

Universitätsklinikum Ulm

Zentren für Chirurgie

Klinik für Herzchirurgie

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Hannekum

Untersuchungen zur myokardialen Kontraktilität:
Protektive Wirkung des Delta-Opioid-Rezeptor-Agonisten DADLE
im Vergleich zu Bretschneider-Kardioplegie

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen
Fakultät der Universität Ulm

Elmar Wolfrum

Göttingen

2009

Amtierender Dekan : Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin

1.Berichterstatter : Prof. Dr. Andreas Hannekum

2.Berichterstatter : Prof. Dr. Nikolaus Marx

Tag der Promotion: 15.07.2010

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abkürzungsverzeichnis	II
1. Einleitung	1
1.1 Herz-Lungen-Maschine – extrakorporale Zirkulation	2
1.2 Myokardprotektion durch Kardioplegie und Hypothermie	3
1.3 Hibernation, Ischämische Präkonditionierung und DADLE	7
1.4 Ziel und Zweck der Arbeit	11
2. Material und Methoden	12
3. Ergebnisse	15
3.1 Bretschneider-Kardioplegie	15
3.1.1 Kraft-Frequenz-Beziehung	15
3.1.2 Isoproterenol	19
3.1.3 Kalzium	23
3.2 DADLE	27
3.2.1 Isoproterenol	27
3.2.2 Kalzium	31
4. Diskussion	35
4.1 Versuche mit Bretschneider-Kardioplegie	35
4.2 DADLE als Alternative zu Bretschneider-Kardioplegie?	41
4.3 Schlussfolgerung	49
5. Zusammenfassung	50
6. Literaturverzeichnis	51
7. Lebenslauf	60

Abkürzungsverzeichnis

ATPase	Adenosintriphosphatasen
BNTX	7-benzylidenenaltrexone
CABG	Coronary artery bypass graft
DADLE	[D-Ala(2)-D-Leu(5)]-enkephalin
DHCA	Deep hypothermic circulatory arrest
Gpi contractility assay	Guinea pig ileum contractility assay
GTP	Guanosintriphosphat
HIT	Hibernation-induction trigger
HLM	Herz-Lungen-Maschine
HWA	Hibernating woodchuck albumin
IPC	Ischemic preconditioning
ISO	Isoproterenolkonzentration
LCO	Low cardiac output
Mn ²⁺	Mangan
NaF	Natriumfluorid
OPCAB	Off-pump-coronary-artery-bypass
PKC	Protein-Kinase C
SAWA	Summer-active Woodchuck albumin
SERCA II	Sarcoplasmatic reticulum calcium ATPase
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
Stabw	Standardabweichung
SWAP	Summer Woodchuck active plasma
Woodchuck	Nordamerikanisches Waldmurmeltier

1. Einleitung

In deutschen Herzzentren werden jährlich über 146.000 Herzoperationen durchgeführt. Hierbei stehen Bypass- (zirka 70.000) und Herzklappen-Operationen (zirka 18.500) statistisch gesehen an erster Stelle.

In den Industrienationen sind Operationen am Herzen zu einer Selbstverständlichkeit geworden. Jeder Bürger in Deutschland hat prinzipiell Zugriff auf das gesamte medizinische Spektrum, um sein krankes Herz behandeln zu lassen: medikamentös, kardiologisch-interventionell oder herzchirurgisch und oftmals als Kombination aller zur Verfügung stehenden Behandlungsformen.

Mittlerweile werden Eingriffe am offenen Herzen, wie beispielsweise eine aortokoronare Bypassoperation, routinemäßig und sehr erfolgreich durchgeführt.

Generell werden die Patienten der Herzchirurgen immer älter. Von den 96.000 Patienten, die 2004 in Deutschland mit Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine operiert wurden, waren rund 40.000 älter als 70 Jahre, 7.000 sogar älter als 80 Jahre. "Das spiegelt zum einen die demographische Entwicklung wieder, zum anderen aber auch die beeindruckende Leistungsfähigkeit der Herzchirurgie."

[Krian 2005]

Der Erfolg der modernen Herzchirurgie basiert auf komplexen Voraussetzungen, die für den Schutz und den Erhalt der Funktionalität des operierten Herzens unentbehrlich sind.

1.1 Herz-Lungen-Maschine - extrakorporale Zirkulation

Im Juli 1934 begann John H. Gibbon (1903-1973) am Massachusetts General Hospital in Boston in Zusammenarbeit mit seiner Frau Mary mit der Planung und Konstruktion des ersten extrakorporalen Kreislaufs, der eine Auskopplung des Herzens aus der Blutzirkulation zum Ziel hatte. Dabei verwendete er neben dem neuerdings verfügbaren Heparin einen Pumpoxygenator, welcher das Blut mit Sauerstoff anreichern sollte. [Edmunds 2003]

Tierversuche und ständige Verbesserungen führten zur Entwicklung der IBM-Maschine, welche am sechsten Mai 1953 zum ersten mal bei einer operativen Korrektur eines ausgedehnten Vorhofseptumdefektes einer jungen Frau mit Erfolg von Gibbon eingesetzt wurde. [Edmunds 2003, Gibbon 1954] Gibbon wird deshalb als der Pionier auf dem Gebiet der Konstruktion der Herz-Lungen-Maschine bezeichnet.

Ähnliche Konzepte verfolgte auch schon der Österreicher Max von Frey (1852-1932), der zusammen mit Max Gruber im Jahre 1885 einen Durchblutungsapparat mit künstlicher Lunge entwickelte und ihn in experimentellen Studien an Hunden testete. [Zimmer 2003]

Durch die Fähigkeit, das Herz aus dem Kreislauf auszuschalten, wurde eine Tür zu ungeahnten Möglichkeiten im Bereich der Herzchirurgie aufgetan. Allerdings musste noch sehr viel geschehen, bis aus der Herzchirurgie eine sichere und effektive Methode wurde.

Die Verwendung der Herz-Lungen-Maschine ist heutzutage Standard in vielen Herzzentren und ist aus der modernen Herzchirurgie nicht mehr wegzudenken. Als Alternative gegenüber der konventionellen Operation (mit HLM) ist aber auch die OPCAB-Koronarchirurgie (off-pump-coronary-artery-bypass) zu nennen, welche ohne Herz-Lungen-Maschine durchgeführt wird. Der Anteil dieser Operationen an den koronarchirurgischen Eingriffen stieg zwischen 2003 und 2004 von 5,1 Prozent auf 6,2 Prozent. [Krian 2005] Eine geringere Vergütung dieser Operationsmethode, im Vergleich zu Operationen mit Herz-Lungen-Maschine, ist maßgeblich für diesen geringen Anstieg verantwortlich.

Der belgische Chirurg Sergeant hat zwei Gruppen von Patienten, die eine Koronaroperation erhielten, verglichen. Dabei wurden 1593 Patienten mit und 1740 ohne HLM (am schlagenden Herzen) operiert.

Entgegen allen Erwartungen gab es sowohl bei der Überlebensrate wie auch beim Überleben frei von neurologischen Ereignissen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Operationstechniken. [Sergeant 2004]

Auch weitere Studien zeigten, dass sowohl in Bezug auf die Morbidität [Legare et al. 2004], als auch auf das Auftreten von Dysfunktion und den Verbrauch von Transfusionsprodukten [Raghuram et al. 2002] kein relevanter Unterschied bestand. Allerdings wurde beschrieben, dass es im Gegensatz zu den Operationen mit HLM zu keiner Desensibilisierung der Beta-adreno-Rezeptoren kam. [Eldrup et al. 2001]

Viel wichtiger als die Verwendung oder Nichtverwendung der Herz-Lungen-Maschine erscheint in diesem Kontext die vollständige Revaskularisation und die Qualität der Anastomosen für die langfristige Funktion der Bypassgefäße. [Carrel et al 2003]

1.2 Myokardprotektion durch Kardioplegie und Hypothermie

„Das einzige Kriterium für die Effektivität einer Myokardprotektion ist die Schnelligkeit des Herbeiführens einer kompletten und permanenten Erholung aller Funktionen im Verhältnis zur Schwere der Ischämie“. [Bretschneider 1980]

Kardioplegie

Das bewusste Herbeiführen eines Herzstillstandes durch Kardioplegie oder induziertes Kammerflimmern bedeutet für die Herzchirurgie den entscheidenden Vorteil, am stillgelegten, blutleeren Herzen operieren zu können. Während das flimmernde Herz jedoch noch vier bis sieben ml/min/100 g Herzgewicht an Sauerstoff verbraucht, sind es bei einem kardioplegisch stillgelegten Herzen nur ein ml/min/100 g.

In der Geschichte der Herzchirurgie ermöglichte die extrakorporale Zirkulation zwar eine direkte Sicht auf das kardiale Operationsfeld, aber es bestand auch die Gefahr von tödlichen Luftembolien und vor allem die Schwierigkeit am schlagenden Herzen zu operieren.

Die Frage nach der Herbeiführung eines ruhigen, blutlosen Herzens wurde laut. Bereits im Jahre 1883 veröffentlichte der englische Physiologe und Pharmakologe Sydney Ringer von dem University College of London einen Artikel in der Zeitschrift Journal of Physiology, in dem er die antagonistischen Effekte von Kalium und Kalzium auf die myokardiale Kontraktilität beschrieb. Kalzium führte bei steigender Dosierung zu einer Zunahme der Inotropie und letztendlich zur Tetanie, wohingegen bei Kalium die Inotropie bis hin zur Asystolie abnahm. [Shiroishi 1999]

Denis Melrose entwickelte in den fünfziger Jahren des 20. Jahrhunderts mit diesem Wissen eine kardioplege Lösung, welche 25 % Kaliumzitrat enthielt. In Kombination dieser Lösung mit oxygeniertem Blut führten er und sein Team viele erfolgreiche Operationen am stillgelegten, offenen Herzen durch. Die Herzen erreichten nach der elektiven Stilllegung wieder ihre normale Kontraktilität, allerdings bekamen viele Patienten innerhalb kurzer Zeit danach Herzrhythmusstörungen und verstarben.

Allen, Lillehei, Waldhausen und Björk warnten unabhängig voneinander vor der Gefahr und der Zweifelhaftigkeit beim Einsatz der Kaliumzitrat-Lösung.

Hölscher zeigte 1960, dass die negativen Auswirkungen der Kaliumzitratlösung nicht auf das Kalium-Ion selber, sondern auf die Chelatreaktion des Zitrat-Ions mit Magnesium und Kalzium zurückzuführen sei. [Hölscher 1967]

Seitdem wurden viele kardioplegische, myokardprotektive Lösungen erprobt und fanden auch zur klinischen Anwendung. [Shiroishi 1999]

Mit der natriumarmen, kalziumfreien, histidingepufferten HTK-Lösung (HTK=Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat) nach Bretschneider (Custodiol[®], Firma Köhlerchemie) konnte seit 1978, dem Beginn ihrer klinischen Anwendung, umfangreiche Erfahrung gesammelt werden.

Im Jahre 1975 demonstrierte Hans J. Bretschneider vom Institut für Physiologie an der Universität Göttingen die Logik, welche hinter jedem der einzelnen Bestandteile seiner „intrazellulären“ Kardioplegielösung stand [Bretschneider et al. 1975]:

Die Natriumionen-Konzentration der Lösung entspricht der der intrazellulären Konzentration, wodurch eine zur Kontraktion führende Erregung der Membran verhindert wird. Durch den gleichzeitigen Mangel an Kalziumionen wird das Membranruhepotential im polarisierten, beziehungsweise leicht depolarisierten

Zustand fixiert. Dieses Verhältnis von Natrium zu Kalzium bewirkt eine Verminderung der elektrischen und mechanischen Aktivität und löst so einen diastolischen Herzstillstand aus. Die unphysiologische Erhöhung des Gehaltes an extrazellulären Kaliumionen bringt eine Nivellierung des Innen-Außengradienten des Membranruhepotentials der schnellen Natrium- und der langsamen Kalziumkanäle. Das führt zu einer Reduzierung der Anstiegssteilheit und Amplitude des Aktionspotentials der Myokardzelle bis zur Unerregbarkeit. [Bretscheider 1980]

Auch eine erhöhte Konzentration an Magnesiumionen kann einen Herzstillstand induzieren. Hierbei kommt es ebenfalls zu einer Inaktivierung der schnellen Natriumkanäle sowie zu einem Kompetitieren mit Kalziumionen um die Rezeptoren an der Zelloberfläche und somit zur Hemmung des zellulären Kalzium-Einstromes entlang der langsamen Natrium/Kalzium-Kanäle.

Rebeyka et al. beschreiben ein so genanntes Kalziumparadox. Wenn die Konzentration von Kalziumionen unter einen kritischen Wert sinkt, kommt es zu einer Herauslösung von Kalziumionen aus den ultrazellulären Strukturen, welches mit einer Zerstörung dieser verbunden ist. [Rebeyka et al.1990]

Es war also die Aufgabe eine kardioplegische Lösung zu entwickeln, deren Kalziumkonzentration so gering ist, dass keine energieverbrauchenden Prozesse stattfinden können, aber gleichzeitig kein Schaden an den Zellen hervorgerufen wird. Auch Magnesium soll deshalb im Zytoplasma keine höheren Konzentrationen als 0,3-3 mmol/kg Zellwasser aufweisen, weil es sonst zu einer Kalziumverarmung und dem oben genannten Kalziumparadox kommen könnte. [Gebhard et al. 1984] Die Zugabe des Lokalanästhetikums Prokain stabilisiert zusätzlich die Membran durch unspezifische Abdichtung der äußeren Zellmembran gegenüber Transmission von Kalzium. [Bretschneider et al.1975] Die Aminosäure Histidin wirkt in großen Mengen als ausgezeichneter pH-Puffer, wodurch die Bedingungen für die anaerobe Energiegewinnung während der Ischämiephase optimiert werden. Eine starke Erniedrigung des pH-Wertes wird so verhindert. Die Kardioplegie ist zweifellos ein Grundstein der modernen Herzchirurgie. Nach wie vor besteht jedoch weiterhin das Problem der Ischämie. Die Zusammensetzung der bisher bekannten Kardioplegie-Lösungen ist sehr effektiv, aber nicht optimal. Deshalb wird weiterhin nach einer optimalen Lösung geforscht. Eine Alternative stellt die Blut-Kardioplegie dar.

Ferreira et al. berichten von einer besseren myokardprotektiven Wirkung durch warme (33-35°C) Blut-Kardioplegie im Vergleich zu kristalloider Kardioplegie während Operationen am offenen Herzen. [Ferreira et al. 2002] Die Kombination von Bretschneider-Lösung und warmer Blut-Kardioplegie, im Vergleich zu einfacher Bretschneider-Kardioplegie, zeigte nur einen geringen, nicht-signifikanten Vorteil. [Morishita et al. 1999]

Diskutiert wird auch die Anwendung von intermittierender warmer Blut-Kardioplegie. [Yamamoto 2000]

Cohen et al. schreiben im Angesicht der Zukunft von intraoperativer, myokardialer Protektion: „Trotz weiterer Verbesserungen der Kardioplegie Techniken, bietet das low-cardiac-output Syndrom nach Hochrisiko-bypassoperationen weiterhin Grund zur Besorgnis. Die Entwicklung von neuen Zusätzen mit verschiedenen schützenden Eigenschaften kann eine verbesserte Myokardprotektion bewirken und die Morbidität und Mortalität infolge von Bypassoperationen reduzieren.“ [Cohen et al. 1999]

Weiterhin sollte nicht vergessen werden, dass trotz all dieser Methoden, die die Ischämietoleranz verlängern, jede Ischämie zeitlich begrenzt ist. Deshalb gilt nach wie vor als oberstes Prinzip, die Ischämiezeit so kurz wie möglich zu halten.

Hypothermie

Die Ischämietoleranz unter normothermen (37°C) Bedingungen ist individuell sehr unterschiedlich. Die Toleranzgrenze für ununterbrochene Ischämie liegt etwa bei zwanzig Minuten, wobei diese Form der Ischämie nach Möglichkeit völlig vermieden werden sollte.

