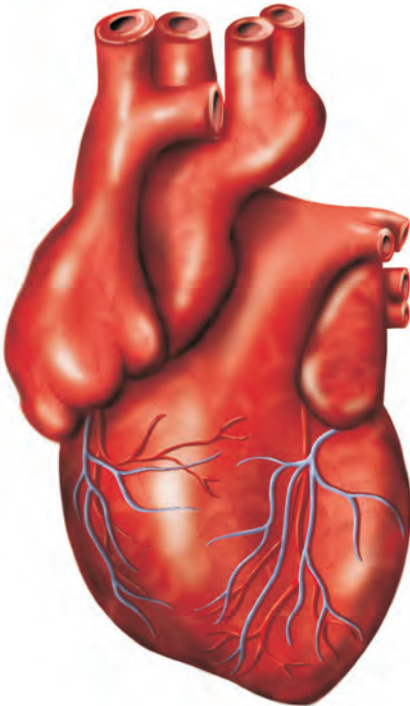


# EINFLUSS PRÄ-ISCHÄMISCHER $\beta$ -ADRENOZEPTOR- STIMULATION AUF DIE POST-ISCHÄMISCHE FUNKTIONSERHOLUNG

**THORSTEN BJÖRN MAIER**



**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Medizin  
des Fachbereiches Humanmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen



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

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

1. Auflage 2009

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

1<sup>st</sup> Edition 2009

© 2009 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

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

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

**Einfluss prä-ischämischer  $\beta$  -Adrenozeptorstimulation  
auf die post-ischämische Funktionserholung**

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Medizin  
des Fachbereiches Humanmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

**Thorsten Björn Maier**

aus Bochum

Gießen 2009

Aus dem Physiologischen Institut  
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. rer. nat. K.-D. Schlüter

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. K.-D. Schlüter

Gutachter: PD. Dr. rer. nat. B. Siegmund

Tag der Disputation: 26.10.2009

*Für meine Eltern*



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Myokardinfarkt . . . . .	1
1.2	Myokardialer Ischämieschaden . . . . .	2
1.2.1	Energiedefizit . . . . .	2
1.2.2	Intrazelluläre Azidose . . . . .	3
1.2.3	Na <sup>+</sup> -Überladung . . . . .	4
1.2.4	Ca <sup>2+</sup> -Überladung des Zytosols . . . . .	4
1.3	Reperfusionsschaden . . . . .	5
1.4	Preconditioning . . . . .	8
1.4.1	Ischämisch . . . . .	8
1.4.2	Pharmakologisch . . . . .	10
1.5	Postconditioning . . . . .	12
1.6	Fragestellung . . . . .	13
<b>2</b>	<b>Material und Methodik</b>	<b>14</b>
2.1	Versuchstiere . . . . .	14
2.2	Modell des isoliert perfundierten Herzens . . . . .	14
2.3	Vorbereitung der Langendorffanlage . . . . .	15
2.4	Präparation . . . . .	16
2.5	Versuchsmonitoring . . . . .	18
2.6	Versuchsprotokolle . . . . .	19
2.6.1	Isoprenalin repetitiv . . . . .	19
2.6.2	Kontrollversuche ohne Ischämie . . . . .	19
2.6.3	Versuche mit globaler Null-Fluss-Ischämie . . . . .	20
2.6.3.1	Isoprenalin bzw. Atenolol prä- und intra-ischämisch . . . . .	20
2.6.3.2	Isoprenalin und Atenolol prä- und intra-ischämisch . . . . .	21
2.6.3.3	Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin . . . . .	21
2.6.4	Isoprenalin und ischämisches Postconditioning . . . . .	22
2.7	Verwendete Chemikalien und Lösungen . . . . .	23



2.8	Pharmaka . . . . .	23
2.9	Verwendete Geräte . . . . .	23
2.10	Datenauswertung . . . . .	24
2.11	Statistik . . . . .	24
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>25</b>
3.1	Einfluss von Isoprenalin unter normoxen Bedingungen . . . . .	25
3.1.1	Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Isoprenalin . . . . .	25
3.1.2	Einfluss wiederholter Isoprenalingaben . . . . .	28
3.1.2.1	Isoprenalin 10 nmol/l für 2 Minuten . . . . .	28
3.1.2.2	Isoprenalin 10 nmol/l für 5 Minuten . . . . .	30
3.1.2.3	Isoprenalin 100 nmol/l für 2 Minuten . . . . .	31
3.1.3	Isoprenalin 10 nmol/l für 45 Minuten . . . . .	32
3.2	Einfluss $\beta$ -adrenerger Stimulation auf die post-ischämische Funktionserholung . . . . .	34
3.2.1	Normoxie und ischämische Kontrolle . . . . .	34
3.2.2	Isoprenalin prä- und intra-ischämisch . . . . .	36
3.2.3	Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin . . . . .	42
3.2.4	Isoprenalin prä-, intra-ischämisch und ischämisches Postconditioning . . . . .	44
3.3	Einfluss von $\beta$ -Blockern auf die post-ischämische Funktionserholung . . . . .	45
3.3.1	Alleinige Gabe von Atenolol . . . . .	45
3.3.2	Simultane Gabe von Atenolol und Isoprenalin . . . . .	47
3.4	Einfluss der $\beta$ -Adrenozeptoren auf post-ischämische Arrhythmien . . . . .	48
3.5	Einfluss von Isoprenalin auf die post-ischämische Aktivierbarkeit von $\beta$ -Adrenozeptoren . . . . .	49
3.5.1	Normoxie und ischämische Kontrolle . . . . .	49
3.5.2	Prolongierte Isoprenalinstimulation . . . . .	51
3.5.3	Isoprenalin prä- und intra-ischämisch . . . . .	53
3.5.4	Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin . . . . .	56
3.5.5	Isoprenalin und ischämisches Postconditioning . . . . .	57
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>58</b>
4.1	Hauptbefunde . . . . .	58
4.2	Post-ischämische kontraktile Dysfunktion . . . . .	58
4.3	$\beta$ -Adrenozeptor-Desensibilisierung . . . . .	62

4.4	Einfluss einer $\beta$ -Adrenozeptorblockade auf den Reperfusionsschaden .	64
4.5	Schlussfolgerung . . . . .	65
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>66</b>
<b>6</b>	<b>Summary</b>	<b>67</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>68</b>
<b>A</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>82</b>
<b>B</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>83</b>
<b>C</b>	<b>Erklärung</b>	<b>85</b>
<b>D</b>	<b>Danksagung</b>	<b>86</b>
<b>E</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>87</b>



# 1 Einleitung

## 1.1 Myokardinfarkt

Herzerkrankungen, die auf einer Sauerstoffunterversorgung des Myokards beruhen, wie z.B. der Myokardinfarkt oder die Angina pectoris, gehören zu den Haupttodesursachen in der industrialisierten Welt (Rosamond et al. 2007).

Das Herz ist in besonderem Maße abhängig vom oxidativen Abbau von Nährstoffen. Das Myokard kann anders als etwa die quergestreifte Skelettmuskulatur keine "Sauerstoffschuld" eingehen. Aufgrund des hohen Energiebedarfs ist eine Energieversorgung über anaerobe Glykolyse nicht möglich. Deshalb findet sich eine besonders hohe Anzahl von Mitochondrien, die den Sitz der oxidativen Phosphorylierung und damit der Energiegewinnung darstellen, in den einzelnen Myokardzellen. Die Versorgung der Zellen mit Sauerstoff, freien Fettsäuren, Glukose und Laktat erfolgt nahezu ausschließlich über die Koronararterien und nur zu einem äußerst geringen Teil über die Diffusion von den Herzkammern in das Endokard. Das Myokard ist aus diesem Grund von der ausreichenden und kontinuierlichen Versorgung über die Koronarien hochgradig abhängig.

Beim Myokardinfarkt ist die lokale Sauerstoff- und Substratversorgung der Myokardzellen aufgrund eines vollständigen Verschlusses oder einer hochgradigen Verengung der koronaren Strombahn nicht mehr gegeben. Die Mitochondrien können somit auf oxidativem Weg keine Energie mehr produzieren. In den Myozyten stellt sich ein Energiedefizit ein.

Die Schädigung einer Myokardzelle vollzieht sich in zwei aufeinander folgenden Phasen. Als erstes wird die Zelle durch die Ischämie, zweitens durch die später wieder einsetzende Reperfusion, geschädigt. Dies bezeichnet man als den Ischämieschaden und den darauf folgenden Reperfusionsschaden. Schon Hearse et al. (1973) konnten nachweisen, dass der ischämischen Myokardzelle am Anfang der Reperfusion durch eine abrupte Reoxygenierung der größere Schaden zugefügt wird. Weiterhin können nach der Reperfusion kardiale Arrhythmien auftreten, mit möglicherweise tödlichen Folgen (Rubart u. Zipes 2005). Auch kann der Effekt des *myocardial stunning* auftreten, bei dem Myokardzellen auch nach Reperfusion hypo- bzw. akinetisch sind. Wenn das akute Ereignis

überlebt wird, richtet sich die weitere Prognose vor allem nach der Größe der myokardialen Narbe und dem Ausmaß des post-ischämischen Remodellings.

Die derzeitige klinische Therapie besteht darin, die verschlossene koronare Strombahn wieder zu eröffnen, um das Ausmaß des infarzierten Gewebes möglichst gering zu halten. So stehen vor allem drei klinische Verfahren zur Revaskularisation zur Verfügung: Die systemische Lysetherapie mit fibrinolytisch wirksamen Medikamenten zur Auflösung des okkludierenden Thrombus, ferner die lokale Dilatation des verschlossenen Gefäßabschnittes mittels eines über einen Katheter eingeführten Ballons (Akut-PTCA, perkutane transluminare Koronarangioplastie). Hierbei ist auch eine lokale Fibrinolyse möglich. In gleicher Sitzung kann ein Stent zur Erhaltung des eröffneten Lumens über diesen Katheter eingebracht werden (Stentangioplastie). Eine weitere therapeutische Option besteht in einer aortokoronaren Bypass-Operation, in der eine autologe Vene oder Arterie (A. mammaria interna oder A. radialis) mit einer Koronararterie distal der Stenose anastomosiert und das nachfolgende koronare Stromgebiet über diesen Bypass versorgt wird.

Das Hauptaugenmerk der interventionellen Kardiologie liegt derzeit auf einer möglichst schnellen Wiedereröffnung des verschlossenen Koronargefäßes, um die Zeit des Sauerstoff- und Substratmangels kurz zu halten. Durch die dann meist durchgeführte Akut-PTCA sind herausragende Erfolge in der Behandlung des Myokardinfarktes erzielt worden (Boden u. Gupta 2008). Nach erfolgter Intervention ist aber immer von einer Schädigung der Myokardzellen im Zentrum der Infarktgebietes auszugehen. Eine gezielte Protektion dieser Zellen vor einem Reperfusionsschaden findet aktuell, trotz erster Erfolg versprechender Studien auf diesem Gebiet, noch nicht routinemäßig statt (Staat et al. 2005; Kitakaze et al. 2007).

## 1.2 Myokardialer Ischämieschaden

Bei der Akutschädigung der Myokardzelle während der Ischämie werden insbesondere vier intrazelluläre Effekte, die kurz nach dem Einsetzen der Ischämie beginnen, diskutiert. Diese sind ein sich entwickelndes Energiedefizit (1.2.1), ein Abfall des  $\text{pH}_i$  (1.2.2), die Akkumulation von  $\text{Na}^+$  (1.2.3) und die nachfolgende  $\text{Ca}^{2+}$ -Überladung (1.2.4) der Zelle.

### 1.2.1 Energiedefizit

Die Zelle ist durch den Wegfall der Sauerstoff- und Substratversorgung nicht mehr zu einer oxidativen Phosphorylierung der FAD-abhängigen Substrate fähig. Innerhalb von 8 Sekunden wird von der mitochondrialen Energieerzeugung auf die anaerobe Glykolyse

umgeschaltet (Kloner u. Jennings 2001b), was zu einer wesentlich geringeren Energieausbeute von 2 Mol ATP durch Glykolyse im Gegensatz zu ca. 38 Mol ATP pro Molekül Glukose durch oxidative Phosphorylierung führt. Der hohe Bedarf an ATP der Myokardzelle kann durch Glykolyse, Glykogenolyse und Verbrauch von Phosphokreatin allein nicht gedeckt werden (Dennis et al. 1991).

