Postiglione A, Witztum JL, Palumbo G, Palinski

- W. 1997. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *The Journal of clinical investigation*, 100(11):2680–90.
- Nashef SAM, Roques F, Sharples LD, Nilsson J, Smith C, Goldstone AR, Lockowandt U. 2012. EuroSCORE II†. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 41(4):734–745.
- National Research Council (U.S.). 2011. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academies Press (US).
- Nayler WG, Sc D, Elz JS, Hons BS. 1986. Reperfusion injury: laboratory artifact or clinical dilemma? *Journal of the American Heart Association*, 74(2):215–221.
- Nemerson Y. 2002. A Simple Experiment and a Weakening Paradigm. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 22(9):1369–1369.
- Nesto RW, Kowalchuk GJ. 1987. The ischemic cascade: temporal sequence of hemodynamic, electrocardiographic and symptomatic expressions of ischemia. *The American journal of cardiology*, 59(7):C23–C30.
- Neumann F-J, Sousa-Uva M, Ahlsson A, Alfonso F, Banning AP, Benedetto U, Byrne RA, Collet J-P, Falk V, Head SJ, et al. 2018. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *European Heart Journal*, 00:1–96.
- Nicholson AC, Hajjar DP. 1998. Herpesviruses in Atherosclerosis and Thrombosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 18(3):339–348.
- Niedergerke R, Orkand RK. 1966. The dependence of the action potential of the frog's heart on the external and intracellular sodium concentration. *The Journal of Physiology*, 184(2):312–334.
- Nishina D, Chambers DJ. 2017. Efficacy of esmolol cardioplegia during hypothermic ischaemia. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 53(2):392–399.
- Noma A. 1983. ATP-regulated K<sup>+</sup> channels in cardiac muscle. *Nature* 1983 305:5930, 305(5930):147–148.
- Opie LH. 1989. Reperfusion injury and its pharmacologic modification. *Circulation*, 80(4):1049–62.

- Opie LH. 2004. Heart physiology: from cell to circulation. Lippincott Williams & Wilkins.
- Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S. 2014. Physiologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Pirk J, Kolář F, Ošťádal B, Šedivý J, Stambergová A, Kellovský P. 1999. The effect of the ultrashort beta-blocker esmolol on cardiac function recovery: an experimental study. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 15(2):199–203.
- Pitts KR, Stiko A, Buetow B, Lott F, Guo P, Virca D, Toombs CF. 2007. Washout of heme-containing proteins dramatically improves tetrazolium-based infarct staining. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 55(2):201–208.
- Podesser B, Zegner M, Weisser J, Koci G, Kunold A, Hallstrom S, Mallinger R, Schima H, Wollenek G. 1996. Vergleich dreier gängiger Kardioplegielösungen— Untersuchungen am isolierten Herzen zur Myokardprotektion während Ischämie und Reperfusion. *Acta Chirurgica Austriaca*, 28(6):346–351.
- Podesser BK, Schirnhofner J, Bernecker OY, Kröner A, Franz M, Semsroth S, Fellner B, Neumüller J, Hallström S, Wolner E. 2002. Optimizing ischemia/reperfusion in the failing rat heart - Improved myocardial protection with acute ACE inhibition. *Circulation*, 106(13 SUPPL.):I277-83.
- Preusse CJ. 1993. Cardioplegia with an intracellular formulation. Ischemia-reperfusion in cardiac surgery. 107–134, Springer;
- Puymirat E, Riant E, Aissaoui N, Soria A, Ducrocq G, Coste P, Cottin Y, Aupetit JF, Bonnefoy E, Blanchard D, et al. 2016.  $\beta$  blockers and mortality after myocardial infarction in patients without heart failure: multicentre prospective cohort study. *BMJ (Clinical research ed.)*, 354:i4801.
- Ramanathan K, Abel JG, Park JE, Fung A, Mathew V, Taylor CM, Mancini GBJ, Gao M, Ding L, Verma S, et al. 2017. Surgical Versus Percutaneous Coronary Revascularization in Patients With Diabetes and Acute Coronary Syndromes. *Journal of the American College of Cardiology*, 70(24):2995–3006.
- Redel A, Jazbutyte V, Smul TM, Lange M, Eckle T, Eltzhig H, Roewer N, Kehl F. 2008. Impact of Ischemia and Reperfusion Times on Myocardial Infarct Size in Mice *In Vivo*. *Experimental Biology and Medicine*, 233(1):84–93.
- Reimer KA. 1984. Can we really quantitate myocardial cell injury? Therapeutic approaches to myocardial infarct size limitation, 163–184.

- Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. 1977. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation*, 56(5):786–94.
- Robinson LA, Schwarz GD, Goddard DB, Fleming WH, Galbraith TA. 1995. Myocardial protection for acquired heart disease surgery: Results of a national survey. *The Annals of Thoracic Surgery*, 59(2):361–372.
- Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, et al. 2016. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *European Heart Journal*, 37(3):267–315.
- Roques F, Nashef SAM, Michel P, Gauducheau E, de Vincentiis C, Baudet E, Cortina J, David M, Faichney A, Gavrielle F, et al. 1999. Risk factors and outcome in European cardiac surgery: analysis of the EuroSCORE multinational database of 19030 patients. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 15(6):816–823.
- Rosenkranz ER, Buckberg GD. 1983. Myocardial protection during surgical coronary reperfusion. *Journal of the American College of Cardiology*, 1(5):1235–1246.
- Ross R. 1999. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *New England Journal of Medicine*, 340(2):115–126.
- Ross R, Glomset JA. 1973. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*, 180(4093):1332–9.
- Ross R, Harker L. 1976. Hyperlipidemia and atherosclerosis. *Science*, 193(4258):1094–1100.
- Ross R, Glomset J, Harker L. 1977. Response to injury and atherogenesis. *The American journal of pathology*, 86(3):675–684.
- Sá M, Rueda F, Ferraz P, Chalegre S, Vasconcelos F, Lima R. 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.
- Saltin B, Calbet JAL. 2006. Point: In health and in a normoxic environment,  $\dot{V}O_2$  max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow. *Journal of*

- Applied Physiology, 100(2):744–748.
- Schaper W. 1984. Experimental infarcts and the microcirculation In Therapeutic Approaches to Myocardial Infarct Size Limitation, ed by HEARSE DJ and YELLON DM.
- Schipke J, Roloff K, Kuhn M, Mühlfeld C. 2015. Systemic, but not cardiomyocyte-specific, deletion of the natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase A increases cardiomyocyte number in neonatal mice. *Histochemistry and cell biology*, 144(4):365–375.
- Schlensak C, Doenst T, Kobba J, Beyersdorf F. 1999. Protection of acutely ischemic myocardium by controlled reperfusion. *The Annals of Thoracic Surgery*, 68(5):1967–1970.
- Schlüter KD, Schwartz P, Siegmund B, Piper HM. 1991. Prevention of the oxygen paradox in hypoxic-reoxygenated hearts. *The American journal of physiology*, 261(2 Pt 2):H416-23.
- Schmiedl A, Schnabel PA, Mall G, Gebhard MM, Hunneman DH, Richter J, Bretschneider HJ. 1990. The surface to volume ratio of mitochondria, a suitable parameter for evaluating mitochondrial swelling. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histopathology*, 416(4):305–315.
- Schumer EM, Chaney JH, Trivedi JR, Linsky PL, Williams ML, Slaughter MS. 2016. Emergency Coronary Artery Bypass Grafting: Indications and Outcomes from 2003 through 2013. *Texas Heart Institute journal*, 43(3):214–9.
- Schwarz ER, Somoano Y, Hale SL, Kloner RA. 2000. What is the Required Reperfusion Period for Assessment of Myocardial Infarct Size Using Triphenyltetrazolium Chloride Staining in the Rat? *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 10(2):181–187.
- Scorsin M, Mebazaa A, Al Attar N, Medini B, Callebert J, Raffoul R, Ramadan R, Maillet JM, Ruffenach A, Simoneau F, et al. 2003. Efficacy of esmolol as a myocardial protective agent during continuous retrograde blood cardioplegia. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 125(5):1022–1029.
- Seidler E. 1991. The Tetrazolium-Fomazan System: Design and Histochemistry. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, 24(1):III–79.