Höhere Temperaturen verkürzen die Ischämietoleranz stärker, als niedrige Temperaturen sie verlängert. [Bretschneider 1980]

Ein großes Ereignis für die Geschichte der Herzchirurgie stellt demnach auch der erstmalige Einsatz der systemischen Hypothermie (Unterkühlung) dar. Im Jahre 1952 gelang es F.J. Lewis (Minneapolis), sowie 1953 H.C. Swan (Denver), in Unterkühlung angeborene Herzfehler am offenen Herzen, unter Sicht, zu korrigieren.

Unterschieden werden, kann zwischen der Oberflächenkühlung, der Hypothermie mit Hilfe des Wärmetauschers während der extrakorporalen Zirkulation und der lokalen Hypothermie am Myokard.

Die tolerierte Ischämiedauer kann bei systemischer Unterkühlung auf 28-30°C sicher verdoppelt werden. Durch lokale Anwendung von eiskalter Kochsalzlösung am Herzen kann das Herz für 50 bis 60 Minuten stillgelegt werden, darüber hinaus wurden auch längere Zeiten toleriert.

Die gewebeschonende Wirkung der Hypothermie beruht im Wesentlichen auf einer Reduktion des myokardialen Energieverbrauchs. Durch die Kälte wird die zelluläre Stoffwechselaktivität gedrosselt, und das Herz kann einen längeren Zeitraum trotz Unterversorgung ohne Schaden überstehen. Bei Myokardtemperaturen von 17°C und Anwendung von Kardioplegie liegt der Ruhesauerstoffbedarf nur noch bei 0,1 bis 0,2 ml/min/100g Herzgewicht.

Damit werden Ischämiezeiten von bis zu drei Stunden ermöglicht.

1.3 Hibernation, Ischämische Präkonditionierung und DADLE

Der Herzmuskel kann durch eine verminderte Durchblutung (Ischämie) erheblich geschädigt werden. Das Myokard verfügt über ausgeprägte Adaptationsmechanismen, die einer Schädigung infolge von Ischämie entgegenwirken können. Ein seit langem bekannter Mechanismus ist die Ausbildung von Kollateralkreisläufen. Verbindungen zwischen benachbarten Gefäßen, welche ursprünglich unabhängige Myokardareale versorgt haben, werden durch Aktivierung der Neoangiogenese (Gefäßneubildung) ermöglicht. Diese Form der Adaptation an ischämische Zustände erfordert allerdings einen Zeitraum von Wochen bis Jahren, bis ein effektiver Kollateralkreislauf ausgebildet ist. Daraus wird ersichtlich, dass diese Form der Adaptation nur bei einem langsamen Verschluss eines Gefäßes dazu geeignet ist eine irreversible Schädigung des Myokards durch Ischämie zu verringern.

Das Myokard verfügt jedoch auch über Mechanismen, welche bei einem akuten Verschluss eines Herzkranzgefäßes Schaden abwenden können. In den letzten

15 Jahren sind dabei zwei primäre myokardiale Adaptationsmechanismen in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. [Schulz 2003]

Dabei ist zum einen „Hibernation“ und zum anderen „ischämische Präkonditionierung“ („ischemic preconditioning“) zu nennen.

Der Begriff Hibernation (Winterschlaf) stammt aus der Zoologie und impliziert eine adaptive, regulatorische Reduktion der Kontraktilität des Herzmuskels [Schulz 2003], beziehungsweise ist nach Rahimtoola definiert als Status einer intermittierenden kontraktile Dysfunktion des Myokards, welche nach sanguiner Reperfusion der ischämischen Areale reversibel ist. [Rahimtoola 1994, Heusch et al. 1996]

Der Winterschlaf ermöglicht im Tierreich eine Energieersparnis von 90% der Energie, die sonst über den Winter benötigt würde. Es kommt zu einer Herabsetzung der Körpertemperatur auf 4 bis 6°C, einer Atemdepression und einer Herzfrequenz von bis zu drei Schlägen pro Minute. Weiterhin liegt eine Einschränkung der Nierenfunktion sowie eine herabgesetzte Stoffwechselaktivität in jedem Organ des Tieres vor. Die Organperfusionrate fällt bis zu 90 % ab, ein Zustand, der bei den meisten Säugetieren mit sehr schwerer Ischämie einhergehen würde, nicht aber bei Winterschläfern. [Storey 2002]

Ischämische Präkonditionierung beschreibt eine Verzögerung der Myokardinfarktentwicklung durch vorhergehende kurze Ischämie-Episoden. Das impliziert einen Schutz *vor* Ischämie *durch* Ischämie und bezeichnet die Reduzierung der Infarktgröße infolge eines längeren Koronarverschlusses durch einen oder mehrere vorangehende, kurz dauernde Koronarverschlüsse mit Reperfusion. [Schulz 2003] Mit Kardioplegie und Hypothermie stehen exzellente Verfahren zum Schutz des Myokards, während induzierter Ischämie, bei Operationen am offenen Herzen zur Verfügung. Die jedoch bislang unerreichte *komplette* Protektion des Myokards vor irreversiblen Ischämie- / Reperfusionsschäden und die postoperative ventrikuläre Dysfunktion bleiben weiterhin ein limitierender Faktor in der modernen Herzchirurgie. [Burt et al., 1986] In diesem Zusammenhang ist noch der Begriff „Stunning“ zu nennen. Stunning („betäuben“) ist durch eine reversible, postischämische kontraktile Dysfunktion trotz wiederhergestellter Durchblutung gekennzeichnet und kann postoperativ auftreten. Hibernation und Ischämische Präkonditionierung sind

Zustände einer endogenen Myokardprotektion gegen Ischämie. Dagegen beschreibt Stunning eine, wenn auch vollständig reversible, Schädigung des Myokards durch Ischämie und Reperfusion. Interessanterweise entsprechen die subzellulären und molekularen Veränderungen von Tieren, die Winterschlaf halten, der veränderten Zellbiologie des induziert hypothermischen, ischämischen Myokards. [Bolling et al., 1998]

Als Beispiele für diese zellulären Veränderungen sind intrazelluläre Azidose, Hypoxie, Hypothermie, entleerte Energiespeicher und Volumenverschiebungen zu nennen.

Diese Veränderungen werden von dem Myokard des Winterschläfers jedoch über Monate hinweg toleriert, wohingegen die chirurgisch induzierte Ischämie auf ein paar Stunden beschränkt bleibt. [Chien et al., 1994, Bames et al., 1990] Im Serum von Winterschlaf haltenden Tieren wurde von Dawe et al. erstmals ein sogenannter „hibernation induction trigger“ (HIT) nachgewiesen. [Dawe et al. 1969]

In Versuchen wurde Albumin aus dem Blut von winterschlafenden Tieren, wie dem amerikanischen Waldmurmeltier (woodchuck), Schwarzbären (black bear), Fledermäusen (brown cave bats) und Eichhörnchen (ground squirrels) gewonnen und konnte bei diesen Tieren nach Verabreichung einen Winterschlaf sogar im Sommer induzieren. [Bolling et al. 1997, Myers et al. 1982, Dawe et al., 1969, Su et al., 1988]

HWA (hibernating-woodchuck-albumin = Albumin aus dem Serum von Murmeltieren, die sich in einem tiefen Winterschlaf befinden) konnte sogar bei Tieren, die keinen Winterschlaf halten, ein winterschlaf-ähnliches Verhalten auslösen. Primaten zeigten nach intrazerebroventrikulärer Injektion von HWA eine deutliche verhaltensbezogene und physiologisch nachweisbare Depression, welche sich in Form von Lethargie, Hypophagie, Hypothermie und Bradykardie äußerte. [Myers et al. 1981, Oeltgen et al.1982]

Die genaue chemische Zusammensetzung des „hibernation induction triggers“ ist nur schwer zu erfassen. Bislang konnte kein homogenes HIT Molekül isoliert werden. Studien haben gezeigt, dass all die oben genannten Wirkungen des HWA-induzierten Verhaltens durch Opioidantagonisten wie Naltrexon und Naloxon antagonisierbar sind. [Oeltgen et al., 1982] Diese Antagonisierbarkeit mit Opioidantagonisten lässt Rückschlüsse auf die chemische Beschaffenheit

des HIT zu. In verschiedenen Studien konnte die opioid-ähnliche Struktur des hibernation induction triggers aus der Albuminfraktion von Schwarzbären, Polarbären (*Ursus maritimus*), Eichhörnchen und Murmeltieren bestätigt werden. [Bruce et al., 1987, 1992, 1997, Gyang et al., 1966]

In Studien, die eine mögliche Beteiligung verschiedener Opioidrezeptoren an der Induzierung des Winterschlafes untersucht haben, stellten Oeltgen et al. fest, dass der *Delta*- Opioidrezeptoragonist DADLE ([D-Ala(2)-D-Leu(5)]-enkephalin) bei Eichhörnchen (ground squirrels) Winterschlaf induziert. Dieser Winterschlaf ist vergleichbar mit demjenigen, der durch HIT ausgelöst wird.

Im Gegensatz dazu konnten Agonisten an μ und kappa Rezeptoren nicht nur keinen Winterschlaf auslösen, sondern antagonisierten sogar die Wirkung eines HIT-induzierten Winterschlafs. [Oeltgen et al., 1987]

Aus den oben beschriebenen Auswirkungen des Winterschlafes auf den Stoffwechsel, stellt sich die Frage, inwieweit es möglich ist auch das menschliche Myokard durch Gabe von HIT oder DADLE in einen künstlich induzierten „Winterschlaf“ zu versetzen und somit eine bessere Toleranz des Herzmuskels gegenüber Ischämie zu erreichen.

1.4 Ziel und Zweck der Arbeit

Mit dieser Arbeit soll zum einen die postischämisch auftretende kontraktile Dysfunktion, welche nach Operationen unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine entsteht, am atrialen Myokard des Menschen untersucht werden.

Zum anderen sollen die myokardprotektiven Effekte des Delta-Opioidrezeptor-Agonisten DADLE mit Bretschneider-Kardioplegie in Vergleich gesetzt werden.

2. Material und Methoden

Als Material für die Versuche diente menschliches Herzmuskelgewebe des rechten Vorhofs, welches im Rahmen der venösen Kanülierung intraoperativ gewonnen wurde. Dabei handelte es sich um die Spitze des rechten Herzohres. Bei allen Patienten (n=50) wurde eine Operation am Herzen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine mit extrakorporaler Zirkulation durchgeführt. Bei den Operationen handelte es sich um aortokoronare Venen-/Arterienbypassoperationen sowie Aortenklappenersatzoperationen.

Eine chronisches Vorhofflimmern durfte bei keinem der Patienten vorliegen.

Als Vorlage für den Versuchsaufbau diente die Methode der Arbeitsgruppen der Medizinischen Klinik III der Universität Freiburg, beziehungsweise der Abteilung Pneumologie und Kardiologie der Universität Göttingen. [Hasenfuss et al. 1994, Meyer et al. 1996, Hermann et al. 2000]

Zum Transport und zur Präparation befand sich das myokardiale Gewebe in einer Krebs-Henseleit-Lösung, die durch Zusatz von 2,3-Butanedione, das den Querbrückenzyklus von Aktin und Myosin hemmte, eine kardioprotektive Wirkung aufwies. Dieser Effekt ist nach Auswaschung komplett reversibel. [Mulieri et al. 1989]

Unter dem Mikroskop wurde ein verzweigungsfreier Trabekel ohne Seitenarme mit großer Sorgfalt präpariert. Die Maße variierten zwischen 10 mm bis 25 mm (Stabw. 4,58) in der Länge und 0,25 mm bis 0,60 mm (Stabw. 0,13) im Durchmesser. Der Trabekel wurde zunächst locker in die Vorrichtung an dem Muskelkontraktionsapparat eingespannt.

Dabei wurde der Muskel auf einer Seite durch einen Metallhaken gehalten und auf der anderen Seite an den Kraftaufnehmer mit einer Pinzette fixiert.

Der Kraftaufnehmer war über das elektrische Stimulationsgerät mit einem Computer verbunden, der die Kraft in mN über das Programm Lab-View anzeigte.

Der Muskel befand sich in einem 2 ml Becken, durch das kontinuierlich 400 Milliliter Krebs-Henseleit-Lösung aus einer 900 ml Flasche mit einem anfänglichen Kalzium Wert von 1,0 mmol/Liter zirkulierten. Die Sauerstoff- (95%) und Kohlendioxidversorgung (5%) erfolgte durch Begasung der Krebs-Henseleit-Lösung in der 900 ml Flasche mit Carbogen. Der pH Wert wurde

durch mehrfache Kontrollen im physiologischen Bereich von 7,35 bis 7,45 konstant gehalten. Die Temperatur betrug bei allen Versuchen 37° Celsius.

Nach einer zehnmütigen Gewöhnungsphase an das neue Milieu wurde der Trabekel elektrisch mit bis zu acht Volt stimuliert, bis er mit Kontraktionen begann. Die Spannung lag im Bereich von drei bis acht Volt und die Grundfrequenz am Anfang lag bei 60 bzw. 90 Schlägen pro Minute.

Nun folgte eine sechzigminütige Einschlagzeit des Muskels bis ein konstanter Verlauf von Kontraktionen erkennbar war. Nach dieser Eingewöhnungsphase wurde der immer noch locker eingespannte Muskel in 0,05 bis 0,1 mm Schritten vorgedehnt, bis der Muskel mit maximaler Kraft kontrahierte, das heißt, dass der Abstand der Sarkomere den optimalen Wert von 2,2 Mikrometer erreicht hatte.

Als nächstes folgte die Durchführung der verschiedenen Versuchsreihen.

Kraft-Frequenz-Beziehung

Die Frequenz wurde von 60 Schlägen pro Minute auf 90, 120, 150 und 180 erhöht und jeweils Einzelzuckungen und der Verlauf aufgezeichnet. Die Kraft wurde für jede Frequenz 5 bis 10 Minuten lang gemessen.

Isoproterenol-Kraft-Beziehung

Bei der Isoproterenol Versuchsreihe wurde die Frequenz konstant bei einem Wert von 90 Schlägen pro Minute belassen und die Konzentration von Isoproterenol in der Krebs-Henseleit-Lösung von 0 mmol auf 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} und 10^{-6} mmol erhöht und die Kraft gemessen.

Kalzium-Kraft-Beziehung

Als drittes wurde Kalzium von einer Ausgangskonzentration von 1,0 mmol/Liter auf 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 und schließlich 6,0 mmol/Liter erhöht. Auch bei diesen Versuchsreihen wurden der Verlauf und die Einzelzuckungen aufgezeichnet.

Ischämie und Reperfusion

Anschließend wurde eine kurze Ischämiezeit, wie sie bei Herzoperationen mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine entsteht, simuliert.

Um den locker eingespannten Muskel zirkulierten 200 Milliliter Bretschneider Lösung, die eine Temperatur von vier Grad Celsius hatte und eine Kardioplegie bei dem Herzmuskel auslöste. Durch Begasung mit reinem Stickstoff wurde der Sauerstoff aus der Bretschneider Lösung weitestgehend verdrängt, sodass für den Muskel eine Ischämie entstand. Die Ischämiezeit betrug immer fünfzehn Minuten. Anschließend wurde eine Reperfusionszeit von ebenfalls fünfzehn Minuten eingeleitet, bei der der Muskel nun wieder von 37° Celsius temperierter Krebs-Henseleit-Lösung umspült wurde. Im Fall von Isoproterenol und Kalzium wurde hierfür eine frisch angesetzte Krebs-Henseleit-Lösung verwendet, die wieder den Anfangswert von 1,0 mmol/ Liter Kalzium hatte, beziehungsweise kein Isoproterenol enthielt.