Schon nach 30 Sekunden ist der Gehalt der Zelle an Phosphokreatin um 90% gefallen (Kloner u. Jennings 2001a). Aufgrund dessen kommt es zu einer Verarmung der Zelle an ATP und einem Anstieg der Laktatkonzentration in der Zelle (Jennings et al. 1991). Dieser Anstieg der Laktatkonzentration hemmt, zusammen mit der sich entwickelnden intrazellulären Azidose (vgl. 1.2.2), die Rephosphorylierung von ADP zu ATP (Rovetto et al. 1975). Zwei ADP reagieren zu ATP und AMP. Das AMP wird weiter zu Adenosin dephosphoryliert. Adenosin diffundiert nach extrazellulär und wird dort zu Inosin und Hypoxanthin abgebaut. Dies führt zu einem Abbau des Adenosin Nukleotid Pools (Jennings u. Steenbergen 1985), womit die Substrate zur Rephosphorylierung von ATP ebenfalls nur noch eingeschränkt verfügbar sind.

Die Vermutung, dass eine kritische ATP-Konzentration zu einer irreversiblen Schädigung der zytoskelettalen Strukturen führe, konnte durch Bonz et al. (1998) widerlegt werden. Der ATP-Gehalt der Zelle fällt auf  $< 100\mu\text{M}$ , geht aber nicht auf Null zurück (Nichols u. Lederer 1990). Dies führt zu einer langsamen Kraftentwicklung in den Myofibrillen, die während der Dauer der Ischämie fixiert bleibt (*rigor-type contracture*). Gravierende Schäden werden durch diese Art von Kontraktur nicht verursacht, das Zytoskelett ist danach aber stärker angreifbar und die Zelle insgesamt fragiler. Vielmehr ist die beobachtete Zellschädigung eher auf die  $\text{Ca}^{2+}$ -Überladung (siehe 1.2.4) und den Reperfusionsschaden (siehe 1.3) zurückzuführen als auf die Abnahme der ATP-Konzentration.

### 1.2.2 Intrazelluläre Azidose

Innerhalb von 10 Minuten Ischämie fällt der intrazelluläre pH ( $\text{pH}_i$ ) auf 6,2 ab (Garlick et al. 1979). Dies ist auf die Resynthese von ATP durch die Glykolyse zurückzuführen (Dennis et al. 1991). Die dabei entstehenden Protonen können aufgrund der Sauerstoffunterversorgung nicht durch die mitochondriale Atmungskette weiter verstoffwechselt werden. Das Endprodukt der Glykolyse, das Laktat, ist im Zustand der Ischämie ebenfalls nicht mehr weiter verstoffwechselbar und kumuliert zusammen mit dem  $\text{H}^+$  in der Zelle. Das Laktat hat aber keinen eigenen unabhängigen Effekt auf die Entwicklung der Azidose in der Zelle (Bethell et al. 1998).

Zur Aufrechterhaltung des  $\text{pH}_i$  sind vor allem zwei Mechanismen verantwortlich. Zum einen der Proteinpuffer und zum anderen die  $\text{H}^+$ - und  $\text{HCO}_3^-$ -Transportsysteme. Da die Pufferkapazität der Proteine sich nicht schnell dem veränderten  $\text{pH}_i$  anpassen kann, sind vor allem die transmembranären Transportkanäle der Kardiomyozten in ihrer Aktivität beeinflusst (Piper et al. 1999).

Der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauscher (Frelin et al. 1988) und der  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -Symporter pumpen  $\text{Na}^+$  zum Ausgleich der Azidose in die Zelle (Piper et al. 1996). Dies führt zu einer Akkumulation von  $\text{Na}^+$  im Kardiomyozyten. Diese Angleichung der intra- und extrazellulären  $\text{Na}^+$ -Konzentrationen und des geringer werdenden ATP-Gehaltes der Zelle führen zu einer Hemmung aller primär bzw. sekundär aktiven Ionentransportprozesse. Auch eine Hemmung weiterer Phosphatasen und Proteasen findet statt, da diese ihre Funktion nur mit einem standardgemäßen  $\text{pH}_i$  optimal ausführen können.

### 1.2.3 $\text{Na}^+$ -Überladung

Unter hypoxischen Bedingungen kommt es zu einer Überladung des Kardiomyozyten mit  $\text{Na}^+$ . Wie schon unter 1.2.2 dargestellt, kommen hierbei wahrscheinlich dem  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauscher und dem  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -Symporter, die  $\text{Na}^+$  zum Ausgleich der Azidose in die Zelle pumpen, eine wichtige Rolle zu (Piper et al. 1996). Der Efflux von  $\text{Na}^+$  aus der Zelle in das sarkoplasmatische Retikulum ist hauptsächlich von der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase abhängig. Aufgrund der ATP-Abhängigkeit und des zellulären Energiedefizits, die sich im Laufe der Ischämie einstellen, kommt dieser auswärts gerichtete  $\text{Na}^+$ -Transport zum Stillstand. Ebenfalls aus diesem Grund wird die sarkolemmale  $\text{Na}^+$ -Pumpe inaktiviert (Kammermeier 1987), so dass  $\text{Na}^+$  im Zytosol akkumuliert. Weiterhin führt die Abnahme des transsarkolemmalen  $\text{Na}^+$ -Gradienten zu einer Depolarisation der Myokardzelle (Cordeiro et al. 1994).

### 1.2.4 $\text{Ca}^{2+}$ -Überladung des Zytosols

Zeitlich verzögert nach dem  $\text{Na}^+$ -Anstieg erfolgt ein Anstieg der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in der Zelle (Steenbergen et al. 1987). Eine Erklärung für dieses Phänomen könnte sein, dass es durch die Verringerung der transsarkolemmalen  $\text{Na}^+$ -Gradienten zu einer Umkehrung der Transportrichtung des  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers kommt. Es werden nun 3  $\text{Na}^+$  aus und 1  $\text{Ca}^{2+}$  in die Zelle gepumpt (Ladilov et al. 1999). Dies führt dazu, dass während der Diastole das Zytosol mit  $\text{Ca}^{2+}$  bis zu 2 Zehnerpotenzen über der normalen Konzentration überladen wird (Piper et al. 2008).

$Ca^{2+}$ -abhängige Zellvorgänge, wie z.B. die Aktivierung von zellulären Lipasen und Proteasen, ebenso wie eine Kontraktion der Zelle, könnten nun in der Zelle angestoßen werden. Aufgrund der gleichzeitig vorhandenen intrazellulären Azidose laufen diese Prozesse aber nur verlangsamt ab, womit die Azidose einen endogenen Schutz der Zelle bei Ischämie darstellt (Ladilov et al. 1995). Durch die erhöhte  $Ca^{2+}$ -Konzentration in der Zelle kann es zu Schädigungen am Zytoskelett kommen. Dies wird eventuell durch Dephosphorylierung von Troponin I verursacht (van der Velden et al. 2004; Ladilov et al. 1997; Lee u. Allen 1991; Armstrong u. Ganote 1992; Ganote u. Heide 1987).

### 1.3 Reperfusionsschaden

In der Reperusionsphase, wenn die Zelle wieder mit Sauerstoff und Substraten für die oxidative Energiegewinnung versorgt wird, treten die größten Zellschäden auf (Hearse et al. 1973). Die Ursache für diese als Reperfusionsschaden bezeichnete Schädigung liegt somit in der Reperfusion selbst. Aufgrund dieses Zusammenhangs lässt sich der Reperfusionsschaden grundsätzlich noch während der Reperfusion verhindern (Piper et al. 1996).

Es findet sich das Paradoxon, dass einerseits die Zellen möglichst schnell wieder mit Sauerstoff versorgt werden müssen, um eine fortschreitende Zellschädigung durch die Ischämie zu verhindern, diese Wiederverfügbarkeit von Sauerstoff aber andererseits zeitgleich pathophysiologische Veränderungen in bzw. an den Kardiomyozyten in Gang setzt, die zur andauernden Schädigung derselben führt.

Die durch die Wiederaufnahme der oxidativen Phosphorylierung erfolgte Resynthese von ATP führt dazu, dass der Zelle in sehr kurzer Zeit wieder energiereiche Phosphate zur Verfügung stehen. Dies hat zwei Effekte an der Myokardzelle zur Folge.

Erstens werden die energieabhängigen Ionenporter der Zelle wieder aktiviert, um die Kationenhomöostase wiederherzustellen. Nach der ischämischen Phase findet sich im Zytosol, wie unter 1.2.3 und 1.2.4 dargestellt, sowohl eine überhöhte  $Na^{+}$ -, als auch eine überhöhte  $Ca^{2+}$ -Konzentration. Durch die wieder bereitgestellte Energie werden die Ionenpumpen, hier vor allem die  $Na^{+}/K^{+}$ -ATPase, als auch die  $Ca^{2+}$ -ATPase, reaktiviert. Besonders in der Frühphase der Reoxygenierung ist der transsarkolemmale  $Na^{+}$ -Gradient noch niedrig, so dass der  $Na^{+}/Ca^{2+}$ -Austauscher noch im umgekehrten Modus arbeitet. Dies bedingt eine weitere  $Ca^{2+}$ -Aufnahme nach intrazellulär. Die  $Ca^{2+}$ -ATPase pumpt  $Ca^{+}$ -Ionen in das sarkoplasmatische Retikulum, bis die Speicherkapazität dort überschritten wird. Dies führt zu einer schlagartigen Freisetzung von hohen



Mengen  $Ca^{2+}$  aus dem sarkoplasmatischem Retikulum ins Zytosol. Dieser Aufnahme-/Freisetzungsmechanismus läuft intrazellulär repetitiv ab, so dass es zu einer zyklischen  $Ca^{2+}$ -Freisetzung mit hohen zytosolischen  $Ca^{2+}$ -Spitzenkonzentrationen kommt (Piper et al. 2008).

Zweitens löst die abrupte Wiederverfügbarkeit von ATP zusammen mit der zyklischen intrazytosolischen  $Ca^{2+}$ -Überladung eine starke  $Ca^{2+}$ -abhängige Kontraktion der Myokardzelle aus. Man spricht hierbei von einer sich ausbildenden Hyperkontraktur (Piper et al. 2003). Vor allem die oszillatorischen  $Ca^{2+}$  Schwankungen fördern die Entwicklung einer Hyperkontraktur. Diese starke Kontraktion der sarkolemmalen Einheiten führt zu histologisch sichtbaren Kontraktionsbandnekrosen, d.h. Nekrosen mit Zellmembranrupturen und Zerreißen in der Struktur der Myofibrillen (Ganote 1983). Zusammen mit einem osmotisch bedingten Zellödem, durch die  $Na^+$ -Überladung und Stoffwechselprodukte der anaeroben Glykolyse bedingt, führt dies zum Tod der Zelle (Inserte et al. 1997).

Durch die Ischämie/Reperfusion (I/R) kommt es zur Expression proinflammatorischer, prokoagulatorischer und vasokonstriktiver Zytokine, wie z.B.  $TNF-\alpha$ ,  $IL-1\beta$  und  $IL-6$ , die unter Kontrollbedingungen nicht im Herz nachweisbar sind (Nian et al. 2004). Dies führt zur Einwanderung polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten und Mastzellen in das Myokard. Eine lokale Gefäßobstruktion und die Freisetzung von proteolytischen Enzymen, die zur Schädigung der Myozyten führen, sind die Folge (Frangogiannis et al. 2002; Nian et al. 2004).

Im Rahmen dieser Inflammation kommt es zur Bildung freier Radikale (Bolli et al. 1988). Diese hochreaktiven Sauerstoffabkömmlinge (ROS) können praktisch mit allen Zellorganellen reagieren. Sarkolemmale Lipide werden peroxidiert, zelluläre Proteine denaturiert und Enzyme deaktiviert. Dadurch wird die Zellmembranpermeabilität, das Zytoskelett, die oxidative Phosphorylierung und die Funktion von Transportproteinen gestört (Toyo-oka et al. 1989; Heide et al. 1996; Goldhaber u. Qayyum 2000). Über eine Beeinflussung des  $Na^+/Ca^{2+}$ -Austauschers, der  $Na^+/K^+$ -ATPase und der sarkolemmalen  $Ca^{2+}$ -ATPase wird die  $Ca^{2+}$ -Homöostase über reaktive Sauerstoffradikale ebenfalls verändert (Smart et al. 1997; Bolli u. Marbán 1999). Hiermit assoziiert ist eine Schwellung der Zelle und der Mitochondrien, die elektronenmikroskopisch beobachtet werden kann (Jennings et al. 1985). Weiterhin kommt es zu einer gesteigerten Fehlfunktion des koronaren Endothels, wahrscheinlich ebenfalls durch freie Radikale verursacht (Zweier u. Talukder 2006).