- Serruys PW, Morice M-C, Kappetein AP, Colombo A, Holmes DR, Mack MJ, Stähle E, Feldman TE, van den Brand M, Bass EJ, et al. 2009. Percutaneous Coronary Intervention versus Coronary-Artery Bypass Grafting for Severe Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine*, 360(10):961–972.
- Seshadri N, Whitlow PL, Acharya N, Houghtaling P, Blackstone EH, Ellis SG. 2002. Emergency Coronary Artery Bypass Surgery in the Contemporary Percutaneous Coronary Intervention Era. *Circulation*, 106(18):2346–2350.
- Shahian DM, O'Brien SM, Filardo G, Ferraris VA, Haan CK, Rich JB, Normand S-LT, DeLong ER, Shewan CM, Dokholyan RS, et al. 2009. The Society of Thoracic Surgeons 2008 Cardiac Surgery Risk Models: Part 1—Coronary Artery Bypass Grafting Surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*, 88(1, Supplement):S2–S22.
- Shand DG. 1974. Pharmacokinetic properties of the  $\beta$ -adrenergic receptor blocking drugs. *Drugs*, 7(1):39–47.
- Shaw RM, Rudy Y. 1997. Electrophysiologic effects of acute myocardial ischemia: a theoretical study of altered cell excitability and action potential duration. *Cardiovascular Research*, 35(2):256–272.
- Sianos G, Morel M-A, Kappetein AP, Morice M-C, Colombo A, Dawkins K, van den Brand M, Van Dyck N, Russell ME, Mohr FW. 2005. The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. *EuroIntervention*, 1(2):219–227.
- Siewert JR, Stein HJ. 2012. *Viszeralchirurgie. Chirurgie*. 547–863, Springer;
- Simionescu N, Vasile E, Lupu F, Popescu G, Simionescu M. 1986. Prelesional events in atherogenesis. Accumulation of extracellular cholesterol-rich liposomes in the arterial intima and cardiac valves of the hyperlipidemic rabbit. *The American journal of pathology*, 123(1):109–25.
- Sitsapesan R, Williams AJ. 1994. Regulation of the gating of the sheep cardiac sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -release channel by luminal  $Ca^{2+}$ . *The Journal of Membrane Biology* 1994 137:3, 137(3):215–226.
- Snyder EL, Mosher DF, Hezzey A, Golenwsky G. 1981. Effect of blood transfusion on in vivo levels of plasma fibronectin. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 98(3):336–41.

- Sowers JR. 2002. Hypertension, Angiotensin II, and Oxidative Stress. *New England Journal of Medicine*, 346(25):1999–2001.
- Statistisches Bundesamt (Destatis). 2021. Todesursachen in Deutschland 2020. Wiesbaden.
- Steding K, Engblom H, Buhre T, Carlsson M, Mosén H, Wohlfart B, Arheden H. 2010. Relation between cardiac dimensions and peak oxygen uptake. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, 12(1):8.
- Stewart A Weber M, Helmi L Lutsep M. 2022. Reperfusion Injury in Stroke. *Medscape, Drugs & Diseases, Neurology*.
- Su J. 2014. Cardioprotective Effects of the If Current Inhibition by Ivabradine During Cardiac Dysfunction. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 14(14):1213–1219.
- Sutherland FJ, Hearse DJ. 2000. The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacological research*, 41(6):613–27.
- Tabas I. 2010. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nature Reviews Immunology*, 10:36–46.
- Taegtmeyer H. 1994. Energy metabolism of the heart: From basic concepts to clinical applications applications. *Current problems in cardiology*, 19(2):61–113.
- Taegtmeyer H, Wilson CR, Razeghi P, Sharma S. 2005. Metabolic Energetics and Genetics in the Heart. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1047(1):208–218.
- The TIME Investigators. 2001. Trial of invasive versus medical therapy in elderly patients with chronic symptomatic coronary-artery disease (TIME): a randomised trial. *The Lancet*, 358(9286):951–957.
- Tranbaugh RF, Dimitrova KR, Friedmann P, Geller CM, Harris LJ, Stelzer P, Cohen B, Hoffman DM. 2010. Radial Artery Conduits Improve Long-Term Survival After Coronary Artery Bypass Grafting. *The Annals of Thoracic Surgery*, 90(4):1165–1172.
- Tuncer C, Batyraliev T, Yilmaz R, Gokce M, Eryonucu B, Koroglu S. 2006. Origin and Distribution Anomalies of the Left Anterior Descending Artery in 70,850 Adult Patients: Multicenter Data Collection. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 68(4):574–585.