Nach fünfzehnminütiger Reperfusion wurde der Trabekel wieder auf den Wert des ursprünglichen Kraftmaximums vorgedehnt und erneut elektrisch stimuliert. Jetzt wurden die gleichen Versuchsreihen, wie sie oben beschrieben sind, zum wiederholten Male durchgeführt und die Einzelzuckungen und der Verlauf aufgezeichnet.

DADLE

Bei der Ischämiezeit unter den Versuchen mit DADLE wurde anstatt der Bretschneider-Lösung 200 ml Krebs-Henseleit-Lösung verwendet, die 2,0 mg DADLE enthielt und eine Temperatur von 4°Celsius aufwies. Ansonsten wurde, wie oben beschrieben, eine Ischämie- und Reperfusionszeit von jeweils 15 Minuten eingehalten.

Einschlagzeit	Versuche	Ischämie	Reperfusion	Versuche
60 Minuten		15 min	15 min	

Abbildung 1 Schema des Versuchsprotokolls.

Legende zu Abbildung 1 Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung des zeitlichen Ablaufs einer Versuchseinheit. Je nach Versuchsgruppe wurde während der Ischämie entweder Bretschneider-Lösung oder ein Krebs-Henseleit-Perfusionsmedium mit der Substanz DADLE verwendet.

Für die Statistik wurden die Werte der Kontraktionskraft, die mit dem Programm Lab-View aufgezeichnet wurden, mit MS-Excel ausgewertet. Der Mittelwert und die Standardabweichung wurden berechnet.

3. Ergebnisse

3.1 Versuche mit Bretschneider-Kardioplegie

3.1.1 Kraft-Frequenz-Beziehung

Abbildung 2 fasst die Ergebnisse der untersuchten Kraft-Frequenz-Beziehung vor und nach Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie zusammen.

Tabelle 1 zeigt die Werte vor Bretschneider-Kardioplegie.

Bei 60 Schlägen pro Minute wird ein durchschnittlicher Wert von 17,01 mN/mm² erreicht. Die Kraft nimmt bei steigender Frequenz zu und erreicht bei 150 Schlägen pro Minute das Kraftmaximum von 27,11 mN/mm². Bei einer höheren Frequenz von 180/min fällt die Kraft wieder geringfügig auf einen Wert von 25,96 mN/mm² ab.

Die Standardabweichung (siehe Tabelle 1) liegt anfangs bei 11,38 und beträgt bei maximaler Frequenz 16,62.

Nach erfolgter Kardioplegie und Reperfusion (siehe Tabelle 2) besteht ein anfänglicher Kraftverlust von 54 % (7,91 mN/mm²). Dieser Verlust liegt bei einer Frequenz von 60 Schlägen pro Minute vor. Bei nahezu parallelem Verlauf zur Kurve vor der Kardioplegie nimmt auch hier die Kraft mit steigender Frequenz zu. Das erreichte Kraftmaximum von 16,98 mN/mm² wird erst bei einer Frequenz von 180/min erreicht. Der Kraftverlust entspricht hier 35 %. Die Standardabweichung (siehe Tabelle 2) liegt anfangs bei 4,66 und bei 180/min erreicht sie einen Wert von 11,18.

Tabelle 1 Versuchsreihe zur Untersuchung der Kraft-Frequenz-Beziehung vor Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 1 Von 11 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung bei verschiedenen Frequenzen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von simulierter Ischämie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 11 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei verschiedenen Frequenzen. Die Werte wurden vor der Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie gemessen.

Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt. (-) = Kein Wert vorhanden / n = 11

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
60/min	-	18,52	-	33,81	9,28	6,92	-	30,02	16,21	-	4,28
90/min	11,15	20,74	17,13	55,91	16,07	10,5	11,86	42,5	15,98	24,31	7,43
120/min	13,43	22,03	23,96	50,07	19,11	17,38	30,46	33,17	12,74	45,38	8,56
150/min	23,59	22,34	18,21	40,26	30,04	22,44	32,07	28,33	10,61	61,23	9,09
180/min	28,33	18,53	14,47	25,64	29,4	23,59	33,94	21,19	9,79	70,28	10,43

	Mittelwert	Standardabweichung
60/min	17,01	11,39
90/min	21,23	14,93
120/min	25,12	13,41
150/min	27,11	14,51
180/min	25,96	16,62

Tabelle 2 Versuchsreihe zur Untersuchung der Kraft-Frequenz-Beziehung nach Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 2 Von 11 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung bei verschiedenen Frequenzen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 11 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei verschiedenen Frequenzen. Die Werte wurden nach der Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion des Herzmuskels gemessen. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt.

(-) = Kein Wert vorhanden / n = 11

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
60/min	-	6,34	-	14,92	3,8	5,17	-	-	12,6	-	4,64
90/min	3,38	9,78	6,92	16,14	9,82	7,57	10,96	32,37	14,17	16,29	5,39
120/min	4,54	16,21	8,78	14,69	12,07	15,33	23,34	25,78	9,48	30,94	6,38
150/min	7,91	19,9	9,7	11,27	11,67	22,88	27,94	18,91	8,42	36,27	8,55
180/min	10,47	23,68	9,55	8,01	9,51	23,98	25,73	15,28	7,33	43,42	9,84

	Mittelwert	Standardabweichung
60/min	7,91	4,66
90/min	12,07	7,93
120/min	15,23	8,38
150/min	16,67	9,37
180/min	16,98	11,18

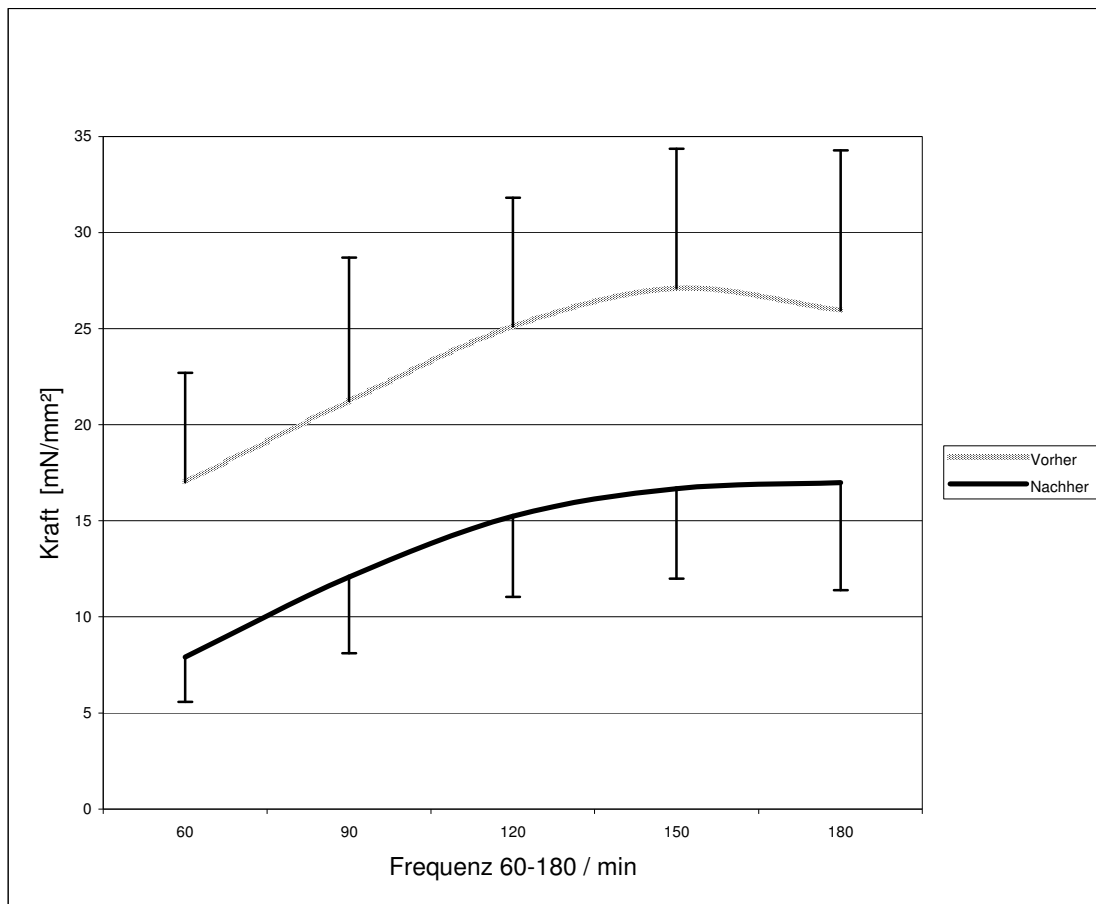


Abbildung 2 Vergleich der Kraft-Frequenz-Beziehung vor und nach Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie

Legende zu Abbildung 2 Von 11 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung bei verschiedenen Frequenzen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von Bretschneider-Kardioplegie bei 4 °C und Reperfusion verglichen.

In dieser Abbildung wird die Kraft in mN/mm² (Y-Achse) in Abhängigkeit von der Frequenz gemessen in Schlägen pro Minute (X-Achse) dargestellt. Die obere Kurve entspricht den Mittelwerten mit Standardabweichung vor und die untere entspricht den Werten nach Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion des Herzmuskels.

3.1.2 Isoproterenol

Abbildung 3 zeigt die Abhängigkeit der Kraft von der Konzentration an Isoproterenol in der Lösung. Die Frequenz bleibt in dieser und den folgenden Versuchsreihen konstant bei 90 Schlägen pro Minute. Der Anstieg der Kraft wird also durch Zugabe von Isoproterenol bewirkt.

Der Ausgangswert ohne Zugabe von Isoproterenol liegt bei 26,93 mN/mm².

Tabelle 3 enthält die Werte der Versuchsreihe vor Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie.

Bei einer Isoproterenol-Konzentration von 10^{-9} steigt der Wert auf 38,44 mN/mm² und erreicht bei 10^{-7} eine Maximalkraft von 60,38 mN/mm². Bei weiterer Erhöhung der Konzentration sinkt der Wert wieder auf 58,39 mN/mm². Die Standardabweichung (siehe Tabelle 3) liegt anfangs bei 6,93 und bei der höchsten Konzentration von 10^{-6} bei 24,45 .

Nach Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion (siehe Tabelle 4) liegt die Kraftverminderung des Ausgangswertes bei 30 % (18,93 mN/mm²). Durch Zugabe von Isoproterenol kommt es zu einem erneutem Kraftanstieg sodass bei einer Konzentration von 10^{-6} eine Maximalkraft von 53,21 mN/mm² erreicht wird. Der Kraftverlust beträgt hier im Vergleich zur Versuchsreihe vor Kardioplegie 12 %.

Die Standardabweichung beginnt bei 10^{-9} mit einem Wert von 7,65 und liegt bei der Konzentration von 10^{-6} bei 26,86.

Tabelle 3 Kraftveränderung durch Zugabe Isoproterenol vor Bretschneider-Kardioplegie (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 3 Von 9 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Isoproterenolkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 9 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei Zugabe von Isoproterenol in verschiedenen Dosierungen vor der Anwendung von Bretschneider- Kardioplegie. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt. n = 9, [ISO] = Isoproterenolkonzentration

0 [ISO]	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	21,2	16	23,49	29,63	24,14	38,18	24,36	34,39	30,95
10 ⁻⁹	27,38	15,36	37,55	33,74	35,95	49,7	53,05	58,49	34,78
10 ⁻⁸	63,75	21,11	51,24	40,14	58,1	63,96	83,31	78,27	47,84
10 ⁻⁷	69,14	18,87	47,33	38,17	67,15	70,28	94,91	83,79	53,79
10 ⁻⁶	69,76	20,51	25,58	48,49	64,35	70,5	95,13	79,91	51,3

	Mittelwert	Standardabweichung
0	26,93	6,93
10 ⁻⁹	38,44	13,42
10 ⁻⁸	56,41	19,13
10 ⁻⁷	60,38	23,43
10 ⁻⁶	58,39	24,45

Tabelle 4 Kraftveränderung durch Zugabe von Isoproterenol nach Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 4 Von 9 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Isoproterenolkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 9 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei Zugabe von Isoproterenol in verschiedenen Dosierungen nach der Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt.

$n = 9$, [ISO] = Isoproterenolkonzentration

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
[ISO]									
0	24,86	8,88	9,51	18,32	11,49	31,16	23,8	22,71	19,65
10 ⁻⁹	25,65	10,08	14,71	24,5	19,1	41,1	38,38	38,52	27,78
10 ⁻⁸	32,47	11,62	20,28	29,94	32,09	51,55	81,12	66,58	38,95
10 ⁻⁷	37,27	16,69	29,7	35,46	44,51	58,45	99,41	77,94	47,92
10 ⁻⁶	-	16,47	36,7	38,57	42,32	63,36	101,94	77,63	48,65

	Mittelwert	Standardabweichung
0	18,93	7,65
10 ⁻⁹	26,65	11,00
10 ⁻⁸	40,51	22,20
10 ⁻⁷	49,71	25,55
10 ⁻⁶	53,21	26,86

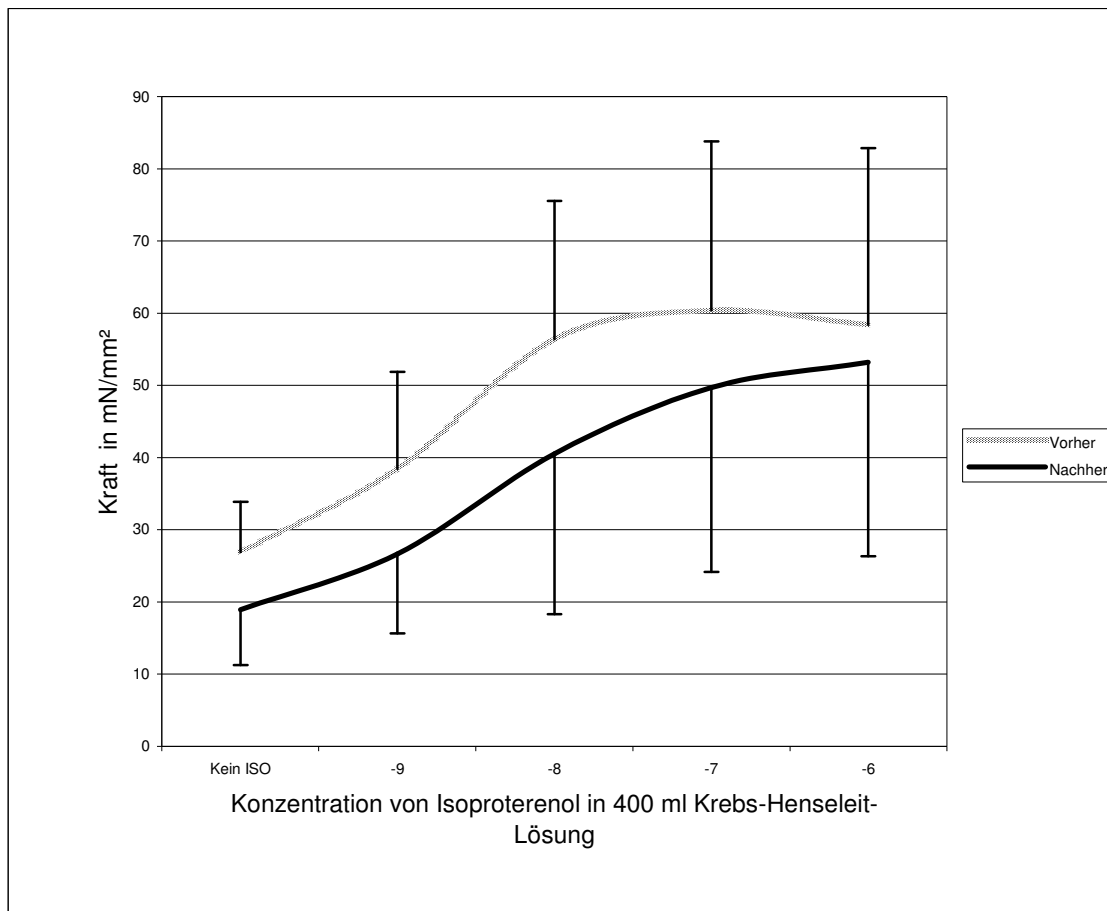


Abbildung 3 Kraftveränderung durch Isoproterenol vor und nach Kardioplegie

Legende zu Abbildung 3 Von 9 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Isoproterenolkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

In dieser Abbildung wird die Kraft in mN/mm^2 (Y-Achse) in Abhängigkeit von Konzentration von Isoproterenol in einer Krebs-Henseleit-Nährlösung (X-Achse) dargestellt. Die Obere Kurve entspricht den Mittelwerten mit Standardabweichung vor und die untere entspricht den Werten nach Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion des Herzmuskels.