Ein weiterer von der oxidativen Reoxygenierung unabhängiger Effekt ist das *myocardial stunning*. Hiermit bezeichnet man myokardiale Zellen, die auch nach Reperfusion noch hypo- bzw. akinetisch sind. Definitionsgemäß ist dieser Effekt aber vollständig reversibel. Derzeit ist nicht bekannt, in welchem Maße *myocardial stunning* an der myokardialen Dysfunktion nach prolongierter Ischämie beteiligt ist (Bolli u. Marbán 1999).

Mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Poren (mPTP) stellen eine Schlüsselstelle im Prozess des I/R-Schadens dar (Hausenloy et al. 2002). Unter normoxen Bedingungen sind diese in der inneren mitochondrialen Membran gelegenen Poren geschlossen. Unter Stressbedingungen können sich diese Poren öffnen und damit eine Verbindung zwischen der mitochondrialen Matrix mit dem Zytosol herstellen.

Eine  $Ca^{2+}$ -Überladung des Zytosols, reaktive Sauerstoffradikale und ein niedriger Energiegehalt der Zelle stellen Trigger für die Öffnung der mPTP dar. Während der Ischämie sind die mPTP aufgrund der Azidose und hoher ADP- und  $Mg^{2+}$ -Spiegel geschlossen (Griffiths u. Halestrap 1995; Lisa et al. 2007). In der Reperfusionsphase steigt der  $pH_i$  der Kardiomyozyten, während die oben genannten Trigger noch vorhanden sind. Damit bestehen für die Öffnung der mPTP ideale Bedingungen.

Im geöffneten Zustand sind mPTP für Moleküle bis zu einer Größe von  $< 1,5$  kDa passierbar. Dies hat den Effekt, dass die mitochondriale Ionen- und Stoffwechselkompartimentierung zusammenbricht, die Mitochondrien anschwellen und die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien zum Stillstand kommt. Schließlich zerreißen die Mitochondrien und setzen Cytochrom C (ein Protein der Atmungskette) frei, welches einen Trigger zur Induktion der Apoptose darstellt (Lisa et al. 2007). Unter diesen Bedingungen nimmt der ATP-Gehalt der Zelle schnell ab, die Mitochondrien nehmen kein  $Ca^{2+}$  mehr auf, die Wiederherstellung der Ionenhomöostase der Zelle wird erschwert und es kommt zu einer Aktivierung verschiedener Phospholipasen, Nucleasen und Proteasen, was in der Gesamtheit der Effekte zur Zellnekrose führt (Halestrap et al. 2004; Piper et al. 2008).

Endpunkt der myokardialen Schädigung stellt sowohl die Nekrose als auch die Apoptose myokardialer Zellen dar. Die Nekrose äußert sich in einer Ruptur der Zellmembran aufgrund der oben dargestellten schwerwiegenden metabolischen und ionalen Veränderungen in der reperfundierten Zelle. Es gibt aber auch Anzeichen dafür, dass im reperfundierten Myokard in einigen Zellen eine Signalkaskade, die zur Apoptose führt, aktiviert wird (Iliodromitis et al. 2007). Unabhängig von nekrotischen Zellen soll die Apoptose zur Größenausdehnung des Infarktareals beitragen. Es ist davon auszugehen, dass während

der Ischämie die Apoptose induziert wird, aber erst während der Reperfusion ausgeführt wird (Lazou et al. 2006).

Die Infarktgröße ist direkt von der Ischämiezeit abhängig (Bolli u. Marbán 1999). In der klinischen Situation dagegen sind noch weitere Faktoren, wie z.B. das Alter, Geschlecht, Gewebstemperatur, Kollateralgefäße, Ernährungs- und Hormonstatus, vorausgegangene myokardiale Schädigungen, Medikamente, Nebenerkrankungen (z.B. Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, kardiale Hypertrophie u.a.), für das Ausmaß der myokardialen Schädigung von Bedeutung. Welchen Anteil der Reperfusionsschaden hierbei beim akuten myokardialen Infarkt hat, ist Gegenstand aktueller Forschung.

## **1.4 Preconditioning**

### **1.4.1 Ischämisch**

Um den Reperfusionsschaden zu minimieren bzw. zu verhindern, sind verschiedene Strategien entwickelt worden. Murry et al. (1986) haben ein Verfahren eingeführt, welches das Herz mehreren kurzen nicht letalen Hypoxieepisoden vor der Indexischämie unterzieht. Dieses als ischämisches Preconditioning (IPC) bezeichnete Verfahren führt zu einer wesentlichen Reduktion der Infarktgröße (Murry et al. 1986), einem verringerten Auftreten kardialer Arrhythmien (Vegh et al. 1992) und einer reduzierten Endothelfunktion (DeFily u. Chilian 1993). Weiterhin ist ein verringertes Einwandern polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten und eine reduzierte Rate von Apoptosen zu beobachten (Nakamura et al. 2000).

Mit einem IPC ist aber nur eine leichte Verbesserung der kontraktilen myokardialen Funktion zu erzielen, wobei die Größe der Infarktreduktion nicht mit der postischämischen Funktionserholung korreliert (Asimakis et al. 1992; Cave 1995; Cohen et al. 1999).

Man kann zwei verschiedene Effekte des Preconditionings unterscheiden: Einen frühen Effekt, wenn die Indexischämie innerhalb von Minuten nach dem Preconditioning einsetzt, sowie einen zweiten länger anhaltenden protektiven Effekt, wenn die Indexischämie erst nach 24 - 96 h erfolgt (Kloner u. Jennings 2001b). Bei der späten Form der Protektion manifestiert sich diese als Reduktion der Infarktgröße, als beschleunigte Erholung der Kontraktilität (Heusch u. Schulz 2006) und als verringerte Anzahl von Apoptosen. Dies wird durch die Hochregulierung von antiapoptotischen Proteinen (Stein et al. 2007) erreicht. Die Herzprotektion durch den Früheffekt des IPC ist stärker ausgeprägt als dies bei dem späten Effekt der Fall ist.

Lange Zeit wurde postuliert, dass Patienten, die vor einem Myokardinfarkt Angina pectoris-Episoden erlebt haben, eine bessere Prognose hätten als Patienten, bei denen der Infarkt plötzlich aufgetreten sei. Diese Hypothese wurde durch eine Art endogenes ischämisches Preconditioning gerechtfertigt. Die Studie von Psychari et al. (2004) konnte aber keinen Unterschied in der Infarktgröße (gemessen mittels CK-MB, Troponin I, CRP) und dem klinischen Verlauf zwischen diesen beiden Patientengruppen feststellen. Ishihara et al. (2005) konnten einen protektiven Effekt von Angina pectoris auf die Langzeitprognose von Myokardinfarktpatienten im Alter unter 70 Jahren feststellen, wenn die Angina innerhalb von 24 h vor dem Infarkt auftrat. Anginaepisoden außerhalb dieses Zeitfensters waren ohne Einfluss auf die Prognose.

Der Schutz der Zelle vor einem Reperfusionsschaden mit Hilfe eines IPC wird über bestimmte Signalkaskaden vermittelt. Zusammenfassend nennt man diese „Reperfusion Injury Salvage Kinases“ (RISK). Man kann drei Ebenen bei diesem Signalweg unterscheiden, nämlich auslösende Trigger, Mediatoren und Effektoren. Bekannte Trigger stellen Hitze, Dehnung, Ischämie, Insulin, Urokortin, Atorvastatin, Bradykinin, Opioid-Rezeptor-Agonisten und Noradrenalin dar (Hausenloy et al. 2005b). Wenn einer dieser Trigger während der Reperusionsphase auf die Myokardzellen einwirkt, wird die RISK-Kaskade aktiviert und ein kardioprotektiver Effekt induziert.

Eine Vielzahl an Mediatoren wirken bei der RISK-Signalkaskade an der Signalverarbeitung mit. Bekannt sind PI3-Kinase/Akt-Komplex (PI3K/Akt) (Hausenloy et al. 2005b; Ravingerová et al. 2007), Proteinkinase C (PKC) (Speechly-Dick et al. 1994), Proteinkinase G (PKG) (Abdallah et al. 2005; Cuong et al. 2006), Glykogensynthase-Kinase  $3\beta$  (GSK- $3\beta$ ) (Juhaszova et al. 2004; Costa et al. 2008), p38-MAPK und ERK1/2 (Hausenloy u. Yellon 2004).

Die Effektoren sind bislang noch nicht alle endgültig identifiziert worden. Die mPTP werden durch den RISK-Signalweg dahingehend beeinflusst, dass die Schwelle zu ihrer Öffnung hochgesetzt wird (Argaud et al. 2005). Hausenloy et al. (2005a) konnten aufzeigen, dass ERK1/2 und Akt durch ein IPC zu zwei verschiedenen Zeiten aktiviert werden, einmal während des Preconditionings und ein zweites Mal während der Reperfusion. Man kann daher einen spezifischen Schutz der Myozyten während der Reperusionsphase durch Aktivierung der RISK-Kaskade durch ein IPC vermuten. Während der Reperfusion werden die mPTP durch ein IPC an ihrer Öffnung gehindert (Javadov et al. 2003; Hausenloy et al. 2004) und damit eine Entkopplung der Myozyten von der oxidativen Phosphorylierung und eine  $Ca^{2+}$  Überladung der Kardiomyozyten verhindert. Dies könnte eine Erklärung für den protektiven Effekt des IPC darstellen.

### 1.4.2 Pharmakologisch

Schon frühzeitig wurde versucht, einen IPC-ähnlichen Effekt auf pharmakologischem Weg zu erreichen. Es ist von verschiedenen Substanzen bekannt, dass sie in der frühen ischämischen Phase vom Myokard freigesetzt werden. Es wird angenommen, dass sie modulierend auf den ischämischen Schaden einwirken können. Für Adenosin (Schulz et al. 1998), Bradykinin (Schulz et al. 1998), Opioide (Schulz et al. 2001) und Prostaglandine (Gres et al. 2002) konnte gezeigt werden, dass eine prä-ischämische Gabe dieser Substanzen einen kardioprotektiven Effekt hat.

Banerjee et al. (1993) zeigten, dass Noradrenalin, ein nicht selektiver  $\alpha$ - und  $\beta$ -Adrenozeptoragonist, prä-ischämisch im Sinne eines Preconditioning appliziert, die Kontraktilität und die post-ischämische Funktionserholung positiv beeinflusst.

Asimakis et al. (1994) konnten nachweisen, dass bei einer  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation mit  $10^{-8}$  Mol/l Isoprenalin ( $\beta$ -AR Agonist, ISO) und einer 30 minütigen Ischämie, die post-ischämische Funktion verbessert wird. Eine post-ischämische Funktionsverbesserung durch ein Preconditioning mit Noradrenalin ( $\alpha$ - und  $\beta$ -AR-Agonist) lässt sich durch Timolol (nichtselektiver  $\beta$ -AR-Blocker) vollständig blockieren, so dass man davon ausgehen kann, dass eine alleinige Aktivierung von  $\alpha$ -AR keinen eigenen protektiven Effekt hat (Nasa et al. 1997). Wahrscheinlich wird die kardioprotektive Wirkung von Noradrenalin damit über  $\beta$ -AR vermittelt.

Der genaue Mechanismus, über den die Kardioprotektion mittels  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation erreicht wird, ist derzeit noch nicht vollständig entschlüsselt.  $\beta$ -AR sind G-Protein gekoppelte Rezeptoren. Bei Stimulation führen sie über eine Aktivierung der Adenylatzyklase zu einem Anstieg der intrazellulären cAMP-Konzentration. Auch bei einem pharmakologischen Preconditioning (PPC) führt die Stimulation von  $\beta$ -AR zu einem Anstieg der cAMP Konzentration (Lochner et al. 1999). Diese Gruppe konnte ebenfalls zeigen, dass mit Forskolin, einem direkten Aktivator der Adenylatzyklase, ebenfalls ein PPC zu erreichen ist, so dass von einer Beteiligung dieser Signalkaskade auszugehen ist. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Sanada et al. (2001), wonach die Hemmung der Phosphodiesterase III oder die Gabe von Dibutyryl-cAMP ebenfalls kardioprotektiv wirkt.

cAMP aktiviert die Proteinkinase A (PKA) und diese wiederum die p38-MAPK, welche über eventuelle weitere Mediatoren zur Phosphorylierung von CREB (cyclic AMP response element binding proteins), einem Transkriptionsfaktor, führt (Marais et al. 2008). Eine Aktivierung der Calcium-abhängigen Protein-Kinase C (PKC) durch eine transien-

te moderate intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentrationssteigerung (Miyawaki u. Ashraf 1997a) wird ebenfalls diskutiert.

Bei einem PPC mit Isoprenalin konnte aber gezeigt werden, dass bei höheren ISO-Konzentrationen und damit einer stärkeren PKA-Aktivierung ein kardioprotektiver Effekt nicht mehr nachweisbar ist (Miyawaki u. Ashraf 1997b), so dass dieser Mechanismus eher unwahrscheinlich ist.