- Tyers GFO, Todd GJ, Niebauer IM, Manley NJ, Waldhausen JA. 1975. The mechanism of myocardial damage following potassium citrate (Melrose) cardioplegia. *Surgery*, 78(1):45–53.
- Vaage J, Valen G. 1993. Pathophysiology and Mediators of Ischemia-Reperfusion Injury with Special Reference to Cardiac Surgery: A Review. *Scandinavian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 27(sup41):1–18.
- Valdivia HH, Kaplan JH, Ellis-Davies GCR, Lederer WJ. 1995. Rapid Adaptation of Cardiac Ryanodine Receptors: Modulation by Mg<sup>2+</sup> and Phosphorylation. *Science*, 267(5206):1997–2000.
- Veitinger AB, 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*, 00:1–10.
- Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. 2006. Pathology of the Vulnerable Plaque. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(8):C13–C18.
- Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ. 1985. Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *The American journal of pathology*, 121(3):522–530.
- Waters D, Higginson L, Gladstone P, Boccuzzi SJ, Cook T, Lespérance J. 1995. Effects of Cholesterol Lowering on the Progression of Coronary Atherosclerosis in Women. *Circulation*, 92(9):2404–2410.
- Weibel E. 1979. Stereological methods. Practical methods for biological morphometry. Academic Press, 1:9–62.
- Weiß KU. 2001. Bedeutung des myokardialen Laktatmetabolismus bei kardiochirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation unter Berücksichtigung hämodynamischer Effekte. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Wiesbauer F, Schlager O, Domanovits H, Wildner B, Maurer G, Muellner M, Blessberger H, Schillinger M. 2007. Perioperative beta-Blockers for Preventing Surgery-Related Mortality and Morbidity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Anesthesia & Analgesia*, 104(1):27–41.

- Wiest DB, Haney JS. 2012. Clinical Pharmacokinetics and Therapeutic Efficacy of Esmolol. *Clinical Pharmacokinetics*, 51(6):347–356.
- Williams KJ, Tabas I. 1995. The Response-to-Retention Hypothesis of Early Atherogenesis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 15(5):551–561.
- Winterbourn CC, Stern A. 1987. Human red cells scavenge extracellular hydrogen peroxide and inhibit formation of hypochlorous acid and hydroxyl radical. *The Journal of clinical investigation*, 80(5):1486–91.
- World Health Organization (WHO). 2017. Cardiovascular diseases (CVDs).
- World Health Organization (WHO). 2018. The top 10 causes of death.
- World Health Organization (WHO). 2020. Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019. Geneva: World Health Organization.
- Yamada Y, Doi T, Hamakubo T, Kodama T. 1998. Scavenger receptor family proteins: Roles for atherosclerosis, host defence and disorders of the central nervous system. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 54(7):628–640.
- Yamanaka O, Hobbs RE. 1990. Catheterization Curriculum Coronary Artery Anomalies in 126,595 Patients Undergoing Coronary Arteriography.
- Yatani A, Brown AM, Akaike N. 1984. Effect of extracellular pH on sodium current in isolated, single rat ventricular cells. *The Journal of Membrane Biology* 1984 78:2, 78(2):163–168.
- Yellon DM, Hausenloy DJ. 2007. Myocardial Reperfusion Injury. *New England Journal of Medicine*, 357(11):1121–1135.
- Yoshikawa T, Port JD, Asano K, Chidiak P, Bouvier M, Dutcher D, Roden RL, Minobe W, Tremmel KD, Bristow MR. 1996. Cardiac adrenergic receptor effects of carvedilol. *European Heart Journal*, 17(suppl\_B):8–16.
- Yusuf S, Zucker D, Passamani E, Peduzzi P, Takaro T, Fisher L., Kennedy J., Davis K, Killip T, Norris R, et al. 1994. Effect of coronary artery bypass graft surgery on survival: overview of 10-year results from randomised trials by the Coronary Artery Bypass Graft Surgery Trialists Collaboration. *The Lancet*, 344(8922):563–570.
- Zaroslinski J, Borgman RJ, O'Donnell JP, Anderson WG, Erhardt PW, Kam S-T,