3.1.2 Kalzium

Abbildung 4 beschreibt die Kraftveränderungen bei verschiedenen Kalziumkonzentrationen vor und nach Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie.

Tabelle 5 zeigt die Werte der Versuchsreihe vor Kardioplegie. Der Ausgangswert von Kalzium in der Krebs-Henseleit-Lösung beträgt ein mmol/l und der Mittelwert der Kraft in mN/mm² liegt bei 18,21. Mit zunehmender Kalziumkonzentration steigt der Wert kontinuierlich bis auf 69,71 mN/mm² an. Die Standardabweichung beträgt bei 1 mmol/l 9,14 und bei 6 mmol/l 27,65.

Nach erfolgter Kardioplegie und Reperfusion (Tabelle 6) hat die Kraft um 50 % (9,01 mN/mm²) abgenommen. Mit steigender Kalziumkonzentration nimmt der Kraftverlust ab. Bei 4 mmol/l Kalzium liegt er bei 28 % (47,60 mN/mm²) und bei 5 mmol/L nur noch bei 2,4 % (60,0 mN/mm²). Bei 6 mmol/l ist nur ein minimal geringerer Wert (0,9 %) zu verzeichnen.

Die Standardabweichung liegt anfangs bei 2,64 und bei 6 mmol/l Kalzium bei 29,85.

Tabelle 5 Kraftveränderung durch Zugabe von Kalzium vor Bretschneider-Kardioplegie (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 5 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Kalziumkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 10 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei Zugabe von Kalzium in verschiedenen Dosierungen vor der Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt. n = 10

[Ca ²⁺] in mmol/l	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	17,67	16,23	18,98	10,75	11,61	14,88	15,15	39,36	9,23	28,22
2	19,08	25,54	33,15	18,04	17,60	23,38	33,52	47,39	20,09	55,02
3	42,00	30,47	42,48	26,13	23,25	36,47	46,43	36,13	41,94	67,15
4	80,04	36,76	46,29	32,51	31,80	52,39	72,45	38,92	65,47	71,54
5	103,21	40,47	47,38	43,32	39,23	59,99	97,77	40,36	75,70	68,19
6	126,40	51,38	46,47	59,21	51,52	63,11	109,5	43,45	75,63	70,42

	Mittelwert	Standardabweichung
1	18,21	9,14
2	29,28	13,01
3	39,25	12,37
4	52,82	18,21
5	61,56	24,08
6	69,71	27,65

Tabelle 6 Kraftveränderung durch Zugabe von Kalzium nach Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 6 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Kalziumkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 10 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei Zugabe von Kalzium in verschiedenen Dosierungen nach der Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt. n = 10

[Ca ²⁺] in mmol/l	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	8,43	8,08	9,68	6,74	10,96	6,77	9,62	15,39	7,09	7,38
2	10,23	11,75	19,78	11,31	17,48	9,97	17,27	18,76	10,43	19,54
3	21,63	16,75	32,99	17,91	22,08	15,51	34,58	37,28	22,65	45,59
4	80,52	28,07	42,85	34,97	31,22	25,51	69,92	41,51	60,76	60,62
5	117,23	39,01	45,21	44,79	39,23	36,22	95,41	42,62	74,29	66,85
6	129,11	47,15	47,44	58,88	50,82	48,84	110,54	43,32	84,46	70,09

	Mittelwert	Standardabweichung
1	9,01	2,65
2	14,65	4,23
3	26,70	10,19
4	47,60	19,09
5	60,09	27,83
6	69,07	29,85

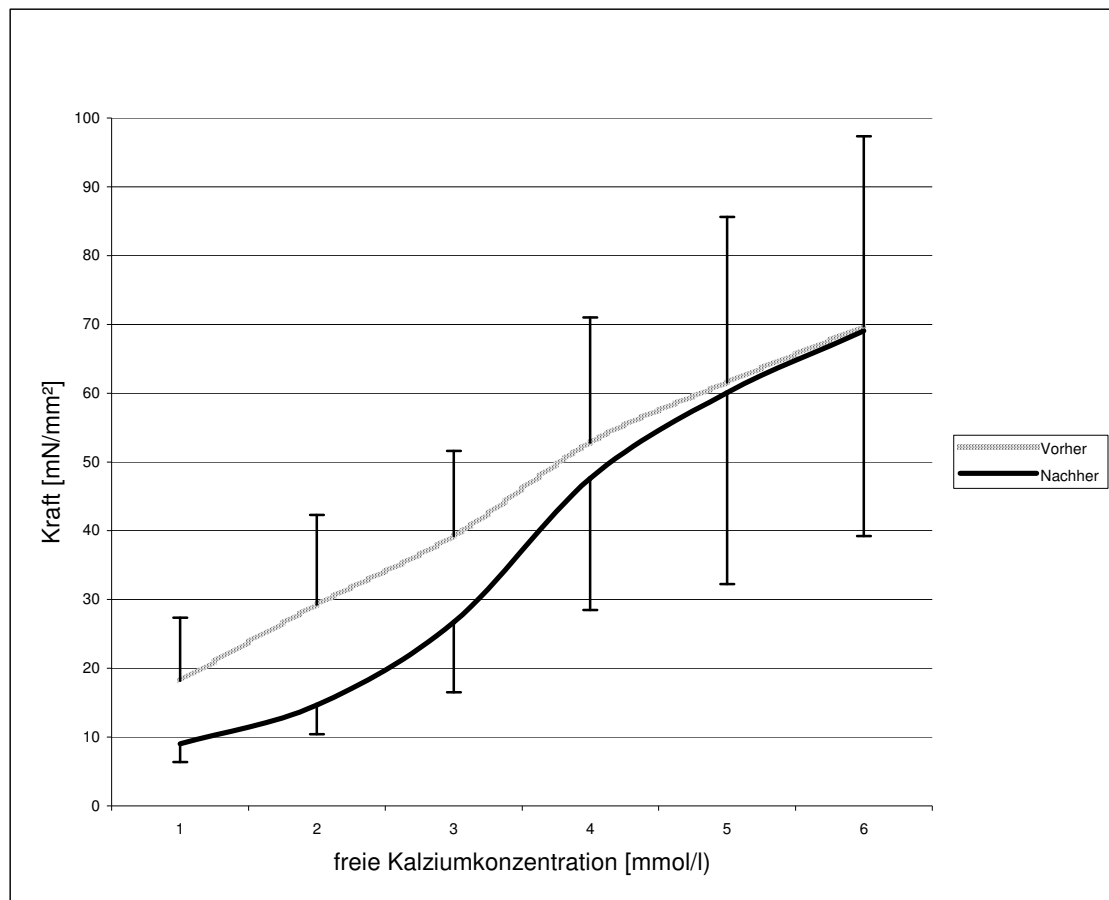


Abbildung 4 Kontraktionskraft in Abhängigkeit von der freien Kalziumkonzentration vor und nach Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie

Legende zu Abbildung 4 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Kalziumkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

In dieser Abbildung wird die Kraft in mN/mm^2 (Y-Achse) in Abhängigkeit von der freien Kalziumkonzentration (X-Achse) dargestellt. Die Obere Kurve entspricht den Mittelwerten mit Standardabweichung vor und die untere entspricht den Werten nach Anwendung von Bretschneider-Kardioplegie und Reperfusion des Herzmuskels.

3.2 Versuche mit DADLE

3.2.1 Isoproterenol und DADLE

In Abbildung 5 sind die Veränderungen der Kontraktilität des Trabekels durch Zugabe des Katecholamins Isoproterenol verzeichnet.

In Tabelle 7 sind die Werte der Versuchsreihe vor DADLE Gabe zu finden. Die Anfangskraft ohne Zusatz von Isoproterenol liegt bei 30,37 mN/mm². Die maximale Kraftentwicklung wird bei einer Konzentration von 10⁻⁷ mmol/l erreicht und beträgt 67,56 mN/mm². Bei weiterer Erhöhung von Isoproterenol fällt die Kraft gering auf 65,62 mN/mm² ab. Die Standardabweichung (siehe Tabelle 7) liegt anfangs bei 9,94 und 11,05 bei 10⁻⁶ mmol/l.

Nach DADLE Gabe und Reperfusion (siehe Tabelle 8) ist der Kraftverlust sehr gering und die Vorher-Nachher-Kurven verlaufen fast übereinander. Beim Anfangswert zeigt sich lediglich ein Kraftverlust von 4,26 % (29,07 mN/mm²). Im weiteren Verlauf beträgt die Kraftdifferenz 1,08 % (41,92 mN/mm²) bei 10⁻⁹, 3,54 % (55,33 mN/mm²) bei 10⁻⁸, 2,31 % (66,00 mN/mm²) bei 10⁻⁷ und 3,31 % (63,44 mN/mm²) bei 10⁻⁶.

Tabelle 7 Kraftveränderung durch Zugabe von Isoproterenol vor DADLE (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 7 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Isoproterenolkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von DADLE-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 10 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei Zugabe von Isoproterenol in verschiedenen Dosierungen vor der Anwendung von DADLE. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt. $n = 10$, DADLE = [D-Ala(2)-D-Leu(5)]-enkephalin, [ISO] = Isoproterenolkonzentration

[ISO]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	26,84	43	28,59	36,17	44,82	14,59	34,3	16,25	27,82	31,28
10 ⁻⁹	37,06	49,69	40,6	47,62	49,09	16,64	37,8	41,36	64,33	39,61
10 ⁻⁸	56,19	68,81	57,78	59,25	65,53	36,58	44,87	55,33	74,98	54,25
10 ⁻⁷	64,55	70,31	58,96	64,65	72,37	62,58	48,29	87,41	86,19	60,28
10 ⁻⁶	65,31	69,21	60,03	64,67	72,41	58,32	45,86	78,9	83,67	57,8

	Mittelwert	Standardabweichung
0	30,37	9,94
10 ⁻⁹	42,38	12,16
10 ⁻⁸	57,36	11,13
10 ⁻⁷	67,56	12,08
10 ⁻⁶	65,62	11,05

Tabelle 8 Kraftveränderung durch Zugabe von Isoproterenol nach DADLE und Reperfusion (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 8 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzhohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Isoproterenolkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von DADLE-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 10 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei Zugabe von Isoproterenol in verschiedenen Dosierungen nach der Anwendung von DADLE. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt. n = 10, DADLE = [D-Ala(2)-D-Leu(5)]-enkephalin, [ISO] = Isoproterenolkonzentration

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
[ISO]										
0	31,59	33,91	30,51	33,68	46,4	14,02	34,73	17,62	24,31	23,94
10 ⁻⁹	36,08	54,42	39,01	44,86	58,25	17,66	40,89	32,43	61,99	33,63
10 ⁻⁸	54,14	64,46	55,09	55,87	65,05	30,34	44,89	60,01	70,22	53,18
10 ⁻⁷	63	75,86	62,38	64,85	74,12	51,54	44,59	82,04	85,21	56,42
10 ⁻⁶	63,91	66,49	59,88	65,69	73,04	54,85	43,44	75,18	76,06	55,9

	Mittelwert	Standardabweichung
0	29,07	9,38
10 ⁻⁹	41,92	13,44
10 ⁻⁸	55,33	11,36
10 ⁻⁷	66,00	13,22
10 ⁻⁶	63,44	10,26

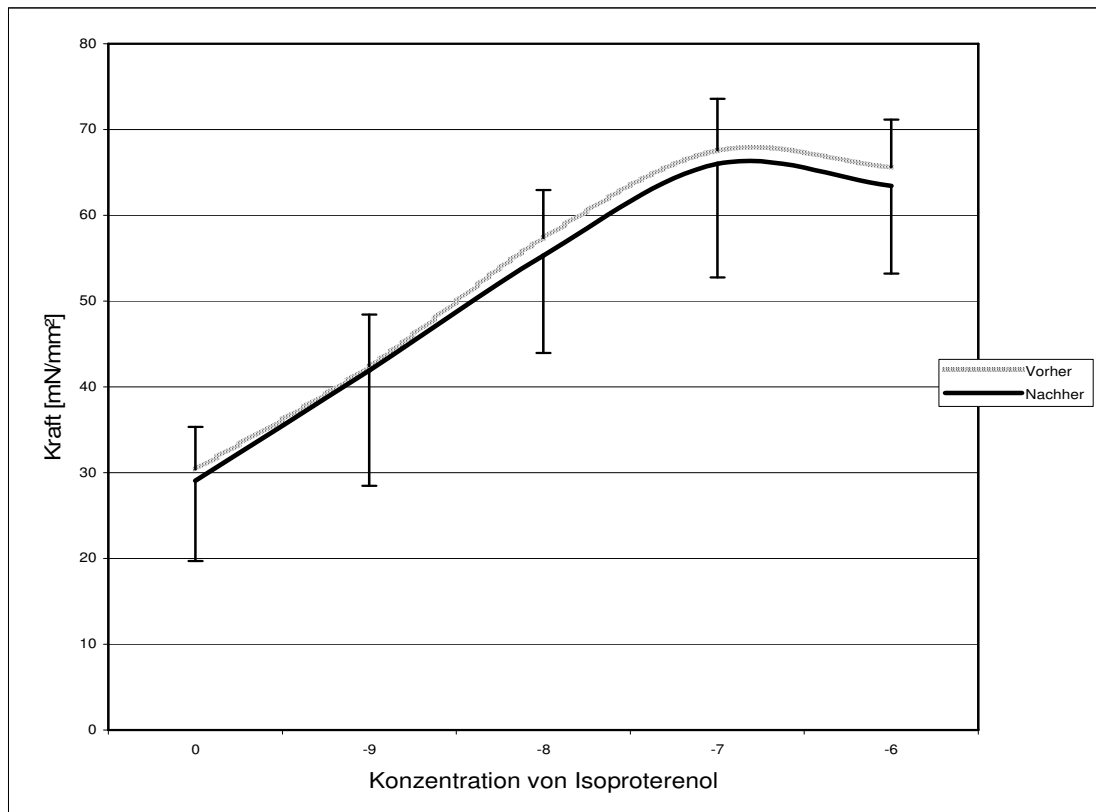


Abbildung 5 Kraftveränderung durch Isoproterenol vor und nach DADLE

Legende zu Abbildung 5 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Isoproterenolkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von DADLE-Kardiologie und Reperfusion verglichen.

In dieser Abbildung wird die Kraft in mN/mm^2 (Y-Achse) in Abhängigkeit von der Konzentration von Isoproterenol. (X-Achse) dargestellt. Die Obere Kurve entspricht den Mittelwerten mit Standardabweichung vor und die untere entspricht den Werten nach Anwendung von DADLE und Reperfusion des Herzmuskels. DADLE = $[D\text{-Ala}(2)\text{-D-Leu}(5)]\text{-enkephalin}$

3.2.2 Kalzium und DADLE

Abbildung 6 zeigt die Veränderungen der Kontraktilität durch Zugabe von Kalzium vor und nach Zusatz von DADLE.

Tabelle 9 enthält die Werte der Versuchsreihe vor DADLE Gabe. Der Ausgangswert bei einem mmol/l Kalzium liegt bei 26,03 mN/mm². Die Kraft steigt mit erhöhter Konzentration von Kalzium an und erreicht bei 6 mmol/l das Maximum von 74,87 mN/mm². Die Standardabweichung liegt anfangs bei 8,69, und bei 6 mmol/l Kalzium ist der Wert 21,57.