IPC reduziert die cAMP-Akkumulation im Zytosol während der Indexischämie (Moolman et al. 1996). Es ist möglich, dass Noradrenalin eine PKC-Aktivierung über einen „Crosstalk“ mit einer Adenylatcyclase-Aktivierung über  $\alpha$ -AR abhängige Kostimulation bewirkt (Houslay 1991). Alternativ könnte eine verminderte Noradrenalinfreisetzung während der Indexischämie für den verminderten cAMP-Anstieg verantwortlich sein (Sandhu et al. 1996), wobei der Vorschlag eines „Crosstalks“ zwischen PKC und Adenylatcyclase ausgeschlossen wurde.

Im Gegensatz zu einem IPC wird bei einem PPC mit Katecholaminen beschrieben, dass hierbei nicht nur die Infarktgröße (Bankwala et al. 1994; Frances et al. 2003) und die post-ischämischen Arrhythmien (Ravingerová et al. 2002) vermindert werden, sondern auch die post-ischämische kontraktile Funktionserholung stärker ausgeprägt ist (Frances et al. 2003).

Es ist schon seit Jahrzehnten bekannt, dass eine pharmakologische Langzeittherapie mit  $\beta$ -Blockern einen positiven Effekt nach myokardialen ischämischen Schaden hat (Reimer et al. 1976). Eine lang andauernde Therapie mit Katecholaminen hingegen hat einen entgegengesetzten Effekt und führt zu erhöhten myokardialen Schäden aufgrund einer erhöhten kardialen Belastung (Stanton et al. 1969). Auf der Basis dieser Erkenntnisse und den positiven Erfahrungen mit der Blockade von  $\beta$ -AR mit Metoprolol und Bisoprolol in der klinischen Post-Infarkt-Therapie wird davon ausgegangen, dass eine Stimulation von  $\beta$ -AR während der Ischämie bzw. Reperfusion negative Effekte für das Myokard bewirkt (Broadley u. Penson 2004).

Tong et al. (2005) konnten mittels  $\beta_2$ -Knockout-Mäusen zeigen, dass  $\beta_2$ -AR für ein PPC mit Isoprenalin notwendig sind. Dem gegenüber stehen die Ergebnisse von Robinet et al. (2005), dass die PI-3-Kinase, PKC und PKA bei einem PPC mittels  $\beta_1$ -AR Stimulation involviert sind. Welcher Rezeptor-Subtyp für die kardioprotektive Wirkung verantwortlich ist, ist gegenwärtig noch nicht endgültig beantwortet.

Tong et al. (2005) zeigten, dass für ein IPC die Aktivierung von  $\beta_2$ -Adrenozeptoren notwendig ist. Dem gegenüber steht aber die Studie von Iliodromitis et al. (2004), bei

denen eine prä-ischämische Blockade von  $\beta$ -AR mit Esmolol oder Atenolol keinen Einfluss auf das Ergebnis eines IPC hat.

## 1.5 Postconditioning

Für ein effektives ischämisches Preconditioning ist es notwendig, dieses vor der Index-ischämie durchzuführen. Da es unter klinischen Bedingungen schwierig ist, den exakten Zeitpunkt des Eintritts der Ischämie zu bestimmen, hat das IPC bisher keinen Einzug in die klinische Praxis gehalten.

Zhao et al. (2003) haben ein Verfahren entwickelt, das erst nach der Ischämiephase einsetzt und ebenfalls zu einem Schutz des Herzens vor dem Reperfusionsschaden führt. Dieses als ischämisches Postconditioning (IPoC) bezeichnete Verfahren ist dadurch charakterisiert, dass kurz nach der Ischämie die Perfusion des Herzens intermittierend angehalten und wieder fortgesetzt wird. Im Gegensatz zum Preconditioning, das vor der kritischen Ischämie appliziert werden muss, findet hier die therapeutische Intervention nach der Wiedereröffnung der koronaren Strombahn statt. Dieses Verfahren hat aus diesem Grund verstärktes Interesse ausgelöst und ist in einzelnen kleinen klinischen Studien auch am Menschen erfolgreich angewandt worden (Staat et al. 2005; Yang et al. 2007).

Der Erfolg dieses Verfahrens wird in den meisten Studien als Verkleinerung des Infarktareals gemessen (Zhao et al. 2003; Yang et al. 2007).

Yang et al. (2007) konnten, trotz Reduktion des infarzierten Areals, keinen signifikanten Effekt auf die post-ischämische kardiale Ejektionsfraktion beobachten. Lediglich ein Trend in Richtung einer verbesserten Kontraktilität war zu sehen.

Hausenloy et al. (2005b) gehen davon aus, dass die durch ein IPC oder ein IPoC aktivierten kardioprotektiven Effekte beide auf eine Aktivierung der RISK-Signalkaskade zurückzuführen sind. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die kardioprotektiven Effekte eines IPC durch Inhibition der bekannten Mediatoren PI3K und Akt während der frühen Reperfusionsphase blockiert werden können. In den Studien von Philipp et al. (2006) und Kuno et al. (2007) sind ähnliche Ergebnisse für die PKC gezeigt worden.

Weiterhin wird diese Hypothese durch die Beobachtung gestützt, dass durch ein IPoC analog zum IPC die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP herabgesetzt wird (Argaud et al. 2005).

Nach IPoC ist initial eine signifikante Verkleinerung des Infarktareals zu festzustellen. In der Studie von Watanabe et al. (2006) konnte aber gezeigt werden, dass dieser Effekt nicht konstant bleibt. Im zeitlichen Verlauf ist eine Vergrößerung des Infarktareals zu se-

hen, so dass eher von einer Verzögerung als von einer signifikanten Reduktion der Infarzierung auszugehen ist. Diese Verzögerung könnte aber ein Zeitfenster darstellen, in dem Therapien zur langfristigen Reduktion des kardialen Funktionsverlustes einsetzen könnten. In Ermangelung solcher Therapien ist es notwendig, mehr über die Rezeptorfunktion im post-ischämischen Myokard zu erfahren, um solche Therapieregime zu entwickeln.

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, ob es einen Unterschied in der Aktivierbarkeit von  $\beta$ -Adrenozeptoren prä-, intra- und post-ischämisch gibt. Weiterhin soll untersucht werden, welchen Effekt ein IPoC auf die Aktivierbarkeit von  $\beta$ -Adrenozeptoren hat.

Nach Tong et al. (2004) ist für ein IPC eine PI3K vermittelte Rezeptorinternalisierung notwendig. Es liegt der Schluss nahe, dass es im Rahmen dieser Internalisierung zu einer Desensitivierung von  $\beta$ -Adrenozeptoren kommt. Schreckenberget al. (2009) konnten für den kardialen PTHrP-Rezeptor ein solches Verhalten nachweisen.

## 1.6 Fragestellung

Es ist in vielen Studien gezeigt worden, dass ein pharmakologisches Preconditioning über  $\beta$ -Adrenozeptoren kardioprotektive Effekte hat. Es ist hingegen weit weniger erforscht, ob dies primär ein rezeptorvermittelter Effekt ist oder erst sekundär über eine „Stressreaktion“ des Herzens eintritt. Aufgrund der großen klinischen Bedeutung, die der Ischämie/Reperfusionsschaden hat, ist eine möglichst präzise Kenntnis der zellulären Vorgänge, die zur Protektion vor diesem Schaden führen können, notwendig.

Im einzelnen sollen in der vorliegenden Dissertation folgende Fragestellungen untersucht werden:

- Ist beim pharmakologischen Preconditioning mit Isoprenalin eine prä-ischämische hämodynamische oder energetische Stressreaktion zur Kardioprotektion notwendig?
- Sind die kardioprotektiven Effekte eines pharmakologischen Preconditionings mit Isoprenalin konzentrationsabhängig?
- Durch welche Stimuli werden  $\beta$ -Adrenozeptoren desensibilisiert?
- Welchen Einfluss hat eine  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade auf den kardialen Reperfusionsschaden?
- Welchen Einfluss hat ein ischämisches Postconditioning auf  $\beta$ -Adrenozeptoren?



## 2 Material und Methodik

### 2.1 Versuchstiere

Die verwendeten weiblichen Wistar-Ratten (Züchtung Hannover) entstammten der Züchtung des Physiologischen Instituts der Justus-Liebig-Universität Gießen und hatten freien Zugang zu Wasser und Nahrung (Standarddiät: Altromin®). Sie hatten ein Alter zwischen drei und vier Monaten, sowie ein Gewicht von 160–250 g.

### 2.2 Modell des isoliert perfundierten Herzens

Das angewandte Modell ist von Oskar Langendorff 1895 (Döring u. Dehnert 1985) entwickelt worden. Prinzipiell wird hierbei das Herz eines Versuchstieres retrograd, entgegen der physiologischen Flussrichtung des Blutes, über die Aorta perfundiert. Die Perfusionslösung passiert zuerst die Aorta und wird durch die verschlossenen Aortenklappen in die Koronarien geleitet. Ab hier erfolgt die Perfusion orthograd. Nach den Koronarien fließt das Perfusat durch den Sinus venosus in das rechte Atrium und schließlich in den rechten Ventrikel mit anschließendem Auswurf in die Arteria pulmonalis.

Es ist prinzipiell möglich, dieses Modell mit konstantem Druck oder mit konstanter Volumenstromstärke (Fluss) zu betreiben. In den vorliegenden Versuchsreihen wurde die Variante mit konstantem Fluss benutzt, da hiermit Änderungen des Perfusionsdruckes gemessen werden können.

Aufgrund des Ohm'schen Gesetzes

$$R = \frac{\Delta p}{\Phi} \quad (2.1)$$

lässt sich bei konstant gehaltenem Fluss  $\Phi$  der Perfusionsdruck  $\Delta p$  berechnen.

Da der Strömungswiderstand  $R$  vom Hagen-Poiseuilleschen Gesetz

$$R = \frac{1}{r^4} * \frac{l * \eta * 8}{\pi} \quad (2.2)$$

von dem Radius  $r$ , der Gefäßlänge  $l$ , der Viskosität  $\eta$  abhängig ist und diese Größen in diesem Versuchsaufbau als konstant anzusehen sind, lässt sich die aus den beiden Gleichungen 2.1 und 2.2 folgende Proportionalgleichung erstellen:

$$\Delta p \sim \frac{1}{r^4} \quad (2.3)$$

Aus 2.3 ist zu folgern, dass registrierte Druckänderungen Rückschlüsse auf den koronaren Strömungswiderstand des perfundierten Herzens zulassen.

Der Versuchsaufbau ist aus Abb. 2.1 ersichtlich. Mittels eines über den linken Vorhof in die linke Herzkammer eingeführten Latexballons, der an einen Druckaufnehmer angeschlossen war, wurde sowohl der diastolische als auch der systolische Druck kontinuierlich registriert.

Der diastolische Druck wurde zu Beginn des Versuchs mit 10 – 12 mmHg durch das Füllen des Ballonkatheters mit saliner Lösung vorgegeben. Das Volumen wurde danach konstant gehalten.

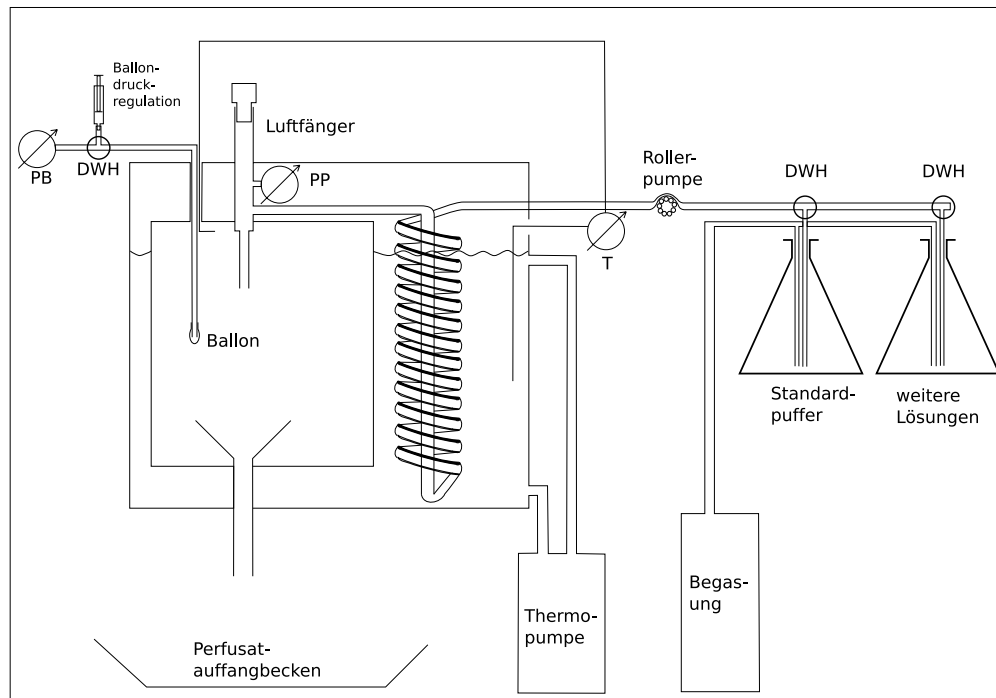
Der Perfusionsfluss wurde mittels einer Rollerpumpe so kalibriert, dass der Perfusionsdruck bei 46–48 mmHg lag. Dieser Druck wurde bis zum Ende der Stabilisierungsphase konstant gehalten. Der nun eingestellte Fluss wurde bis zum Ende des Experimentes konstant gehalten, so dass Druckänderungen während der Experimentalphase erfasst werden konnten. Auch der Perfusionsdruck wurde mit einem Druckaufnehmer registriert.