- Reynolds RD, Lee RJ, Gorczynski RJ. 1982. Ultra-short acting beta-blockers: A proposal for the treatment of the critically ill patient. *Life Sciences*, 31(9):899–907.
- Zhang J, Duncker DJ, Ya X, Zhang Y, Pavek T, Wei H, Merkle H, Ugurbil K, From AHL, Bache RJ. 1995. Effect of Left Ventricular Hypertrophy Secondary to Chronic Pressure Overload on Transmural Myocardial 2-Deoxyglucose Uptake . *Circulation*, 92(5):1274–1283.
- Zhu Y, Zhu Y, Spitznagel H, Gohlke P, Unger T. 1996. Substrate Metabolism, Hormone Interaction, and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Left Ventricular Hypertrophy. *Diabetes*, 45(Supplement\_1):S59–S65.

## XI PUBLIKATIONSVERZEICHNIS

Alexander B Veitinger, Audrey Komguem, Lena Assling-Simon, Martina Heep, Julia Schipke, Christian Mühlfeld, Bernd Niemann, Philippe Grieshaber, Kerstin Boengler, Andreas Böning, Cardioprotection with esmolol-based cardioplegia for non-infarcted and infarcted rat hearts, *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 2021; ezab117, <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezab117>

## XII KONGRESSBEITRÄGE

3. Science Day des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen, 01.11.2019: A. B. Veitinger, A. Komguem, L. Assling-Simon, M. Heep, B. Niemann, P. Grieshaber, K. Boengler, A. Böning: Acute myocardial infarction in the rat model: Is Esmolol-based cardioplegia an alternative for myocardial protection?

49. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie (DGTHG), Wiesbaden, 03.03.2020: Extracorporeal Circulation and Myocardial Protection: A. B. Veitinger, A. Komguem, L. Assling-Simon, M. Heep, B. Niemann, P. Grieshaber, K. Boengler, A. Böning: Acute myocardial infarction in the rat model: Esmolol-based cardioplegia versus potassium-based cardioplegia

## XIII 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, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

---

Ort, Datum

---

Unterschrift

## XIV DANKSAGUNG

Herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. med. Andreas Böning für die Ermöglichung dieser Promotionsarbeit und die Überlassung des Themas. Ich danke Ihm für die freundliche Zusammenarbeit, seine ausgezeichnete Unterstützung während der gesamten Arbeit, dass er für alle Fragen ein offenes Ohr hatte und weiß seine großen Bemühungen in allen Bereichen sehr zu schätzen.

Vielen Dank an Frau Martina Heep, die im Labor eine große Unterstützung war und durch ihre motivierte unermüdliche Arbeit maßgeblich zur zügigen Datenerhebung beigetragen hat.

Danke an Herrn PD. Dr. med. Philippe Grieshaber für die Unterstützung bei der statistischen Datenauswertung und die vielen inhaltlichen Kommentare zur Promotionsarbeit.

Danken möchte ich auch dem Physiologischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen, insbesondere der Arbeitsgruppe von Frau PD. Dr. Kerstin Boengler für die Möglichkeit der Verwendung von Laborräumlichkeiten und zur Mitbenutzung der Gerätschaften zur Herstellung und Auswertung der Infarktschnitte, sowie die Einarbeitung in die hier angewandte Methodik.

Danken möchte ich auch dem Institut für Funktionelle und Angewandte Anatomie der Medizinischen Hochschule Hannover, insbesondere Herrn Prof. Dr. med. Christian Mühlfeld und Frau Dr. rer. nat. Julia Schipke für die Erhebung der elektronenmikroskopischen Daten und die freundliche Genehmigung zur Verwendung derselben in dieser Arbeit.

Der größte Dank gilt meinen Eltern Frau Bettina Veitinger und Herrn Bernd Veitinger für die tatkräftige Unterstützung bei allen formalen und technischen Problemen, sowie die mentale Unterstützung, nicht nur bei diesem Projekt, sondern auch in allen sonstigen Lebenslagen.

Ein weiteres großes Dankeschön richtet sich an meine Schwester Frau Valeria Veitinger, die mir bei formalen und sprachlichen Angelegenheiten immer zur Seite stand.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Partnerin Frau Dr. med. Verena Schoner bedanken, dafür mich zu motivieren, aufzubauen, voranzutreiben und vor allem immer für mich da zu sein und mich bei Allem zu unterstützen.