Nach DADLE, Hypothermie und Reperfusion ist ein leichter Kraftverlust zu sehen (Tabelle 10).

Bei 1 mmol/l Kalzium beträgt die Verminderung 18,9 % (21,11 mN/mm²).

Die Nachher-Kurve verläuft nahezu parallel zur Vorher-Kurve. Auch hier liegt das Kraftmaximum bei einer Kalziumkonzentration von 6 mmol/l. Der Verlust beträgt hier 4,8 % (71,30 mN/mm²).

Die Standardabweichung (siehe Tabelle 10) liegt anfangs bei 8,49 und beim Kraftmaximum bei 22,95.

Tabelle 9 Kraftveränderung durch Zugabe von Kalzium vor DADLE (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 9 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Kalziumkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von DADLE-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 10 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei Zugabe von Kalzium in verschiedenen Dosierungen vor der Anwendung von DADLE. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt. n = 10, DADLE = [D-Ala(2)-D-Leu(5)]-enkephalin

[Ca ²⁺] in mmol/l	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	27,25	11,67	37,93	20,75	35,29	20,7	28,19	24,11	17,8	36,65
2	43,81	19,70	41,67	50,92	44,22	26,78	40,91	37,78	26,59	47,9
3	50,88	34,33	45,12	81,69	45,29	32,00	55,00	71,25	39,34	38,7
4	52,38	45,57	56,31	95,29	45,66	39,11	68,32	98,09	59,28	56,04
5	51,61	51,26	58,65	100,28	53,29	49,50	74,62	103,74	74,07	64,1
6	52,76	54,05	60,38	112,1	61,22	66,62	72,04	108,51	90,74	70,24

	Mittelwert	Standardabweichung
1	26,03	8,69
2	38,03	10,28
3	49,36	16,11
4	61,61	20,22
5	68,11	20,03
6	74,87	21,57

Tabelle 10 Kraftveränderung durch Kalzium nach DADLE und Reperfusion (mN/mm²)

Legende zu Tabelle 10 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Kalziumkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von DADLE-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

Die Spalten 1 bis 10 zeigen die in mN/mm² gemessene Kraft des Herzmuskels bei Zugabe von Kalzium in verschiedenen Dosierungen nach der Anwendung von DADLE. Weiterhin sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aufgeführt. n = 10, DADLE = [D-Ala(2)-D-Leu(5)]-enkephalin

[Ca ²⁺] in mmol/l	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	24,09	6,21	37,93	16,75	29,11	19,7	15,56	22,19	17,14	22,4
2	38,78	15,18	41,67	48,67	39,1	25,67	29,75	35,76	26,98	35,38
3	45,03	29,6	45,12	78,81	44,23	30,75	42,63	68,7	35,64	42,77
4	44,85	46,81	56,31	92,86	47,93	37,39	53,03	92	61,6	56,33
5	46,78	48,26	58,65	105,78	49,73	47,08	61,41	103,09	71,96	66,68
6	47,57	50,64	60,38	114,27	53,23	59,29	68,55	106,4	79,81	72,88

	Mittelwert	Standardabweichung
1	21,11	8,49
2	33,69	9,53
3	46,33	15,73
4	58,91	18,95
5	65,94	22,05
6	71,30	22,95

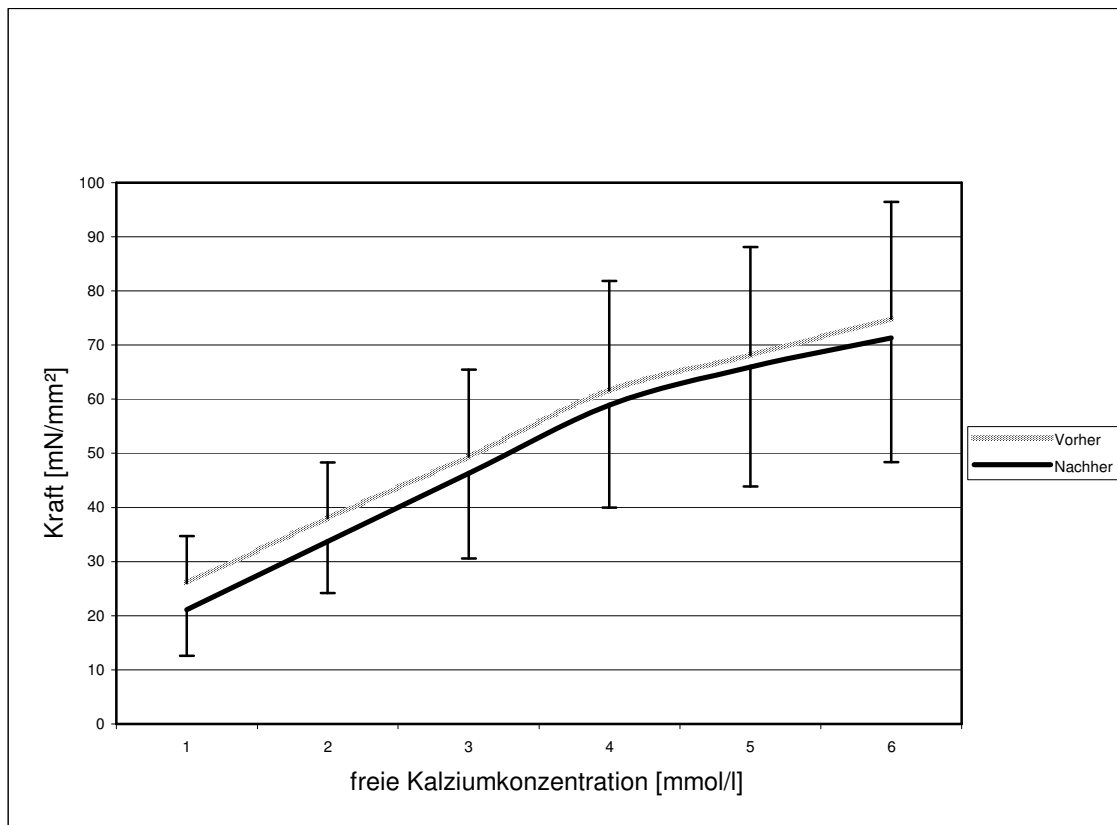


Abbildung 6 Auswirkungen von DADLE auf die Kontraktionskraft bei steigenden Kalziumkonzentrationen

Legende zu Abbildung 6 Von 10 Patienten, die sich einer Herzoperation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine unterzogen, wurde ein Stück des Herzohres vom rechten Vorhof gewonnen. Dünne Muskelstreifen (Trabekel) wurden unter dem Mikroskop präpariert und an einen Muskelkontraktionsapparat angeschlossen um deren Kontraktionskraft zu messen.

Unterschiede der Kraftentwicklung unter verschiedenen Kalziumkonzentrationen wurden vor und nach einer insgesamt 30 Minuten dauernden Phase von DADLE-Kardioplegie und Reperfusion verglichen.

In dieser Abbildung wird die Kraft in mN/mm^2 (Y-Achse) in Abhängigkeit von der Konzentration von Kalzium. (X-Achse) dargestellt. Die Obere Kurve entspricht den Mittelwerten mit Standardabweichung vor und die untere entspricht den Werten nach Anwendung von DADLE und Reperfusion des Herzmuskels. DADLE = [D-Ala(2)-D-Leu(5)]-enkephalin

4. Diskussion

4.1 Bretschneider-Kardioplegie und das Problem der postoperativen myokardialen Dysfunktion

Das Problem des Low-cardiac-output Syndroms (LCO) stellt die kritischste Situation nach Herzoperationen dar.

In einer retrospektiven Studie entwickelten von 537 Patienten, die am offenen Herzen operiert worden sind, 39 (7,3 %) ein Low-cardiac-output Syndrom. [Papp et al. 1999]

Als Risikofaktoren für dessen Entstehung nennen Papp et al. chronisches Vorhofflimmern, Erkrankungen der Mitralklappe, perioperatives Auftreten eines Myokardinfarktes, lange Anästhesiezeiten, bestehende Herzinsuffizienz und eine hohe Anzahl an transfundierten Blutkonserven. Abgesehen von diesen Variablen war eine intra- oder perioperative Myokardnekrose verantwortlich für das Low-cardiac-output Syndrom. Die Schädigung ist wenigstens teilweise auch auf die Therapie des LCO mit Katecholaminen zurückzuführen. [Papp et al. 1999] Aber nicht immer entsteht diese maximale Variante der verminderten Kontraktilität. Weitaus häufiger sind eine myokardiale Dysfunktion oder das Phänomen des „stunning“, die nach Abschluss der extrakorporalen Zirkulation und postoperativ auftreten können. [Gerhardt et al. 1998]

Auch hier werden ursächlich eine inkomplette myokardiale Protektion, suboptimale Revaskularisierung, weiter bestehende Ischämie und akute Beta-adreno-Rezeptor Desensibilisierung genannt. [Booth et al. 1998]

Die Versuchsreihen vor der Ischämie zeigen zunächst die physiologischen Reaktionen des Myokards auf verschiedene externe Stimuli, die als Veränderung der Kontraktionskraft messbar sind. Wie auch in vivo lassen sich hier eine Kraft-Frequenz-Beziehung (Bowditch-Effekt) sowie eine vermehrte Kontraktilität durch sympatho-adrenerge Aktivierung mit Stimulation der Adenylatzyklase erkennen.

Eine stärkere Kontraktilität wird letztlich immer durch das Vorhandensein von Kalzium erreicht, sodass die direkte Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration, wie erwartet, zu der stärksten Kraftentwicklung führte.

Der deutliche Kraftverlust von teilweise über fünfzig Prozent der Ausgangskraft, deutet darauf hin, dass trotz der Schonung des Myokards durch Bretschneider-Lösung und Hypothermie eine Schädigung des Herzmuskels durch Ischämie und Reperfusion entstanden sein muss.

Kraft-Frequenz-Beziehung

Durch Veränderung der Frequenz steigt zwar die Kraft nach der Kardioplegie an, aber das Kraftniveau der jeweiligen entsprechenden Ausgangsfrequenz wird nicht mehr erreicht. Die Schädigung vermindert die Gesamtkraft wobei die Kraft-Frequenz-Beziehung im Verhältnis zu vorher unverändert bleibt.

Hasenfuss et al. wiesen auf eine enge Verbindung zwischen der Expression der Ca^{2+} -ATPase des Sarkoplasmatischen Retikulums (SR) und der myokardialen Funktion hin. Eine reduzierte Expression der SR Ca^{2+} -ATPase ist an der veränderten Kraft-Frequenz-Beziehung in geschwächten menschlichen Herzen (Patienten mit Herzinsuffizienz, dilatativer oder ischämischer Kardiomyopathie) beteiligt. Auf der anderen Seite stellt die Expression der SR Ca^{2+} -ATPase die kontraktile Reserve des Myokards in Bezug auf die Kraftzunahme bei Frequenzerhöhung dar. Dies erklärt sich durch eine erhöhte Freisetzung von Kalzium aus dem SR, wodurch mehr Kalzium für die Aktivierung kontraktile Proteine bereitsteht. [Hasenfuss et al. 1994]

Eine umgekehrte Kraft-Frequenz-Beziehung, wie sie von Bavendiek et al. bei Patienten mit schwerem Herzfehler beschrieben wurde, konnte nicht beobachtet werden. Diese erklären sie durch eine veränderte Expression oder Funktion der Natrium / Kalzium-Austauscher, der Natriumkanäle oder der Natrium/Kalium-ATPase gepaart mit einer gestörten Funktion der SERCA2 (sarcoplasmatic reticulum calcium ATPase). [Bavendiek et al. 1998]

Diese Versuchsreihe wurde als Ausgangswert für die weiteren Versuche mit Isoproterenol und Kalzium durchgeführt und demonstriert die physiologische Reaktion des Myokards in Form der Kraft-Frequenz-Beziehung.

Isoproterenol

Der kritischste Moment während eines herzchirurgischen Eingriffes mit extrakorporaler Zirkulation erfolgt nach der Abkopplung der Herz-Lungen-Maschine. Das Myokard muss dann zu einem geschwächten Zeitpunkt sehr viel Leistung aufbringen. [Gerhardt et al 1998]

Der herzchirurgische Eingriff mit HLM führt ebenso wie nach einem kardialen Insult zu einer vermehrten Freisetzung von endogenen Katecholaminen. Dieses Phänomen ist vielfach in der Literatur beschrieben. [Kaplan 1992, Schranz et al. 1992, Booth et al. 1998, Gerhardt et al. 1998]

Außerdem wurde demonstriert, dass Norepinephrin aus dem anoxischen, isolierten Herzen freigesetzt wird, und dass Kühlung den erhöhten Katecholaminspiegel im ischämischen Myokard aufrecht erhält. [Schranz et al. 1992]

Als Folge der andauernden Stimulation auf dem Boden eines Ischämie- und Reperfusionsschadens kommt es zu einer Irritation des Myokards mit steigender Herzfrequenz und vermindertem kardialen Auswurf. Es kann ein circulus vitiosus entstehen mit immer weiterer Abnahme der Kontraktilität, welcher schließlich in der Herzinsuffizienz endet. [Kaplan 1992]

Die Wirkung der Katecholamine entsteht durch eine Aktivierung von Rezeptoren, welche wiederum eine Signalkaskade in Gang setzen. Im folgenden Abschnitt soll jedoch gezeigt werden, welche Auswirkungen eine dauerhafte Stimulation bei erhöhten Katecholaminspiegeln hat.

Dabei ist zunächst die Desensibilisierung (engl.: desensitization) von Rezeptoren zu nennen. Sie ist ein allgemeines biologisches Phänomen, bei dem die physiologische Antwort durch kontinuierliche agonistische Stimulation abnimmt. Es sind verschiedene Mechanismen bekannt. Zum einen kann es zu einer Verminderung der Rezeptoranzahl kommen. Dieser Prozess ist als

Downregulation oder Sequestration bekannt und tritt erst nach längerfristiger (Stunden bis Tage) Stimulation auf. Daneben gibt es noch den Mechanismus der Abkopplung (engl. uncoupling) des Rezeptors von der Signalkaskade, welcher bereits nach Sekunden bis Minuten auftreten kann.

Bei G-Protein-gekoppelten Rezeptoren kommt es zu einer akuten Desensibilisierung, in Form einer Abkopplung, nach Phosphorylierung durch Kinasen. [Gerhardt et al. 1998]

Gerhardt et al. wiesen darauf hin, dass der eingeschränkten Myokardfunktion nach Einsatz der Herz-Lungen-Maschine eine akute Desensibilisierung der adrenergen Betarezeptoren zu Grunde liegt.

Dies lässt sich erklären, wenn man bedenkt, dass der Katecholamin-Plasmaspiegel während der extrakorporalen Zirkulation auf den zwei bis zehnfachen Ausgangswert ansteigt. [Gerhardt et al. 1998]

Schranz et al. führten eine Studie bei Kindern durch, die sich einer Operation zur Korrektur eines Herzfehlers unterziehen mussten. Dabei untersuchten sie die Auswirkungen, die die Herz-Lungen-Maschine und kardialer Arrest, mit 4°C kalter St.Thomas-Kardioplegielösung, auf die Anzahl und Funktion der atrialen Beta-adreno-Rezeptoren hatten.

Weder die Anzahl der Beta-adreno-Rezeptoren, noch das Verhältnis von Beta1 zu Beta2 Rezeptoren wurde beeinflusst. Es zeigte sich allerdings eine signifikante Abnahme der Isoprenalin-induzierten Aktivierung der Adenylatzyklase, wohingegen deren Aktivierung durch nicht-Rezeptor-vermittelte Aktivatoren wie GTP, NaF und Mn^{2+} völlig unverändert geblieben ist. [Schranz et al. 1993]

Die Schädigung liegt demnach im Bereich des Rezeptors oder der Signalkaskade.