Die Temperatur des Wassers und die Temperatur innerhalb der Langendorffapparatur wurden mittels Temperaturmessfühlern im Wasser bzw. frei in der Kammer liegend gemessen. Die Temperatur im Innenraum der Kammer der Langendorff-Apparatur wurde konstant auf 37,0°C gehalten. Das Perfusat wurde durch eine im Wasserbad liegende Spirale geleitet, um im Herz eine Perfusatemperatur von 37,0°C zu gewährleisten.

### 2.3 Vorbereitung der Langendorffanlage

Zu Beginn des Versuches wurden die jeweils verwendeten Lösungen (Pharmakon gelöst in Standardpuffer (vgl. Tab. 2.2)) vorbereitet und an die Langendorff-Apparatur angeschlossen. Die Lösungen wurden mindestens 20 Minuten mit 95% O<sub>2</sub> und 5% CO<sub>2</sub> begast und damit auf einen pH-Wert von 7,4 eingestellt.

Die zuführenden Schenkel der Anlage wurden mit dem jeweiligen Perfusat befüllt und der Ballon auf seine Dichtigkeit kontrolliert. Eventuell vorhandene Luftblasen wurden aus der Anlage entfernt. Anschließend wurden die Messinstrumente kalibriert.



**Abbildung 2.1:** Schema der verwendeten Langendorff-Apparatur.

**DWH** Dreiwegehahn; **PB** Druckaufnehmer Ballondruck; **PP** Druckaufnehmer Perfusionsdruck; **T** Temperaturmessung;

## 2.4 Präparation

Das Tier wurde mit Diethylether narkotisiert, gewogen und ihm anschließend das Genick gebrochen. Sofort darauf wurde das Abdomen des Tieres in der Mittellinie, ca. 0,5 cm unterhalb des Processus ciphoides, eröffnet.

Nach Durchtrennung des Diaphragmas wurde die Aorta, durch leichten Zug am Herz-Lungen-Paket (das Herz mit den Lungen, dem Thymus und anhängigem Bindegewebe) nach kaudal, dargestellt. Die Gefäße oberhalb des Herzens und die Aorta abdominalis oberhalb der Leber wurden durchtrennt, um das Herz-Lungen-Paket mobilisieren zu können.

Anschließend wurde das Herz zusammen mit den Lungen entnommen und in eine Petrischale mit 4°C kalter 0,9% NaCl-Lösung überführt. Nachdem die Lungenlappen, der Thymus, sowie weiteres anhängiges Bindegewebe entfernt worden waren, wurde die Aorta eingekürzt. Der Schnitt erfolgte zwischen der A. carotis communis sinistra und der A. subclavia sinistra. Daraufhin wurde das Herz in die bereits laufende Langendorff-Apparatur überführt.

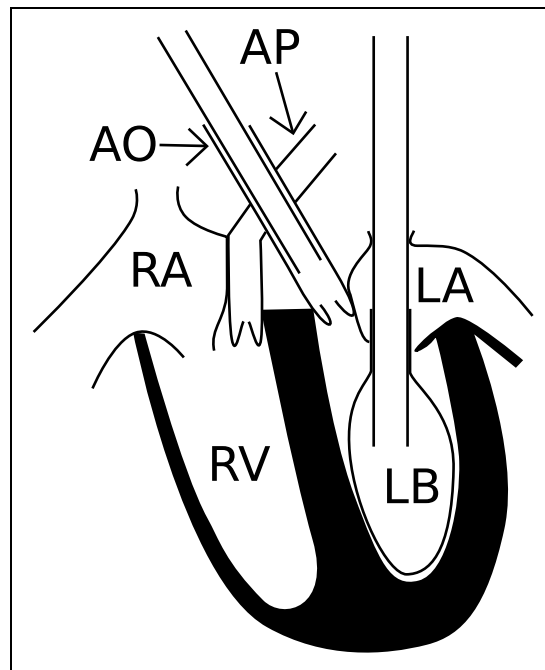
Nach freischwebender Aufhängung an einer Kanüle wurde die Aorta mittels einer Krokodilklemme befestigt und das Herz retrograd über die Aorta ascendens perfundiert. Der Perfusionsdruck wurde nun stufenweise innerhalb von ca. 3 min auf ca. 48 mmHg hochreguliert.

Währenddessen wurde eine Ligatur um die Aorta ascendens, zwischen dem Abgang der Koronararterien und vor dem Abgang des Truncus brachiocephalicus, gelegt. Danach wurde die Krokodilklemme entfernt. Hiernach wurde der linken Vorhof mit einem Schnitt eröffnet und ein Latexballon in die linke Herzkammer eingeführt, um die dort entstehenden Drücke registrieren zu können (2.4). Über diesen Ballon wurde ein diastolischer Druck von 10 - 12 mmHg vorgegeben. Weiterhin wurde der zum Ballon führende Schlauch mit einem Klebestreifen an der Perfusionskanüle befestigt, damit der Ballon während des Versuchs nicht aus der Herzkammer herausgedrückt werden konnte.

Die gesamte Präparationszeit für zwei Herzen nach Einschnitt des Abdomens bis zur Perfusion in der Langendorff-Apparatur betrug nicht mehr als 10 Minuten.

Nach einer 25 - 30 minütigen Stabilisierungsphase wurde das Herz nach den in Kapitel 2.6 dargestellten Versuchsprotokollen verwendet.

Abschließend wurde das Herzgewicht bestimmt.



**Abbildung 2.2:** Schema des intraventrikulär liegenden Katheters zur Druckregistrierung. AP Arteria pulmonalis; AO Aorta mit intraaortaler Kanüle; LA Linkes Atrium; LB Latexballon im linken Ventrikel; RA Rechtes Atrium; RV Rechter Ventrikel

## 2.5 Versuchsmonitoring

Über den im linken Ventrikel liegenden Ballon wurde der systolische ( $P_{sys}$ ) und der diastolische Druck ( $P_{dias}$ ) mittels eines Druckaufnehmers gemessen. In gleicher Weise wurde der Aortendruck (PP in Abb. 2.1) gemessen. Die Werte wurden an ein Computerprogramm („Phylab“) kontinuierlich weitergeleitet und auf einem Bildschirm graphisch und numerisch dargestellt.

Die Herzfrequenz (HF) wurde aus den Druckänderungen während der Herzaktion durch „Phylab“ berechnet.

Die in der Langendorff-Apparatur und im Wasserbad herrschenden Temperaturen wurden ebenfalls aufgezeichnet.

Am Ende der Stabilisierungsphase wurde der Fluss mit einem Messröhrchen gemessen und in den Versuchsunterlagen aufgezeichnet. Hiernach wurde der Fluss nicht mehr verändert.

An vorher definierten Zeitpunkten wurden HF,  $P_{sys}$ ,  $P_{dias}$ , PP, Temperatur in der Kammer sowie im Wasser 15 Sekunden mit „Phylab“ aufgezeichnet.

Das Programm berechnete und speicherte den maximalen linksventrikulären Druckanstieg  $+dP/dt_{max}$  und die Relaxationsgeschwindigkeit  $-dP/dt_{min}$  an diesen Zeitpunkten.

Diese Werte wurden nach Abschluss der Versuches der Auswertefunktion von „Phylab“ in eine Excel-Tabelle übertragen.

Der entwickelte linksventrikuläre Druckanstieg (LVDP)

$$LVDP = P_{sys} - P_{dias}$$

sowie das Doppelprodukt

$$LVDP \times HR = \frac{LVDP * HF}{1000}$$

wurden als weiter differenzierte Kontraktilitätsparameter berechnet.

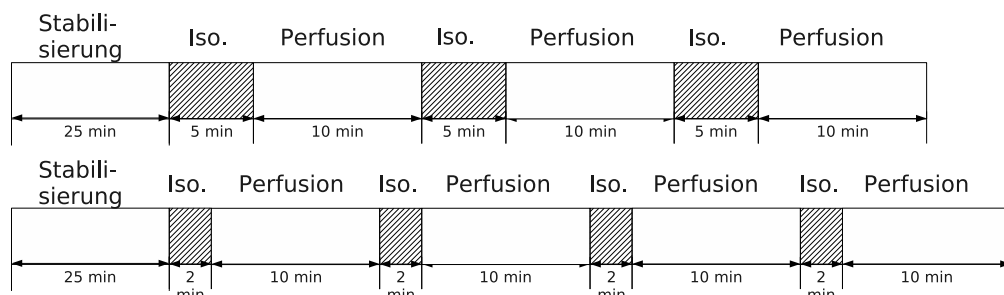
Bei Auftreten von Kammerflattern oder -flimmern wurde das Herz mit eiskalter NaCl-Lösung besprüht. Wenn danach wieder ein regelmäßiger Herzrhythmus eintrat, wurde das Ereignis in der Versuchsaufzeichnung dokumentiert und der Versuch wurde fortgesetzt. Anderenfalls wurde der Versuch abgebrochen und die Ergebnisse bis zu diesem Zeitpunkt in die Auswertung mit übernommen.

## 2.6 Versuchsprotokolle

Die Herzen durchliefen eine ca. 25 minütige Stabilisierungsphase. Dies wurde durch 2 Messpunkte im Abstand von 10 Minuten dokumentiert.

### 2.6.1 Isoprenalin repetitiv

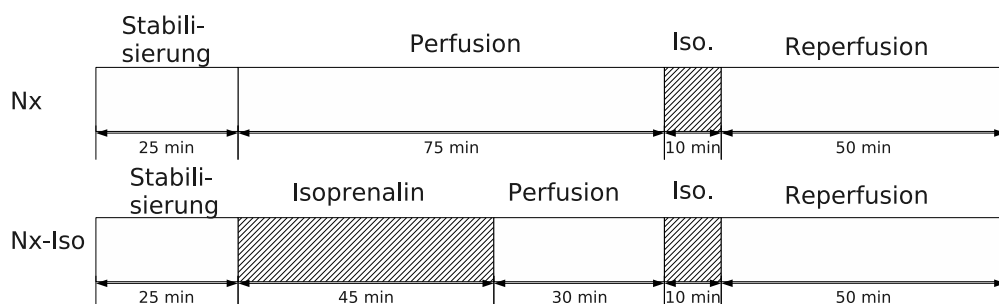
Isoprenalin wurde in verschiedenen Konzentrationen, 2 bzw. 5 min eingewaschen und anschließend 10 min wieder ausgewaschen. Dies wurde 3 mal wiederholt (vgl. Abb. 2.3). Gemessen wurde 1,5 min nach dem Beginn des Einwaschen des Isoprenalins und 10 min nach erneuter Perfusion mit Standardpuffer (kurz vor der erneuten Isoprenalingabe).



**Abbildung 2.3:** Versuchsprotokoll: Repetitive Isoprenalingabe für jeweils 2 ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  mol/l), bzw. 5 Minuten ( $10^{-8}$  mol/l). Anschließendes Auswaschen für 10 Minuten.

### 2.6.2 Kontrollversuche ohne Ischämie

Um die Stabilität der Herzen in der Langendorffapparatur unter den vorgegebenen Bedingungen zu zeigen, wurden die Herzen nach der Stabilisierungsphase einer 45 minütigen Perfusion mit Standardpuffer bzw. Isoprenalin unterzogen (vgl. Abb. 2.4).