Im vorliegenden Versuch mit Bretschneider-Kardioplegie und Isoproterenol erkennt man in der Grafik, dass zwar ein Kraftverlust entstanden ist, jedoch die Ansprechbarkeit der Beta-adreno-Rezeptoren auf Isoproterenol sich nicht verändert hat. Dieses Ergebnis widerspricht den oben genannten Studien. Demnach müsste der Herzmuskel eine entsprechend geringere Reaktion auf Isoproterenol zeigen.

Es ist offenbar nicht zu einer akuten Desensibilisierung oder Downregulation der Beta-adreno-Rezeptoren gekommen. Dies lässt sich anhand des

Versuchsaufbaus erklären. Die verwendete Krebs-Henseleit-Lösung wurde jeweils frisch für jeden „vorher“- und „nachher“- Versuch angesetzt und enthielt keine weiteren Katecholamine, ebenso die Bretschneider-Lösung. Es kann also bedingt durch den Versuchsaufbau während der Kardioplegie- und Reperusionszeit nicht zu einer akuten Desensibilisierung oder Downregulation gekommen sein. Aufgrund der Größe des präparierten Trabekels ist nicht zu vermuten, dass die Freisetzung der darin vorhandenen endogenen Katecholamine zu einer nennenswerten Plasmakonzentration, geschweige denn zu einer Downregulation der Beta-adreno-Rezeptoren geführt hätten. Dieser Teilversuch demonstriert den Kraftverlust, der während Anwendung von kalter (4 °C) Bretschneider-Lösung unter Ischämiebedingungen, bei ruhendem Myokard entstanden ist, ohne Beeinträchtigung der beta-adrenergen Signalkaskade.

Kalzium

Kalzium spielt für die kontraktile Funktion jedes Muskels eine entscheidende Rolle. In diesen Versuchen wird die messbare freie Kalziumkonzentration angegeben und nicht der Wert für das Gesamtkalzium.

Die Versuchsreihe wurde mit einer physiologischen Ausgangskonzentration von einem mmol/l freiem Kalzium begonnen. Der Kraftverlust entspricht auch hier dem der anderen Versuchsreihen.

Bei Konzentrationen im Bereich von ein bis zwei mmol/l steigt die Kraft nahezu parallel zu den Werten der Versuche vor Ischämie und Reperfusion an. Bei Konzentrationen über drei mmol/l kommt es jedoch zu einem steileren Anstieg der Kraft, sodass der Kraftverlust bei Konzentrationen zwischen fünf und sechs mmol/l ausgeglichen ist. Da Hyperkalzämien über zwei mmol/l in vivo einen lebensbedrohlichen Zustand darstellen, kommt natürlich die Behandlung einer postischämischen Kontraktilitätsschwäche durch Gabe von unphysiologisch hohen Dosen Kalzium nicht in Frage. Es ist jedoch interessant zu sehen, dass extrazelluläres Kalzium in hohen Konzentrationen in diesem Fall dazu im Stande ist, den Kraftverlust des ischämischen, reperfundierten Myokards

auszugleichen. In weiteren Studien könnte untersucht werden, wie lange diese kontraktile Kraft erhalten bleibt.

Auf der anderen Seite treten auch hohe intrazelluläre Kalziumkonzentrationen nach Ischämie und besonders bei Reperfusion auf. Diese führen, neben anderen Mechanismen, zu einer Schädigung des Myokards infolge einer Akkumulation von Kalzium. Nach Ischämie und Reperfusion wird der physiologische pH Wert durch Regelmechanismen wiederhergestellt. Der gesteigerte Austausch von Natriumionen (extrazellulär) und Protonen (intrazellulär) ist dabei der entscheidende Mechanismus. Dadurch kommt es zu einer Erhöhung des Austausches von Kalzium (extrazellulär) und Natrium (intrazellulär), sodass eine intrazelluläre Hyperkalzämie entsteht. [Bolli 2003]

Durch Hemmung des Na^+/H^+ Austausches, zum Beispiel mit Eniporide, kann eine intrazelluläre Akkumulation von Kalzium verhindert werden. [Camara et al. 2003, Bolli 2003]

Als eine andere Möglichkeit eine Überladung mit Kalzium nach Reperfusion zu vermindern, wird in der Literatur der Einsatz von nicht-depolarisierender Kardioplegie genannt. [Watanabe et al. 2002]

Ferrera et al. weisen darauf hin, dass auch die Flussrate bei Reperfusion von großer Bedeutung ist. Sie sollte in Abhängigkeit von dem Zustand des Herzens erfolgen. Ischämische Herzen müssen schonend reperfundiert werden, um eine weitere Überladung mit Kalzium zu vermindern. Wohingegen eine schnelle Reperfusion bei nicht-ischämischen Herzen protektiv wirkt. [Ferrera et al. 2002]

Es sollte dabei berücksichtigt werden, dass das postischämische Myokard eine beträchtliche kontraktile und metabolische Reserve besitzt, deren Mobilisation längerfristig einen erhöhten Zelltod zur Folge haben kann. [La Bruno et al. 1998]

4.2 DADLE als Alternative zu Bretschneider-Kardioplegie

Wie die Versuche mit Bretschneider-Kardioplegie gezeigt haben, ist trotz der angewandten hyperkaliämischen Kardioplegie und lokalen Hypothermie die Myokardprotektion unzureichend. Dabei rückt das Phänomen der Hibernation und der ischämischen Präkonditionierung und deren kardioprotektive Effekte in den Mittelpunkt des Interesses. Die Induktion von ischämischer Präkonditionierung durch Erzeugung von Ischämie ist im Vergleich zu pharmakologischer Beeinflussung eher uninteressant oder sogar gefährlich, weil durch zu viel Ischämie leicht eine Nekrose entstehen kann.

Viele Studien beschäftigten sich damit, die endogenen Mediatoren dieser Adaptationen zu identifizieren mit dem Ziel, pharmakologische Alternativen zum Einsatz zu bringen. Neben Adenosin und Alpha-1-adrenozeptor-Agonisten waren auch Opioid-Rezeptor-Agonisten ein Auslöser der Präkonditionierung. [Kevelaitis et al. 1999]

Wie oben bereits genannt, sind Opioid-Rezeptoren auch bei der Hibernation von Säugetieren involviert. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl HIT als auch DADLE imstande waren, Winterschlaf bei Tieren zu induzieren und auch die Überlebenszeit von isolierten peripheren Organen im Rahmen einer Transplantation (Herz, Lunge, Leber, Niere) zu verlängern. [Su 2000]

Die genaue molekulare Zusammensetzung von HIT ist bislang noch nicht bekannt. Es war zwar möglich, ein opioid-ähnliches „alpha 1-glycoprotein-like 88kDa hibernation-related protein“ zu isolieren und teilweise zu charakterisieren, aber bisher konnte nur gezeigt werden, dass DADLE ähnliche Effekte wie ein sogenannter „hibernation-related-factor“, der aus Blutplasma winterschlafender Tiere gewonnen wurde, auszulösen vermochte. [Horton et al. 1998]

DADLE mag zwar unter bestimmten Bedingungen bei Tieren winterschlaf-ähnliches Verhalten hervorrufen. Dass jedoch mehrere Komponenten an dem protektiven Effekt des Winterschlafes beteiligt sind, veranschaulicht die Studie von Sonneborn et al.. Er zeigte, dass ein sich im „Winterschlaf“ befindliches Gewebe Stress besser toleriert. In dem vivo Versuch mit künstlich erzeugter kardialer Ischämie wurden Ratten mit verschiedenen Opioid-ähnlichen Substanzen vorbehandelt und das Stress-Molekül-Transskript, Polyubiquitin,

mit Hilfe eines Northern-Blot bestimmt. Hibernation-induction-trigger (HIT) aus dem Serum von winterschlafenden Murmeltieren und Deltorphin D konnten die Expression des Gesamtpolyubiquitin Transskripts signifikant um den 2,1-fachen und 1,4-fachen Wert in dem ischämischen Gewebe reduzieren. Dagegen war bei den Gruppen mit DADLE und SWAP (summer woodchuck active plasma – aus dem Serum vom Murmeltier im Sommer) kein Unterschied zur Kontrollgruppe zu sehen. [Sonneborn et al. 2004]

Im Sinne der vorliegenden Studie sind natürlich die myokardprotektiven Eigenschaften von DADLE, die ebenfalls in der Literatur beschrieben werden, von großem Interesse.

In einer Studie wurden mit DADLE vorbehandelte Schweineherzen isoliert und 75 Minuten bei Hypothermie (4°C) einer Ischämie ausgesetzt. Anschließend erfolgten 75 Minuten Reperfusion. Die DADLE Versuchsgruppe zeigte gegenüber der Kontrollgruppe eine verbesserte postischämische Funktionalität des kardialen Auswurfs, der Kontraktilität und der linksventrikulären diastolischen Funktion. Des weiteren kam es zu einer signifikanten Reduktion des Laktateffluxes. Gleichzeitig bestand keine Verminderung des Phosphatgehaltes, der auf energiezehrende Prozesse Hinweis geben könnte. [Sigg et al. 2001]

Romano et al. beschrieben die signifikanten myokardprotektiven Effekte von selektiven Delta- und auch von Kappa-Opioidrezeptor-Agonisten. Neben DADLE wurde auch der Kappa-Agonist U-50488H verwendet. [Romano et al. 2004]

Die Wirkungen von Delta- und Kappa-Agonisten unterscheiden sich. Während DADLE imstande war, die Infarktgröße im in vivo Tierversuch signifikant zu senken, zeigte U-50488H lediglich antiarrhythmische Effekte. [Valtchanova-Matchouganska et al. 2003]

Diesbezüglich sollte bedacht werden, dass Oeltgen et al. von einer antagonistischen Wirkung durch Aktivierung von mü- und kappa-Rezeptoren in Bezug auf die Induktion eines Winterschlafes bei Säugetieren berichteten. [Oeltgen et al. 1987]

Ein Vergleich zwischen Kardioplegie mit Vorbehandlung durch HIT oder DADLE und einfacher Kardioplegie ohne Vorbehandlung zeigte eine signifikante

Verbesserung der postischämischen Funktionalität der HIT und DADLE Gruppen. Im Gegensatz dazu konnten bei Gabe von HIT oder DADLE zeitgleich mit der Kardioplegie keine Unterschiede zur Kontrollgruppe ermittelt werden. [Bolling et al. 1997]

Die kardioprotektiven Effekte von DADLE werden zum Teil auch über Sauerstoffradikale vermittelt. In Kombination mit Mannitol, einem Sauerstoffradikalfänger, der in der Herzchirurgie wegen seiner osmotischen Eigenschaften eingesetzt wird, zeigt DADLE in Bezug auf die Verminderung der ischämischen Kontraktur einen additiven Effekt. [Schipke et al. 2004]

In der Literatur wird DADLE bei Tierversuchen in einer Konzentration von einem mg/kg angegeben. [Bolling et al. 1997, Sigg et al. 2002, Summers et al.] In diesen Studien sind die Präparate vor der Ischämie mit DADLE behandelt worden. In der vorliegenden Arbeit werden Konzentrationen in Anlehnung an die Forschungsgruppe Experimentelle Chirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf verwendet. In diesen Studien kam es zu einer Verbesserung der postischämischen systolischen und diastolischen Funktion nach Vorbehandlung mit DADLE. [Schipke et al. 2004]

Der genaue Wirkmechanismus von ischämischer Präkonditionierung und seiner gewebeschonenden Funktion ist bislang nur teilweise erforscht. Neben Opioiden spielen auch andere endogene Substanzen, wie zum Beispiel Bradykinin, Adenosin, Prostaglandine [Sigg et al. 2002] oder Proteinkinasen [Fryer et al. 2001] eine entscheidende Rolle.

In einem Tierversuch erzeugte DADLE eine Verbesserung der funktionellen Konservierung von gekühlten Herzen, wie sie bei Transplantationen Anwendung finden. DADLE und TAN-67 waren imstande, die Größe eines künstlich erzeugten Herzinfarktes bei Rattenherzen signifikant zu reduzieren. Der protektive Effekt von TAN-67 ließ sich mit dem Delta-1-selektiven-opioid Antagonisten BTNX (7-benzylidenenaltrexone) und bei DADLE mit dem PKC-Antagonisten Chelerythrin komplett antagonisieren. Mit Hilfe von Rottlerin (PKC-delta-selektiver Antagonist) konnte gezeigt werden, dass die PKC-Isoform Delta die Schlüssel Rolle als second messenger des kardioprotektiven Effektes durch Delta-1-opioid-Rezeptor Stimulation einnimmt. [Fryer et al. 2001]

Der Begriff Winterschlaf beziehungsweise Hibernation kann in Zusammenhang mit der myokardprotektiven Wirkung von DADLE missverständlich sein. Den

Begriffen „*hibernating myocardium*“ [Monin et al. 2000, Dispersyn et al. 2000, Heusch et al. 2002, Vogt et al. 2003, Milei et al. 2004] und „*short-term hibernating myocardium*“ [Schulz et al. 2000, Stumpe et al. 2001] liegen unterschiedliche Mechanismen zugrunde, die beide in keinem Zusammenhang mit der Aktivierung von Delta-Opioid-Rezeptoren zu stehen scheinen. Unter Hibernation im Tierreich sind andere Vorgänge zu verstehen als unter „myokardialer Hibernation“.

Der Begriff des „*Short-term hibernating*“ Myokard wurde von Schulz et al. näher beschrieben. [Heusch 1998, Schulz 2003]

Es handelt sich dabei um einen zeitlich begrenzten Anpassungsmechanismus, der eine Reduktion der kontraktile Funktion proportional zu der verminderten Durchblutung bewirkt. Während der frühen initialen Phase einer Ischämie bestimmt so das Ausmaß der Restdurchblutung das Ausmaß der kontraktile Funktion, und es entsteht ein Gleichgewicht zwischen Durchblutung und Kontraktion („*perfusion-contraction matching*“) [Heusch et al. 1998, Kim et al. 2003]. Nicht jede Durchblutungsreduktion ist mit der Entstehung des „*short-term hibernating*“ Myokard vereinbar. Unterschreitet die Restdurchblutung eine kritische Grenze, so entstehen Myokardinfarkte. Eine subendokardiale Durchblutung von 0,17 ml/min/g beziehungsweise eine transmurale myokardiale Durchblutung von 0,25 ml/min/g ist mit der Entstehung von „Hibernation“ vereinbar. [Schulz 2003]

Weitere Merkmale des „*short-term hibernating*“ Myokards sind eine allmähliche Erholung und Normalisierung der ischämie-induzierten Störung des Substrat- und Energiestoffwechsels. Die erhöhte Laktatproduktion, der Anstieg des koronarvenösen pCO_2 , die Abnahme des koronarvenösen pH Wertes sowie die Reduktion des myokardialen Kreatinphosphatgehaltes normalisierten sich bei gleich bleibend geringer Durchblutung und proportional verminderter Kontraktilität.

Allerdings kommt es nach zwölf bis 24 Stunden anhaltender Myokardischämie zu einer weiteren Abnahme der kontraktile Funktion bei unverändert reduzierter Durchblutung, und das „*perfusion-contraction matching*“ wird durch ein Metabolismus-Kontraktions-Gleichgewicht abgelöst, wobei sich sogar auch der myokardiale ATP-Gehalt wieder normalisiert. Interessanterweise lässt sich durch inotrope Stimulation mit Dobutamin die Kontraktilität steigern. Die

vermehrte Kraft geht allerdings auf Kosten der metabolischen Erholung und resultiert in einem Ungleichgewicht zwischen Energieangebot und Energiebedarf.

Der Mechanismus des „short-term hibernating“ Myokard ist weitestgehend unerforscht. Eine Aktivierung ATP-abhängiger Kalium-Kanäle, Adenosin, endogenes Stickstoffmonoxid, endogene Opioide sowie eine Veränderung auf der Ebene der Beta-adreno-Rezeptoren können nach Schulz als grundlegende Mechanismen ausgeschlossen werden. [Schulz 2003]

Vermutlich ist eine verminderte Sensitivität der kontraktilen Filamente gegenüber Kalzium [Heusch 1998], eine substantielle Reduktion des systolischen Kalziums [Stumpe et al. 2001] oder vielmehr eine Reduktion der maximal aktivierbaren Kraft der kontraktilen Filamente [Schulz 2003] als Ursache für das Auftreten dieses Phänomens verantwortlich.

Morphologisch kommt es zu zellulären Umverteilungen mit Zellhypertrophie, verlängerten Aktionspotentialen, verminderter L-Typ Kalziumstrom und Kalziumfreisetzung. [Bito et al. 2004]

Dem gegenüber steht der oben bereits erwähnte Terminus „*chronic hibernating*“ Myokard beziehungsweise „*hibernating myocardium*“. Dieser Zustand ist definiert als Vorhandensein chronischer Ischämie mit schmerzloser kontraktile Dysfunktion, der nach Reperfusion potentiell reversibel ist. [Monin et al. 2000]

Die Diagnostik dieses Zustandes erweist sich als kompliziert. Thallium-201-Szintigraphie, Dobutamin-Echokardiographie und Radionuklid-Ventrikulographie sind als geeignete Verfahren zu nennen. [Elasser et al. 2004]

So ein Zustand kann bei Patienten mit verschiedenen Ausprägungen der koronaren Herzkrankheit bestehen: bei Patienten mit instabiler Angina pectoris, bei Patienten mit chronisch stabiler Angina pectoris, bei Patienten mit Myokardinfarkt im nicht-infarzierten Myokard und bei Patienten mit Herzinsuffizienz. [Schulz 2003]

Auch im Tierversuch kam es bei andauerndem myokardialen „stunning“ bei Verminderung des koronaren Blutflusses um 30 %, zu dem Phänomen des „hibernating myocardium“. [Kim et al. 2003]

Dabei gibt es ein Fortschreiten vom Zustand des chronischen „stunning“ mit normaler Durchblutung in den Zustand des „hibernating myocardium“ mit verminderter Restdurchblutung. [Canty et al. 2000]

Im Gegensatz zu dem „*short-term hibernating*“ Myokard kommt es zu erheblichen morphologischen Veränderungen.

Es wird das Auftreten von apoptotischen Herzmuskelzellen und mit Ubiquitin zusammenhängenden autophagischen Zellen beschrieben, die einen Zelltod bewirken und damit die funktionelle Erholung im „*hibernating myocardium*“ des Menschen beeinträchtigen. [Elsasser et al. 2004]

Es zeigt sich eine Entdifferenzierung mit Verlust von Kardiomyozyten und Myofibrillen. Außerdem entsteht das Bild einer Degeneration mit Vergrößerung der interstitiellen Fibrose durch Induktion von Zytokinen und Chemokinen mit begleitender Entzündungsreaktion [Heusch et al. 2002] und Desorganisation von Proteinen des Zytoskelettes. [Frangogiannis 2003]

Mit der Einführung des Terminus „*hibernating myocardium*“ wurde auch vom „smart heart“ (schlaues Herz) gesprochen. Doch ist das Herz wirklich so schlau? [Dispersyn et al. 2000] Auf der einen Seite begleitet der Zelltod den Zustand des „*hibernating myocardium*“, sodass eine Reperfusion ohne Verzögerung durchgeführt werden sollte. [Dispersyn et al. 2000] Auf der anderen Seite wird von besserer Resistenz gegenüber Ischämie/Reperfusionsschäden und von adaptiven Mechanismen an längere Ischämiezeiten gesprochen. [Milei et al. 2004]

Selbst wenn also das Myokard trotz chronischer Minderperfusion vital bleibt und grundsätzlich eine Reversibilität gegeben ist, bestehen schwere morphologische Veränderungen. Die vollständige Erholung des Myokards kann deshalb Monate dauern. [Schulz 2003]

Die myokardprotektiven Effekte von DADLE entsprechen eher dem Phänomen der Ischämischen Präkonditionierung „ischemic preconditioning“.

Wie oben bereits erwähnt, ist die Wirkung von Opioid-Rezeptor-Agonisten wie DADLE nicht auf das Myokard beschränkt. Es liegen viele Studien über die Stoffwechsel reduzierende Wirkung von DADLE auch auf andere Organsysteme vor.

Die Versuchsreihen unterscheiden sich nur durch den Austausch von Bretschneider-Lösung (Custodiol ®) mit DADLE-Krebs-Henseleit-Lösung

während der ischämischen Phase. Die Kraftveränderungen lassen sich also direkt auf den Austausch dieser beiden Lösungen beziehen. Der Kraftverlust unter DADLE-Kardioplegie ist minimal. Das was unter Bretschneider-Kardioplegie eine Schädigung des Myokards verursacht und zu einem Kraftverlust geführt hat, tritt bei DADLE Kardioplegie nicht auf. Natürlich muss man in diesem Versuch bedenken, dass das schlagende Herz nicht wie in vivo durch die Einleitung kardiopleger Lösung zum Stillstand gebracht wird, sondern durch Abschalten der elektrischen Stimulation. Da die 4 °C kalte DADLE-Lösung aber keine hohen Konzentrationen Kalium oder Procain enthält, würde das pulsierende Herz allein durch die lokale Hypothermie zum Flimmern und schließlich zum Stillstand kommen. Diese Zeit muss natürlich sehr kurz sein, und es gilt zu überlegen, wie dieses Problem in der Herzchirurgie praktisch zu lösen wäre.

Es bedarf weiterer Überprüfungen, ob sich mit DADLE in Kombination mit Bretschneider- oder einer anderen kardioplegen Lösung auch eine vergleichbar effektive Myokardprotektion erzielen lässt.

Eine weitere Alternative dazu stellt die Blutkardioplegie dar. Es müssen dabei verschiedene Formen der Anwendung unterschieden werden. Allen gemeinsam ist die Verwendung einer Blutkardioplegie-Lösung , die viel Kalium enthält und mit geringem Perfusionsdruck zum Einsatz kommt. [Allen 2004]

In einer aktuellen norwegischen Studie wurde kalte Kristalloid- und kalte Blutkardioplegie miteinander verglichen. Bei 1440 Patienten, die eine koronare Bypassoperation erhielten, zeigten sich in Bezug auf intra- oder postoperative Komplikationen sowie in Bezug auf die Mortalität keine signifikanten Unterschiede. [Ovrum et al. 2004]

Im Vergleich zur kalten Blutkardioplegie liegen für die Verwendung von warmer Blutkardioplegie (28 – 35 °C) ganz andere Ergebnisse vor.

Bei Temperaturen der Blutkardioplegielösung von 28 °C ist das ischämische Herz fähig, mehr Sauerstoff und Glukose zu verwerten und ist somit besser vor Schädigung geschützt. Unter Einsatz der kalten Blutkardioplegie (6 °C) kam es zu einer höheren Laktatproduktion und stärkeren postoperativen Einschränkung der linksventrikulären Funktion. [Badak et al 2005]

In einer anderen Studie kam es bei warmer Blutkardioplegie im Gegensatz zu Kristalloidkardioplegie zu keiner signifikanten Schädigung der Mitochondrien nach Ischämie und Reperfusion. [Ferreira et al. 2003]

Natürlich kann durch warme Blutkardioplegie kein Schaden komplett verhindert werden.

Es konnte aber gezeigt werden, dass terminale warme Blutkardioplegie in Kombination mit Bretschneider-Kardioplegie den Reperfusionsschaden vermindern kann. [Morishita et al. 1999]

Auch hier spielt der Faktor Zeit eine überragende Rolle. Je länger der Zeitraum des kardialen Arrests und damit der Ischämie ist, desto mehr Schaden entsteht an den Herzmuskelzellen, insbesondere durch Schädigung der Mitochondrien. Mit immunozytochemischen Methoden konnte das Auftreten von Apoptose bei myokardialen Zellen nach Einsatz von warmer Blutkardioplegie nachgewiesen werden.

Das erhöhte Vorkommen von Urocortin wurde ebenfalls beschrieben. Interessanterweise lagen erhöhte Werte dieses endogenen kardialen Peptids nur in nicht-apoptotischen Zellen vor, sodass eine kardioprotektive Funktion dieses Stoffes angenommen wird. [Scarabelli et al. 2004]

4.3 Schlussfolgerungen

Bei den Versuchen mit Bretschneider-Kardioplegie zeigt sich jeweils ein deutlicher Kraftverlust nach Ischämie und Reperfusion, während bei den Versuchen mit DADLE der Kraftverlust nur minimal ist. Das lässt bei sonst identischem Versuchsaufbau darauf schließen, dass DADLE eine effektivere Protektion des Myokards zu gewährleisten vermag.

DADLE wurde in diesem Fall nicht zur Vorbehandlung des Muskels vor der Ischämie eingesetzt sondern zeitgleich mit Beginn der Ischämie. Es wurde gezeigt, dass auch diese Form der Anwendung eine schützende Wirkung aufweist.

DADLE ist zwar imstande, eine protektive Reaktion des myokardialen Gewebes hervorzurufen, aber dadurch, dass die genaue Zusammensetzung von HIT noch nicht bekannt ist und DADLE vermutlich nur Ähnlichkeit mit HIT besitzt, aber nicht identisch mit ihm ist, kann eine wirkliche Winterschlafreaktion nicht ausgelöst werden.

Auch wenn bislang kein DADLE Präparat am Menschen in vivo getestet wurde ergeben sich eine Vielzahl von interessanten klinischen Einsatzmöglichkeiten.

Im Zusammenhang mit dieser Arbeit könnte eine Vorbehandlung mit DADLE oder dessen Einsatz während der extrakorporalen Zirkulation zur Myokardprotektion bei regulären aortokoronaren Bypass Operationen denkbar sein. Vielleicht besteht auch die Möglichkeit, DADLE im Rahmen einer intermittierenden Blutkardioplegie zu verwenden.

Des weiteren könnte DADLE auch in der Transplantationsmedizin zu einer Verlängerung der Spenderorgankonservierungszeit beitragen.

Auch bei ischämisch bedingten Myopathien wäre eine Stoffwechselreduktion durch Verwendung von DADLE von großem Nutzen.

Auch im Rahmen eines hämorrhagischen Schocks mit ischämisch bedingtem drohenden Organversagen könnte eine herabgesetzte Stoffwechsellage von Vorteil sein.

5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden an 50 präparierten Trabekeln von menschlichem Herzmuskelgewebe, Untersuchungen zur myokardialen Kontraktilität durchgeführt. Der Anwendung myokardprotektiver Bretschneider-Lösung, die bereits langjährig im Einsatz ist, wurden die ebenfalls myokardprotektiven Wirkungen des Delta-Opioid-Agonisten, DADLE ([D-Ala(2)-D-Leu(5)]-enkephalin), gegenübergestellt.

Da DADLE eine ähnliche Struktur wie eine „winterschlaf-auslösende“ Triggersubstanz aufweist, mussten Begriffe wie „hibernating-myocardium“ und „ischemic preconditioning“ definiert und Unterschiede zwischen dem biologischen Begriff „Winterschlaf“ gezeigt werden.

Die Trabekel wurden in einem Muskelkontraktions-Apparat mit einer Krebs-Henseleit-Lösung perfundiert und nach einer Einschlagphase von 60 Minuten einer 15 minütigen Ischämie mit Bretschneider-Lösung (n=30) oder DADLE (n=20) ausgesetzt. Danach folgte eine ebenfalls 15 minütige Reperfusionphase. Vor und nach der Ischämie/Reperfusion erfolgte eine Messung der Kontraktionskraft.

Die Trabekel wurden in fünf Gruppen eingeteilt: 1. Kraft-Frequenz-Beziehung und Bretschneider-Kardioplegie; 2. Isoproterenol und Bretschneider-Kardioplegie; 3. Kalzium und Bretschneider-Kardioplegie; 4. Isoproterenol und DADLE; 5. Kalzium und DADLE. Bei allen Gruppen kam es postischämisch zu einer Einschränkung der Kontraktionskraft. Bei identischem Versuchsaufbau kam es bei den Versuchsreihen mit DADLE zu einem geringeren postischämischen Kraftverlust.

Das bekräftigte die Hypothese, dass DADLE imstande ist, die Schädigung menschlichen Herzmuskelgewebes während einer Phase von Ischämie und Reperfusion zu begrenzen. Die Wirkungsweise von DADLE ist bislang unklar. Diskutiert wird eine Wirkung über Öffnung von ATP-sensiblen Kaliumkanälen und über einen Eingriff in den Kalzium-Haushalt der Zelle.

Für die Substanz DADLE wäre ein klinischer Einsatz in Bezug auf ihre kardioprotektiven Eigenschaften denkbar, zum Beispiel als Additiv in kardioplegischen Lösungen.

6. Literaturverzeichnis

1. **Allen BS:**
Pediatric myocardial protection: a cardioplegic strategy is the "solution".
Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu 2004;7:141-154
2. **Badak MI, Gurcun U, Discigil B, Boga M, Ozkisacik EA, Alayunt EA:**
Myocardium utilizes more oxygen and glucose during tepid blood cardioplegic infusion in arrested hearts.
Int Heart J 2005;46:219-229
3. **Bavendiek U, Brixius K, Munch G, Zobel C, Müller-Ehmsen J, Schwinger RH:**
Effect of inotropic interventions on the force-frequency relation in human heart.
Basic Res Cardiol 1998;93:76-85
4. **Bito V, Heinzel FR, Weidemann F, Dommke C, van der Velden J, Verbeken E, Claus P, Bijmens B, De Scheerder I, Stienen GJ, Sutherland GR, Sipido KR:**
Cellular mechanisms of contractile dysfunction in hibernating myocardium.
Circ Res 2004;94:794-801
5. **Bolli R:**
The role of sodium-hydrogen ion exchange in patients undergoing coronary artery bypass grafting.
J Card Surg 2003;18:21-26
6. **Bolling SF, Benedict MB, Tramontini NL, Harlow H, Kilgore KS, Oeltgen PR:**
Mechanism of hibernation induction trigger enhanced myocardial protection.
23rd Annual meeting of the Western Thoracic Surgical Association. Silverado Country Club, Napa, CA 1997;June 25-28
7. **Bolling SF, Benedict MB, Tramontini NL, Kilgore KS, Harlow HH, Su TP, Oeltgen PR:**
Hibernation triggers and myocardial protection.
Circulation 1998;98:220-224
8. **Bolling SF, Su TP, Childs KF, Ning X, Horton ND, Kilgore KS, Oeltgen PR:**
The use of hibernation induction triggers for cardiac transplant preservation.
Transplantation 1997;63:326-329
9. **Bolling SF, Tramontini NL, Kilgore KS, Su TP, Harlow H, Oeltgen PR:**
The use of "natural" hibernation induction triggers for myocardial protection.
Ann Thorac Cardiovasc Surg 1997;64:623-627

10. **Booth JV, Landolfo KP, Chesnut LC, Bennett-Guerrero E, Gerhardt MA, Atwell DM, El-Moalem HE, Smith MS, Funk BL, Kuhn CM, Kwatra MM, Schwinn DA:**
Acute Depression of Myocardial Beta-Adrenergic Receptor Signaling during Cardiopulmonary Bypass.
Anaesthesiology 1998;89:602-611

11. **Bretschneider HJ, Hübner G, Knoll D, Lohr B, Nordbeck H, Spieckermann PG:**
Myocardial resistance and tolerance to ischemia: Physiological and biochemical basis.
J Cardiovasc Surg 1975;16:241-260

12. **Bretschneider HJ:**
Myocardial protection.
Thorac Cardiovasc Surg 1980;28:295-302

13. **Brett W, Mandinova A, Remppis A, Sauder U, Ruter F, Heizmann CW, Aebi U, Zerkowski HR:**
Translocation of S100A1(1) calcium binding protein during heart surgery.
Biochem Biophys Res Commun 2001;284:698-703