**Abbildung 2.4:** Versuchsprotokoll: Nx: 75 min Perfusion mit Standardpuffer; Nx-Iso: Perfusion mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin für 45 min

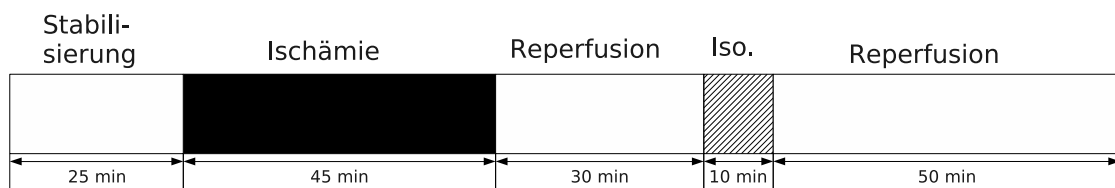
### 2.6.3 Versuche mit globaler Null-Fluss-Ischämie

Nach der Stabilisierungsphase und einem eventuellen Einwaschen eines Pharmakons wurden die Herzen, durch eine Unterbrechung der Perfusatzufuhr, in eine Phase der globalen Ischämie versetzt. Dies wurde durch Messpunkte nach 15, 30 und 45 Minuten dokumentiert.

Nach 45 Minuten globaler Ischämie wurde das Herz wieder mit dem Standardpuffer perfundiert. Während der Reperfusionphase wurde an den Zeitpunkten 1, 2, 3, 4, 5, 10 und 15 Minuten nach Ischämieende Messpunkte gesetzt.

Anschließend wurde das Herz mit einer Isoprenalinkonzentration von  $10^{-7}$  mol/l 10 Minuten lang stimuliert. Dies wurde durch 3 Messzeitpunkte dokumentiert. Der erste vor dem Einwaschen des Isoprenalins (75 Minuten nach der Stabilisierungsphase, 30 Minuten nach Beginn der Reperfusion), einer nach 5 Minuten, und schließlich einer 10 Minuten nach Beginn des Einwaschens.

Danach folgte eine weitere 50 minütige Perfusionsphase mit dem Standardpuffer. In dieser Phase lagen 2 Messzeitpunkte, einer nach 20 Minuten und der andere am Ende der Perfusionsphase nach 50 Minuten. Insgesamt wurde das Herz nach einer 45 minütigen Ischämiephase 90 Minuten reperfundiert (vgl. Abb. 2.5).



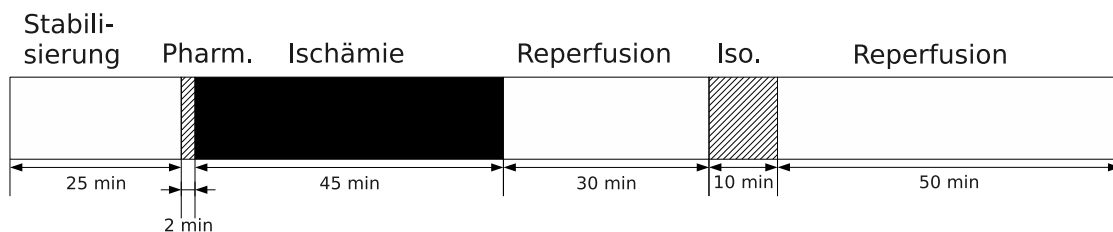
**Abbildung 2.5:** Versuchsprotokoll: 20 Minuten Stabilisierungsphase, 45 Minuten Ischämie, 90 Minuten Reperfusion, Isoprenalin  $10^{-7}$  mol/l nach 30 Minuten Reperfusion

#### 2.6.3.1 Isoprenalin bzw. Atenolol prä- und intra-ischämisch

Bei den Herzen in diesem Versuchsprotokoll wurde vor der Index-Ischämie Isoprenalin bzw. Atenol in unterschiedlich hohen Konzentrationen eingewaschen (vgl. Tab. 2.1 und Abb. 2.6). Das Pharmakon verblieb während der gesamten Dauer der Ischämie intrakardial. Nach 45 Minuten Ischämie wurde mit dem Standardpuffer reperfundiert und das Pharmakon ausgewaschen.

Protokoll	Konzentration [mol/l]	n
Isoprenalin 2 min, 45 min Ischämie	0	5
Isoprenalin 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-7}$	6
Isoprenalin 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-8}$	4
Isoprenalin 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-9}$	8
Isoprenalin 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-10}$	8
Isoprenalin 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-11}$	6
Isoprenalin 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-12}$	7
Atenolol 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-5}$	6
Atenolol 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-7}$	8
Atenolol 2 min, 45 min Ischämie	$10^{-9}$	8

**Tabelle 2.1:** Versuchsprotokolle: Pharmakongabe vor der Ischämie, Pharmakon während der Ischämie intrakardial, Auswaschen während der Reperfusion



**Abbildung 2.6:** Versuchsprotokolle: Pharmakon (Isoprenalin, Atenolol) prä-ischämisch, Ischämie mit Pharmakon intrakardial, Auswaschen während der Reperfusion

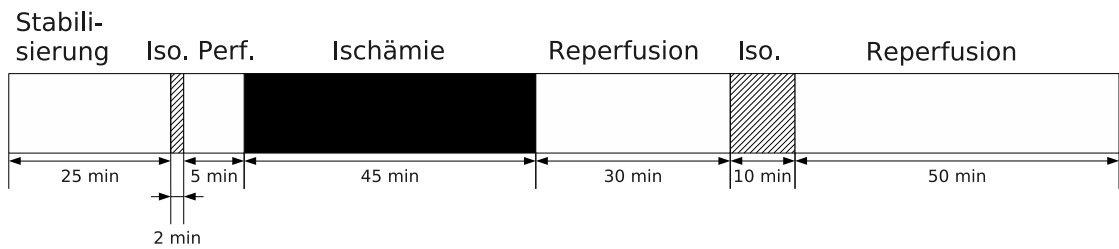
### 2.6.3.2 Isoprenalin und Atenolol prä- und intra-ischämisch

In zwei Versuchsreihen wurden Isoprenalin ( $10^{-8}$  bzw.  $10^{-9}$  mol/l) und Atenolol ( $10^{-5}$  mol/l) gemeinsam 2 Minuten eingewaschen. Darauf folgte die Ischämiephase. Die Pharmaka verblieben während der Ischämie intrakardial. Post-ischämisch wurde wieder mit dem Standardpuffer perfundiert (vgl. Abb. 2.6).

### 2.6.3.3 Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin

In dieser Versuchsgruppe wurde Isoprenalin 2 Minuten eingewaschen und anschließend das Herz 5 Minuten mit dem Standardpuffer perfundiert, um das Isoprenalin vollständig aus dem Herz auszuwaschen. Dieses Versuchsprotokoll stellt ein klassisches pharmakologisches Preconditioning dar. Der weitere Versuchsablauf erfolgte wie in 2.6.3 beschrieben und ist aus Abb. 2.7 ersichtlich.

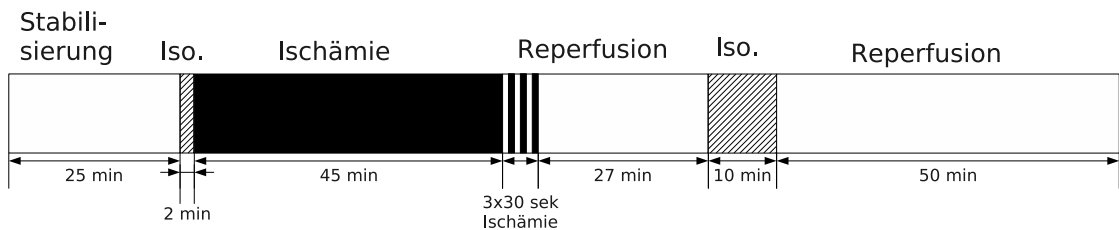




**Abbildung 2.7:** Versuchsprotokoll: Isoprenalin  $10^{-8}$  mol/l prä-ischämisch, 5 min Perfusion mit Standardpuffer, Ischämie ohne Isoprenalin intrakardial

#### 2.6.4 Isoprenalin und ischämisches Postconditioning

In dieser Versuchsreihe wurden die Herzen nach der Index-Ischämie einem ischämischen Postconditioning unterzogen. Post-ischämisch wurden 3 Zyklen von jeweils 30 sek. Perfusion und 30 sek. Ischämie appliziert (vgl. Abb. 2.8). Der weitere Versuchsablauf erfolgte analog wie in 2.6.3 beschrieben.



**Abbildung 2.8:** Versuchsprotokolle: Isoprenalin prä- und intra-ischämisch, 45 Minuten Ischämie, Postconditioning mit 3 x 30 sek. Perfusion und 30 sek. Ischämie, 27 Minuten Reperfusion

## 2.7 Verwendete Chemikalien und Lösungen

Die Herzen wurden mit einer modifizierten Tyrode-Lösung perfundiert (vgl. Grohé et al. (2004); Maier et al. (2009)). Die Perfusionslösung wurde mit einem Gasgemisch von 95% O<sub>2</sub> und 5% CO<sub>2</sub> 20 Minuten vor dem Versuchsbeginn begast, damit sich der pH der Perfusionslösung auf 7,4 einstellte. Die Perfusionslösung wurde durch eine in einem Wasserbad liegende Spirale geleitet und auf 37,0°C erwärmt.

Substanz	Konzentration	Firma
NaCl	140 mM	Carl-Roth GmbH&Co.KG
KCL	2,7 mM	Carl-Roth GmbH&Co.KG
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	0,4 mM	Carl-Roth GmbH&Co.KG
MgCl <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O	1,0 mM	Carl-Roth GmbH&Co.KG
Glucose	5,0 mM	Merck
CaCl <sub>2</sub>	1,8 mM	Merck
NaHCO <sub>3</sub>	24 mM	Carl-Roth GmbH&Co.KG

**Tabelle 2.2:** Verwendete Chemikalien und Perfusionslösung

## 2.8 Pharmaka

- Isoprenalin: Sewa Feinbiochemie
- Atenolol: Sigma Chemical Co.

## 2.9 Verwendete Geräte

Schlauchpumpe	Ismatec Reglo Dig NS-4/8V1.13
Umwälzpumpe	MGW Lauda Typ DP8/17
Relaisbox	Universal Relaisbox R2 Electronic MGW Lauda
Druckaufnehmer	Combitrans 1-fach Set Mod. II Universität Gießen, Braun
Thermokammer	Eigenbau Universität Gießen
Phylab	Eigenprogrammierung Physiol. Institut Universität Gießen mittels LabVIEW von National Instruments

## 2.10 Datenauswertung

- Windows 2000, Microsoft® Corporation
- Office 2000, Microsoft® Corporation
- OpenOffice.org, Version 3.0.1
- L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X
- Grace, Version 5.1.22

## 2.11 Statistik

Die Messwerte wurden als Mittelwerte  $\pm$  der Standardabweichung der Mittelwerte (SEM) aus  $n$  unabhängigen Experimenten angegeben. Statistische Differenzen innerhalb einer Gruppe wurden mittels einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) berechnet. Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurden mittels Student-Neumann-Keuls-Test ermittelt. Differenzen wurden ab einem Niveau von  $p \leq 0,05$  als statistisch signifikant angesehen.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Einfluss von Isoprenalin unter normoxen Bedingungen

#### 3.1.1 Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Isoprenalin

Um die Frage zu untersuchen, ab welcher Konzentration Isoprenalin am normox isoliert salin perfundierten Rattenherzen einen hämodynamisch wirksamen Effekt auslösen kann, wurde eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Isoprenalin ermittelt.

Die Varianzanalyse (ANOVA) der hämodynamischen Parameter nach Abschluß der Stabilisierungsphase hat ergeben, dass, bei einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$ , keine Unterschiede zwischen den Gruppen in den untersuchten Parametern bestanden. Es kann also von einer gleichen Grundgesamtheit ausgegangen werden, so dass eine Betrachtung der relativen Veränderungen durch Gruppenvergleich möglich ist. Der Perfusionsdruck lag bei 50 mmHg.