14. **Bruce DS, Ambler DL, Henschel TM, Oeltgen PR, Nilekani SP, Amstrup SC:**
Suppression of guinea pig ileum induced contractility by plasma albumin of hibernators.
Pharmacol Biochem Behav 1992;43:199-203

15. **Bruce DS, Bailey EC, Crane SK, Oeltgen PR, Horton ND, Harlow HJ:**
Hibernation-induction trigger. I.Opioid-like effects of prairie dog plasma albumin on induced contractility of guinea pig ileum.
Pharmacol Biochem Behav 1997;58:621-625

16. **Bruce DS, Cope GW, Elam TR, Ruit KA, Oeltgen PR, Su TP:**
Opioids and hibernation. I.Effects of naloxone on bear HIT's depression of guinea pig ileum contractility and on induction of summer hibernation in the ground squirrel.
Life Sci 1987;41:2107-2113

17. **Bruce DS, Cox DE, Crane SK, Denholm ML, Dhyanchand RJ, Hampl MJ, Kary JA, Krober AS, Oeltgen PR, Horton ND, Harlow HJ:**
Hibernation-induction trigger. II. In vitro effects of prairie dog plasma albumin on mouse vas deferens contractility.
Pharmacol Biochem Behav 1997;58:627-630

18. **Bruce DS, Darling NK, Seelanf KJ, Oeltgen PR, Nilekani SP, Amstrup SC:**
Is the Polar Bear (*ursus maritimus*) a hibernator?: Continued studies on opioids and hibernation.
Pharmacol Biochem Behav 1990;35:705-711

19. **Camara AK, An J, Chen Q, Novalija E, Varadarajan SG, Schelling P, Stowe DF:**
Na⁺/H⁺ exchange inhibition with cardioplegia reduces cytosolic [Ca²⁺] and myocardial damage after cold ischemia.
J Cardiovasc Pharmacol 2003;41:686-698
20. **Canty JM, Fallavollita JA:**
Chronic hibernation and chronic stunning: a continuum.
J Nucl Cardiol 2000;7:509-527
21. **Carrel T, Schmidt J:**
Schlaglichter 2003 – Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie.
Schweiz Med Forum 2003;51/52:1282-1283
22. **Cohen G, Borger MA, Weisel RD, Rao V:**
Intraoperative myocardial protection: current trends and future perspectives.
Ann Thorac Surg 1999;68:1995-2001
23. **Dawe AR, Spurrier WA:**
Hibernation induced in ground squirrels by blood transfusion.
Science 1969;163:298-299
24. **Dispersyn GD, Borgers M, Flameng W:**
Apoptosis in chronic hibernating myocardium: sleeping to death?
Cardiovasc Res 2000;45:696-703
25. **Edmunds LH:**
Advances in the heart-lung machine after John and Mary Gibbon.
Ann Thorac Surg 2003;76:2220-2223
26. **Eldrup N, Rasmussen NH, Yndgaard S, Bigler D, Berthelsen PG:**
Impact of off-pump coronary artery surgery on myocardial performance and beta-adrenoceptor function.
J Cardiothorac Vasc Anesth 2001;15:428-432
27. **Elsasser A, Vogt AM, Nef H, Kostin S, Mollman H, Skwara W, Bode C, Hamm C, Schaper J:**
Human hibernating myocardium is jeopardized by apoptotic and autophagic cell death.
J Am Coll Cardiol 2004;43:2191-2199
28. **Ferreira R, Fraga C, Carrasquedo F, Hourquebie H, Grana D, Milei J:**
Comparison between warm blood and crystalloid cardioplegia during open heart surgery.
International Journal of Cardiology 2003;90:253-260

29. **Ferrera R, Michel P:**
Adaptation of perfusion flow during reperfusion to protect ischemic myocardium from calcium loading.
Ann Cardiol Angeiol (Paris) 2002;51:225-229

30. **Frangogiannis NG:**
The pathological basis of myocardial hibernation.
Histol Histopathol 2003;18:647-655

31. **Fryer RM, Wang Y, Hsu AK, Gross GJ:**
Essential activation of PKC-delta in opioid-initiated cardioprotection
Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001;280:1346-1353

32. **Gebhard MM, Preuße CJ, Schnabel PA:**
Different effects of cardioplegic solution HTK during Single or intermittent administration.
Thorac Cardiovasc Surg 1984;32:271-276

33. **Gerhardt MA, Booth JV, Chesnut LC, Funk BL, El-Moalem HE, Kwatra MM, Schwinn DA:**
Acute myocardial beta-adrenergic receptor dysfunction after cardiopulmonary bypass in patients with cardiac valve disease.
Circulation 1998;98:275-281

34. **Gibbon JH:**
Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery.
Minn Med 1954;37:171-185

35. **Gyang EA, Kosterlitz HW:**
Agonists and antagonists actions of morphine-like drugs on isolated guinea-pig ileum.
Br J Pharmacol Chemother 1966;27:514-527

36. **Hasenfuss G, Reinecke H, Studer R, Meyer M, Pieske B, Holtz J, Holubarsch C, Posival H, Just H, Drexler H:**
Relation between myocardial function and expression of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in failing and nonfailing myocardium.
Circ Res 1994;75:434-442

37. **Hermann HP, Zeitz O, Keweloh B, Hasenfuss G, Janssen PML:**
Pyruvate potentiates inotropic effects of isoproterenol and Ca²⁺ in rabbit cardiac muscle preparations.
Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000;279:702-708

38. **Heusch G, Schulz R:**
Hibernating myocardium: a review.
JMCDA 1996;28:2359-2372

39. **Heusch G, Schulz R:**
Short term hibernating myocardium: circulation function and metabolism in sustained regional myocardial ischemia.
Z Kardiol 1998;87:41-48
40. **Heusch G; Schulz R:**
Myocardial hibernation.
Ital Heart J 2002;3:282-284
41. **Hoelscher B:**
Studies by electron microscopy on effects of magnesium chloride-procaine amide or potassium citrate on the myocardium in induced cardiac arrest.
J Cardiovasc surg (Torino) 1967;8:163-166
42. **Horton ND, Kaftani DJ, Bruce DS, Bailey EC, Krober AS, Jones JR, Turker M, Khattar N, Su TP, Bolling SF, Oeltgen PR:**
Isolation and partial characterization of an opioid-like 88 kDa hibernation-related protein.
Comparative Biochemistry and Physiology Part B 1998;119:787-805
43. **Kaplan JA:**
Pathophysiology of the perioperative low output syndrome.
Eur J Anaesthesiology 1992;5:3-6
44. **Kevelaitis E, Peynet J, Mouas C, Launay JM, Menaschè P:**
Opening of Potassium Channels – the common cardioprotective link between preconditioning and natural hibernation.
Circulation 1999;99:3079-3085
45. **Kim SJ, Peppas A, Hong SK, Yang G, Huang Y, Diaz G, Sadoshima J, Vatner DE, Vatner SF:**
Persistent stunning induces myocardial hibernation and protection: flow/function and metabolic mechanisms.
Circ Res 2003;92:1233-1239
46. **Krian A:**
34. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie (DGTHG) in Hamburg (2005)
Prof. Dr. Arno Krian vom Herzzentrum Duisburg, künftiger Präsident der DGTHG
47. **LaBruno S, Naim KL, Li JK, Drzewiecki G, Kedem J:**
Beta-adrenergic stimulation of reperfused myocardium after 2-hour ischemia.
J Cardiovasc Pharmacol 1998 Oct;32(4):535-542.

48. **Legare JF, Buth KJ, King S, Wood J, Sullivan JA, Friesen CH, Lee J, Stewart K, Hirsch GM:**
Coronary bypass surgery performed off pump does not result in lower in-hospital morbidity than coronary artery bypass grafting performed on pump.
Circulation 2004;109:887-892
49. **Meyer M, Lehnart S, Pieske B, Schlottauer K, Munk S, Holubarsch C, Just H, Hasenfuss G:**
Influence of endothelin 1 on human atrial myocardium – myocardial function and subcellular pathways.
Basic Res Cardiol 1996;91:86-93
50. **Milei J, Fraga CG, Grana DR, Ferreira R, Ambrosio G:**
Ultrastructural evidence of increased tolerance of hibernating myocardium to cardioplegic ischemia-reperfusion injury.
J Am Coll Cardiol 2004;43:2329-2336
51. **Monin JL, Duval AM, Garot J, Gueret P:**
Chronic ischemic left ventricular dysfunction: myocardial hibernation?
Arch Mal Coeur Vaiss 2000;93:291-299
52. **Morishita A, Kitamura M, Ishitoya H, Hachida M, Endoh M, Koyanagi H:**
Efficiency of terminal warm blood cardioplegia in combination with Bretschneider-HTK solution for myocardial protection.
Kyobu Geka 1999;52:831-835
53. **Mulieri LA, Hasenfuss G, Ittleman F, Blanchard EM, Alpert NR:**
Protection of human left ventricular myocardium from cutting injury with 2,3-butanedione monoxime.
Circ Res 1989;65:1441-1444
54. **Oeltgen PR, Bergmann LC, Spurrier WA, Jones SB:**
Isolation of a hibernation inducing trigger(s) from the plasma of hibernating woodchucks.
Prep Biochem 1978;7:171-188
55. **Oeltgen PR, Nikelani SP, Nuchols PA, Spurrier WA, Su TP:**
Further studies on opioids and hibernation: Delta opioid receptor ligand selectivity induced hibernation in summer-active ground squirrels.
Life Sci 1988;43:1565-1574
56. **Oeltgen PR, Walsh JW, Hamann SR, Randall DC, Spurrier WA, Myers RD:**
Hibernation „trigger“: opioid-like inhibitory action on brain function of the monkey.
Pharmacol Biochem Behav 1982;41:2115-2120

57. **Oeltgen PR, Welborn JR, Nuchols PA, Spurrier WA, Bruce DS, Su TP:**
Opioids and hibernation. II. Effects of kappa opioid U69593 on induction of hibernation in summer-active ground squirrels by "hibernation-induction trigger" (HIT)
Life Sci 1987;41:2115-2120

58. **Ovrum E, Tangen G, Tollofsrud S, Oystese R, Ringdal MA, Istad R:**
Cold blood cardioplegia versus cold crystalloid cardioplegia: a prospective randomized study of 1440 patients undergoing coronary artery bypass grafting.
J Thorac Cardiovasc Surg 2004;128:860-865

59. **Papp L, Gombocz K, Wrana G, Alotti N, Varrp M, Feiler E, Boronyak A, Simon J, Kecskes G, Vigh A:**
Low cardiac output following open heart surgery and catecholamine therapy.
Orv hetil 1999;140:179-185

60. **Raghuram AR, Sayeed MR, Girinath MR:**
Off-pump versus on-pump CABG: a comparison
Indian Heart J 2002;54:379-383

61. **Rahimtoola SH:**
Chronic myocardial hibernation (letter, comment).
Circulation 1994;89:1907-1908

62. **Rebeyka IM, Axford-Gatley RA, Bush BG:**
Calcium paradox in an in vivo model of multidose cardioplegia and moderate hypothermia. Prevention with diltiazem or trace calcium levels.
J Thorac Cardiovasc Surg 1990;99:475-483

63. **Romano MA, McNisch R, Seymour EM, Traynor JR, Bolling SF:**
Differential effects of opioid peptides on myocardial ischemic tolerance.
J Surg Res 2004;119:46-50

64. **Scarabelli TM, Pasini E, Ferrari G, Ferrari M, Stephanou A, Lawrence K, Townsend P, Chen-Scarabelli C, Gitti G, Saravolatz L, Latchman D, Knight RA, Gardin JM:**
Warm blood cardioplegic arrest induces mitochondrial-mediated cardiomyocyte apoptosis associated with increased urocortin expression in viable cells.
J Thorac Cardiovasc Surg 2004;128:364-371

65. **Schipke JD, Nickel F, Gams E, Sunderdiek U:**
Protective effects of a delta-opioid receptor agonist and an oxygen radical scavenger on postischemic hearts.
Herz 2004;29:331-340

66. **Schulz R:**
Herzmuskel im Winterschlaf: Endogene kardioprotektive Mechanismen: Myokardiales "Hibernation" und „Ischemic preconditioning“
Essener Unikate 2003;20:8-17
67. **Sergeant P, Wouters P, Meyns B, Bert C, van Hemelrijck J, Bogaerts C, Sergeant G, Slabbaert K:**
OPCAB versus early mortality and morbidity: an issue between clinical relevance and statistical significance.
European Journal of Cardio-thoracic Surgery 2004;25:779-785
68. **Sigg DC, Coles JA, Gallagher WJ, Oeltgen PR, Iazzo PA:**
Opioid preconditioning: myocardial function and energy metabolism.
Ann Thorac Surg 2001;72:1576-1582
69. **Sigg DC, Coles JA, Gallagher WJ, Oeltgen PR, Iazzo PA:**
Role of δ -opioid receptor agonists on infarct size reduction in swine.
Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002;282:1953-1960
70. **Sonneborn JS, Gottsch H, Cubin E, Oeltgen P, Thomas P:**
Alternative strategy for stress tolerance: opioids.
J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2004;59:433-440
71. **Storey KB:**
Natural hypothermic preservation: The mammalian hibernator.
Journal of Cell Preservation Technology 2002; :
72. **Stumpe T, Schrader J:**
Short-term hibernation in adult cardiomyocytes is PO(2) dependent and Ca(2+) mediated.
Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001;280:42-50
73. **Su TP:**
Delta opioid peptide [D-Ala(2), D-Leu(5)]enkephalin promotes cell survival.
J Biomed Sci 2000;7:195-199
74. **Summers RL, Li Z, Hildebrandt D:**
Effect of a δ -receptor agonist on duration of survival during hemorrhagic shock.
Department of emergency medicine and department of Neurosurgery, University of Mississippi Medical Center, Jackson MS
75. **Watanabe M, Egi K, Shimizu M, Nakahara H, Tanaka H, Sakamoto T, Sunamori M:**
Non-depolarizing cardioplegia activates Ca²⁺-ATPase in sarcoplasmic reticulum after reperfusion.
Eur J Cardiothorac Surg 2002;22:951-956

76. **Zimmer HG:**
The heart-lung machine was invented twice – the first by Max von Frey.
Clinical Cardiology 2003;26:443-445

7. Lebenslauf

Name	Elmar Wolfrum
Wohnort	Dresdner Strasse 49 71111 Waldenbuch Tel.: 07157 537560
Geburtsdatum	24.02.1978
Geburtsort	Göttingen
Familienstand	verheiratet, ein Kind
Nationalität	deutsch
Konfession	evangelisch-freikirchlich

Schulbildung

1985 – 1989	Grundschule Herberhausen (Göttingen)
1989 – 1991	Orientierungsstufe Lutherschule (Göttingen)
1991 – 1997	Europaschule Theodor-Heuss-Gymnasium (Göttingen) Abitur 1997 mit Note 2,6
07 – 12 / 1994	Southfield-Christian-School (Southfield, Michigan U.S.A)

Zivildienst

10/1997 – 11/1998	Krankenhaus Neu-Bethlehem (Göttingen)
-------------------	---------------------------------------

Weiterbildung

04/99 – 07/99	Bibelschule Kirchberg (Kirchberg/Jagst)
---------------	---

Studium

10 / 1999 – 4 / 2005	Studium der Humanmedizin an der Universität Ulm 2001 Ärztliche Vorprüfung mit Note 2,66 2002 Erstes Staatsexamen mit Note 3,0 2005 Zweites Staatsexamen mit Note 2,66 2006 Drittes Staatsexamen im Mai 2006
----------------------	---

Praktisches Jahr

04/2005 – 04/2006	
Innere Medizin	Karl-Olga-Krankenhaus (Stuttgart)
Chirurgie	Karl-Olga-Krankenhaus (Stuttgart)
Orthopädie	Baumann-Klinik (Stuttgart)

Ärztliche Tätigkeit

Seit 07/2006	Chirurgie und Unfallchirurgie Klinikum Nürtingen CA Dr. Bopp und CA Dr. Kraft
--------------	--