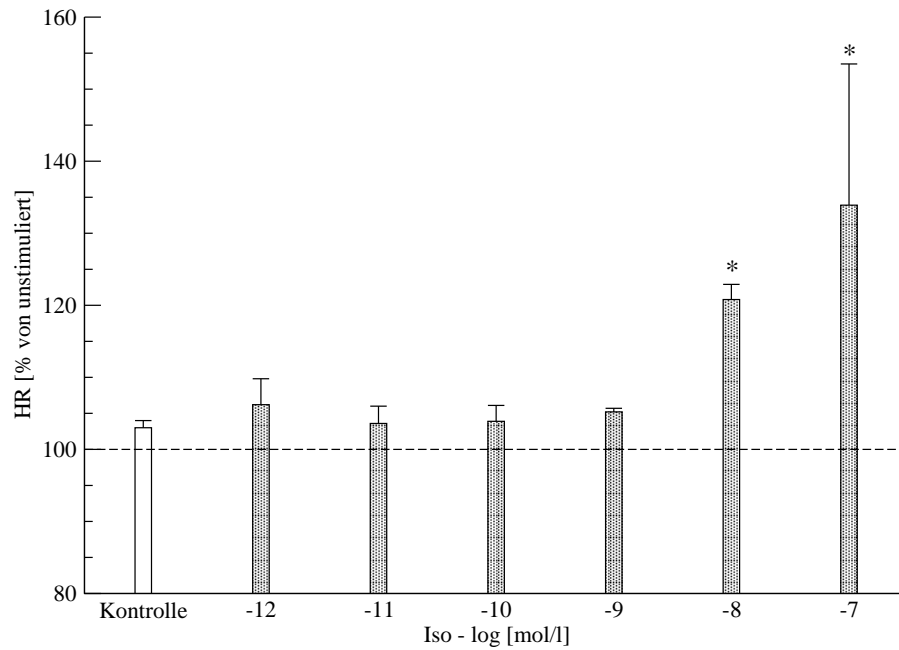
Isoprenalinkonzentrationen von  $10^{-12}$  bis  $10^{-10}$  mol/l erhöhten zwar in der Tendenz die Herzfrequenz, dieser Effekt war allerdings nicht statistisch signifikant. Bei höheren ISO-Konzentrationen ( $10^{-9}$  bis  $10^{-7}$  mol/l) war die HR-Erhöhung signifikant stärker ausgeprägt, wobei der Herzfrequenzanstieg konzentrationsabhängig war (Abb. 3.1).

Der LVDP reagierte gleichartig konzentrationsabhängig. In Konzentrationen von  $10^{-12}$  bis  $10^{-9}$  mol/l war keine Änderung des LVDP zu beobachten und erst ab einer Konzentration von  $10^{-8}$  mol/l erfolgte ein Anstieg des LVDP von  $82,7 \pm 13,1$  auf  $112,3 \pm 21,9$  mmHg bzw. von  $110,8 \pm 11,1$  auf  $173,1 \pm 32,1$  mmHg bei  $10^{-7}$  mol/l (Abb. 3.2). Ein analoges Verhalten zeigte sich in  $+dP/dt_{\max}$  und  $-dP/dt_{\min}$  (Abb. 3.4 und Abb. 3.5).

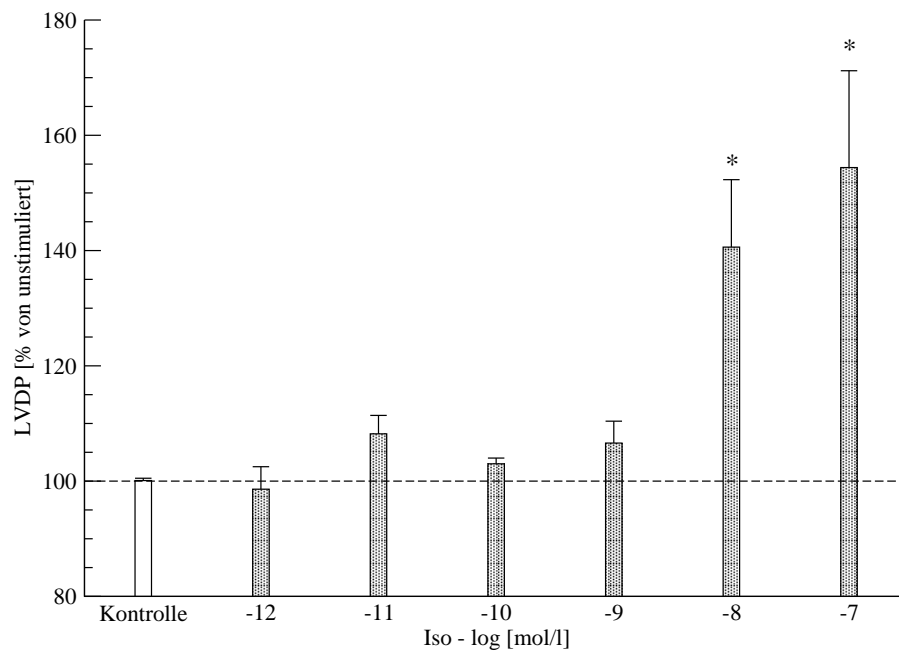
Beim Perfusionsdruck war bei  $10^{-12}$  bis  $10^{-9}$  mol/l ISO kein Effekt zu beobachten. Ab  $10^{-8}$  mol/l ISO fiel der Perfusionsdruck von  $50,0 \pm 1,6$  auf  $37,8 \pm 4,4$  mmHg ab. Bei  $10^{-7}$  mol/l ISO war der Perfusionsdruckabfall wiederum nicht so stark ausgeprägt, aber immer noch signifikant ( $50,1 \pm 2,5$  auf  $44,3 \pm 3,5$  mmHg, Abb. 3.3).

In der Zusammenschau der Ergebnisse kann man erkennen, dass eine Stimulation der  $\beta$ -Adrenozeptoren mit Isoprenalinkonzentrationen unterhalb von  $10^{-9}$  mol/l keine hämodynamisch relevanten Effekte am Herz auslöste.

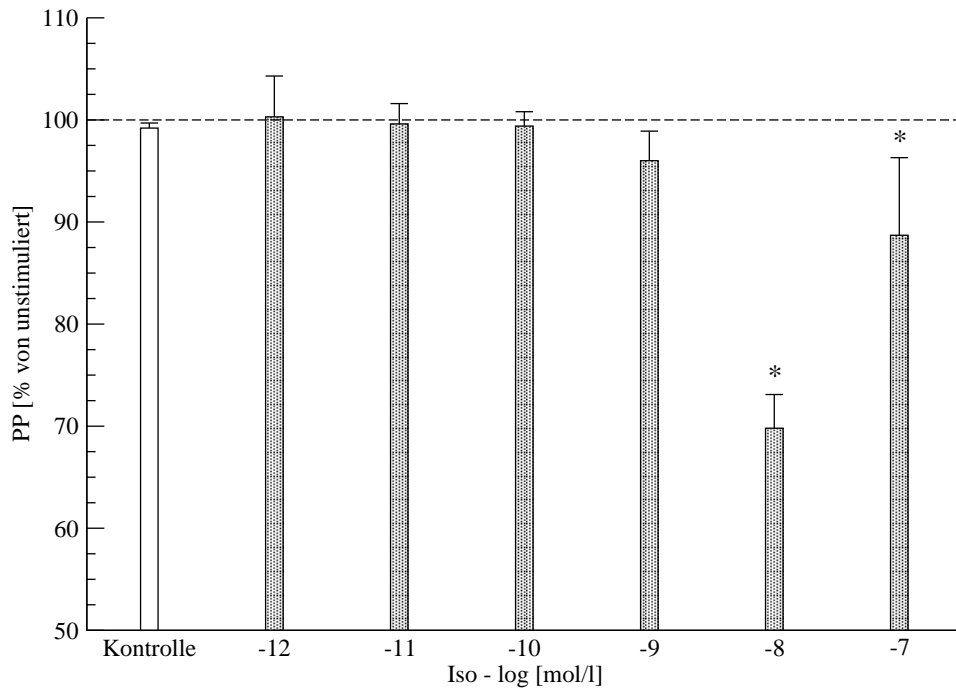
Der anhand des LVDP berechnete  $EC_{50}$  betrug  $9,9 \pm 0,5 * 10^{-9}$  mol/l.



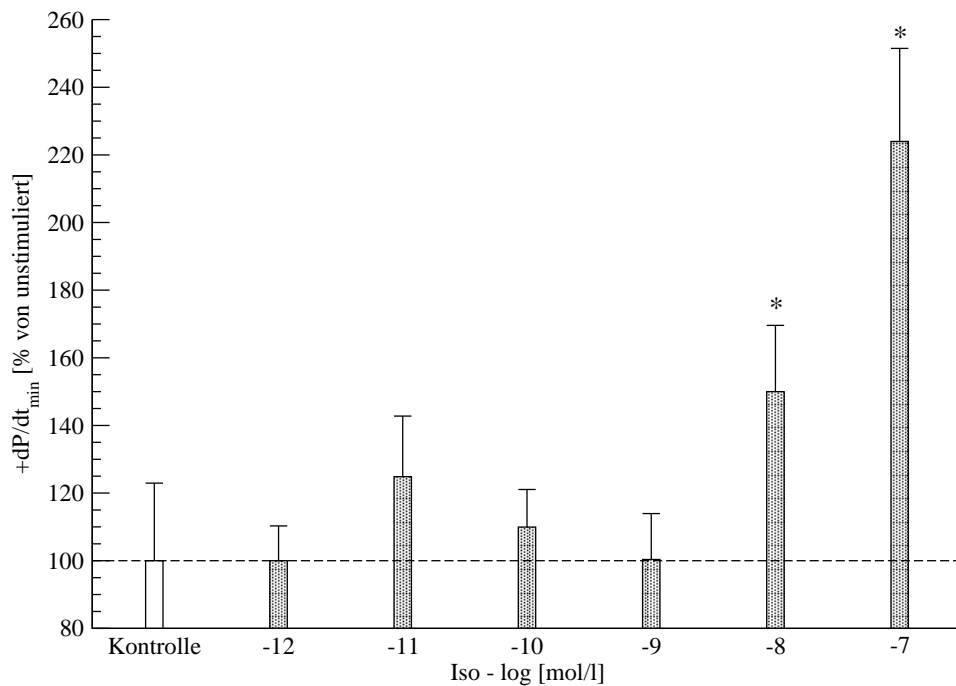
**Abbildung 3.1:** Der Effekt von Isoprenalalin auf die Herzfrequenz unter Normoxie. Auf der Abszisse sind die verwendeten Isoprenalinkonzentration in mol/l aufgetragen. Prä-interventionell bestand kein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM. \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.  $n = 6$



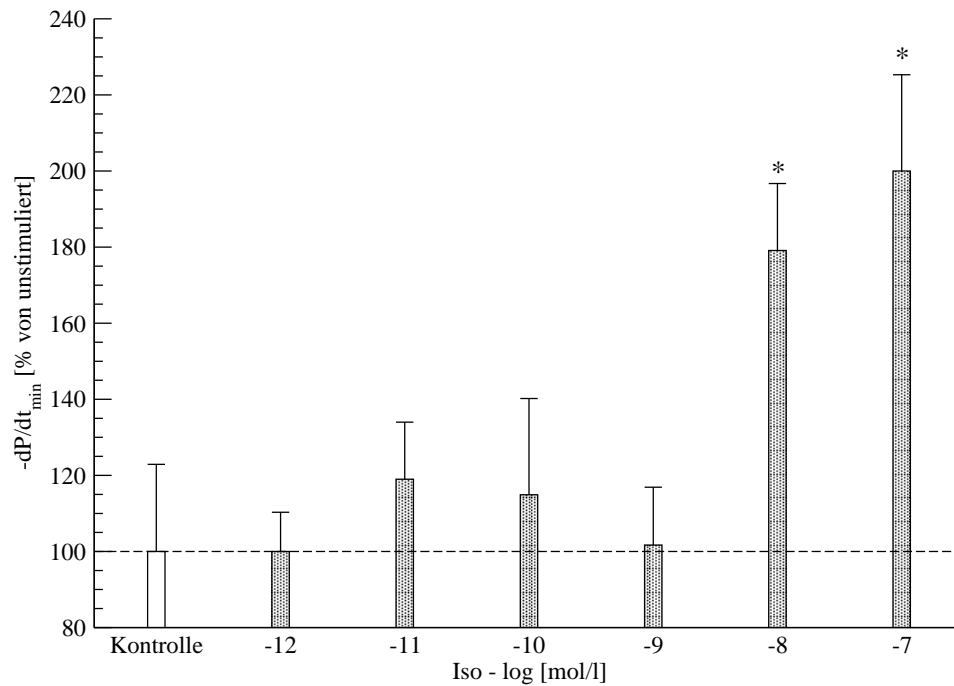
**Abbildung 3.2:** Der Effekt von Isoprenalalin auf den LVDP unter Normoxie. Auf der Abszisse sind die verwendeten Isoprenalinkonzentration in mol/l aufgetragen. Prä-interventionell bestand kein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM. \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.  $n = 6$



**Abbildung 3.3:** Der Effekt von Isoprenalin auf den PP unter Normoxie. Auf der Abszisse sind die verwendeten Isoprenalinkonzentration in mol/l aufgetragen. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM. \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.  $n = 6$



**Abbildung 3.4:** Der Effekt von Isoprenalin auf +dP/dt<sub>max</sub> unter Normoxie. Auf der Abszisse sind die verwendeten Isoprenalinkonzentration in mol/l aufgetragen. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM. \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.  $n = 6$



**Abbildung 3.5:** Der Effekt von Isoprenalin auf  $-dP/dt_{\min}$  unter Normoxie. Auf der Abszisse sind die verwendeten Isoprenalinkonzentration in mol/l aufgetragen. Die Werte sind dargestellt als  $MW \pm SEM$ . \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.  $n = 6$

### 3.1.2 Einfluss wiederholter Isoprenaliningaben

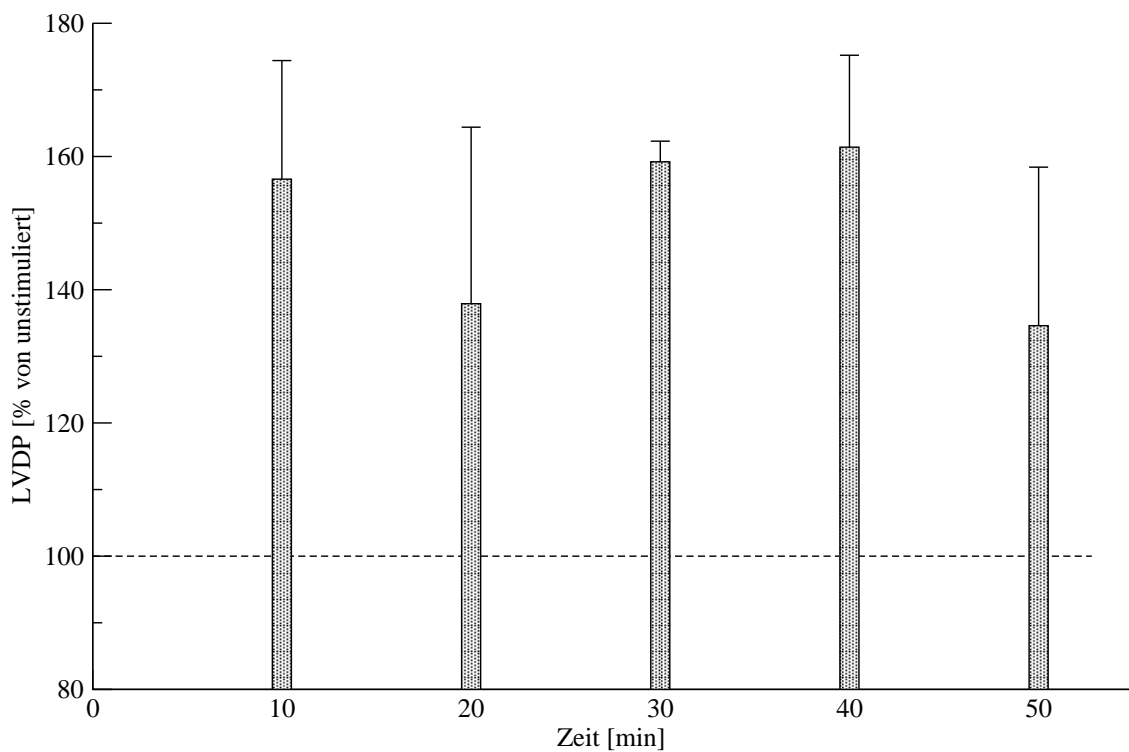
Es sollte die Fragestellung untersucht werden, ob  $\beta$ -Adrenozeptoren durch wiederholte Stimulation mit Isoprenalin, in Abhängigkeit von der Konzentration und der Applikationsdauer, desensibilisiert werden können.

Aufgrund der oben dargestellten Ergebnisse wurde hierzu eine hämodynamisch wirksame ISO-Konzentration von  $10^{-8}$  bzw.  $10^{-7}$  mol/l verwendet.

#### 3.1.2.1 Isoprenalin 10 nmol/l für 2 Minuten

$10^{-8}$  mol/l ISO führte initial zu einer Zunahme des LVDP um  $56,6 \pm 17,8$  % auf  $134,5 \pm 20,0$  mmHg. Die nachfolgenden Isoprenaliningaben führten ebenfalls zu Steigerungen des LVDP, wobei eine Abschwächung des Druckanstieges nach wiederholter Stimulation nicht festgestellt werden konnte (siehe Abb. 3.6).

Die übrigen hämodynamischen Parameter zeigten bei wiederholter  $\beta$ -AR-Aktivierung eine im Vergleich zur ersten ISO-Gabe unveränderte Reaktion (vgl. Tab. 3.1).



**Abbildung 3.6:** Der Effekt von wiederholter Isoprenalingabe auf den LVDP unter normoxen Bedingungen. Die Herzen wurden jeweils mit einer Isoprenalinkonzentration von  $10^{-8}$  mol/l 2 Minuten stimuliert. Die Prozentwerte sind auf den jeweiligen vorherigen nichtstimulierten Zustand bezogen. Eine Abschwächung der Aktivierbarkeit der  $\beta$ -AR war nicht zu beobachten. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM.  $n = 7$

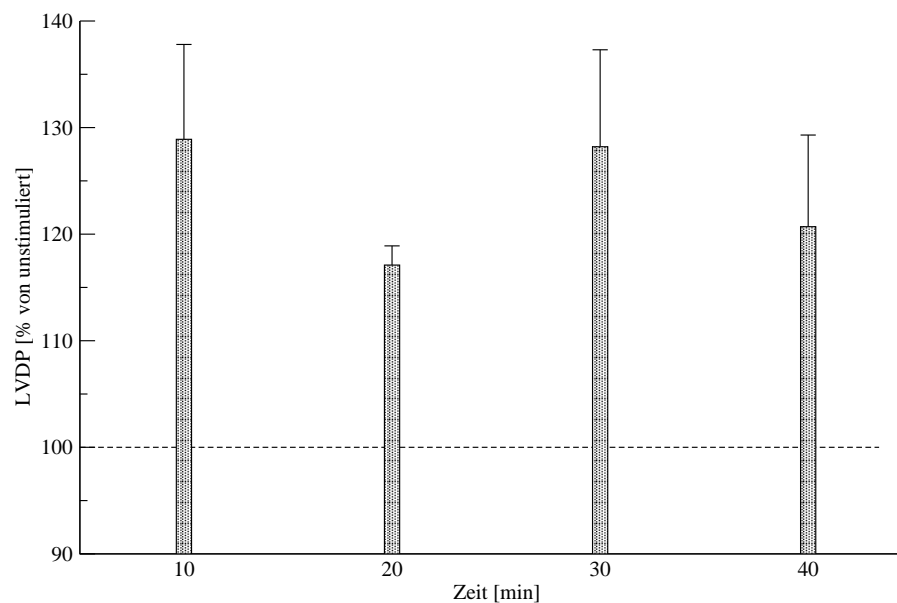
Zeit [min]	LVDP [mmHg]	HR [ $\text{min}^{-1}$ ]	LVDP $\times$ HR [mmHg/min]	PP [mmHg]	$-\text{dP}/\text{dt}_{\text{min}}$ [mmHg/s]	$+\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ [mmHg/s]
0	88,5 $\pm$ 15,2	253 $\pm$ 36	20812 $\pm$ 3349	49,3 $\pm$ 1,1	2057 $\pm$ 299	2743 $\pm$ 355
10	134,5 $\pm$ 20,0	249 $\pm$ 63	39973 $\pm$ 1661	43,2 $\pm$ 2,3	3342 $\pm$ 632	4443 $\pm$ 914
20	115,8 $\pm$ 18,7	292 $\pm$ 74	36573 $\pm$ 3877	41,7 $\pm$ 1,5	3214 $\pm$ 745	4114 $\pm$ 937
30	111,2 $\pm$ 15,8	306 $\pm$ 38	35618 $\pm$ 2005	41,0 $\pm$ 1,2	3129 $\pm$ 519	4185 $\pm$ 727
40	111,6 $\pm$ 20,1	304 $\pm$ 34	34793 $\pm$ 1127	42,3 $\pm$ 2,4	2971 $\pm$ 522	4071 $\pm$ 787
50	104,5 $\pm$ 19,0	307 $\pm$ 24	32393 $\pm$ 3307	42,6 $\pm$ 2,5	2943 $\pm$ 600	4200 $\pm$ 640

**Tabelle 3.1:** Hämodynamische Daten bei repetitiver normoxer ISO Stimulation ( $10^{-8}$  mol/l, 2 min intrakardial, anschließend 10 min auswaschen, nach Stabilisierungsphase Messpunkt 0 ohne Isoprenalin). Die Werte sind MW  $\pm$  SEM.  $n = 6$



### 3.1.2.2 Isoprenalin 10 nmol/l für 5 Minuten

Die Verlängerung der Zeit, in der Isoprenalin im Herz verblieb, führte zu keiner Veränderung der Aktivierbarkeit der  $\beta$ -AR. Wie aus Abb. 3.7 zu ersehen ist, folgte auf jede ISO-Gabe eine Zunahme des LVDP, ohne dass es zu einer signifikanten Abschwächung der ISO-Antwort gekommen wäre. In den übrigen gemessenen Parametern war ein vergleichbares Verhalten zu beobachten (vgl. Tab. 3.2).



**Abbildung 3.7:** Der Effekt von wiederholten Isoprenalingaben auf den LVDP unter normoxen Bedingungen. Die Herzen wurden jeweils mit einer IsoprenalinKonzentration von  $10^{-8}$  mol/l 5 Minuten stimuliert. Darstellung als Prozent von unstimuliert. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM.  $n = 6$

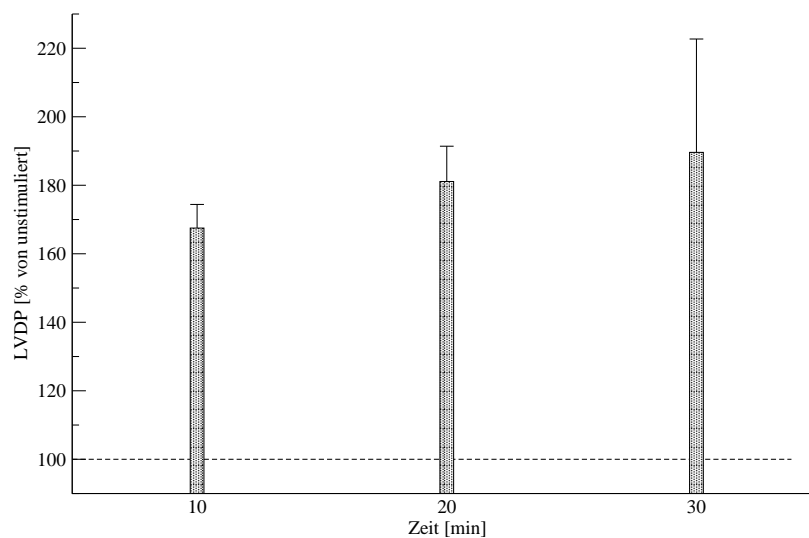
Zeit [min]	LVDP [mmHg]	HR [ $\text{min}^{-1}$ ]	LVDPxHR [mmHg/min]	PP [mmHg]	$-\text{dP}/\text{dt}_{\text{min}}$ [mmHg/s]	$+\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ [mmHg/s]
0	102,8 $\pm$ 11,6	216 $\pm$ 61	22897 $\pm$ 2484	48,6 $\pm$ 0,7	2167 $\pm$ 468	3267 $\pm$ 635
10	129,8 $\pm$ 14,2	256 $\pm$ 45	30135 $\pm$ 2028	43,8 $\pm$ 2,9	2950 $\pm$ 532	4667 $\pm$ 572
20	115,8 $\pm$ 16,6	273 $\pm$ 41	31351 $\pm$ 5641	45,7 $\pm$ 5,5	2917 $\pm$ 504	4433 $\pm$ 668
30	113,9 $\pm$ 16,1	273 $\pm$ 54	30991 $\pm$ 7857	49,8 $\pm$ 8,1	2800 $\pm$ 576	4333 $\pm$ 635
40	114,8 $\pm$ 10,9	269 $\pm$ 45	30106 $\pm$ 5324	50,2 $\pm$ 13,7	2900 $\pm$ 415	4533 $\pm$ 596

**Tabelle 3.2:** Hämodynamische Daten bei repetitiver normoxer ISO Stimulation ( $10^{-8}$  mol/l, 5 min intrakardial, anschließend 10 min auswaschen, nach Stabilisierungsphase Messpunkt 0 ohne Isoprenalin). Die Werte sind MW  $\pm$  SEM.  $n = 6$

### 3.1.2.3 Isoprenalin 100 nmol/l für 2 Minuten

Um zu überprüfen, ob bei einer höheren Isoprenalinkonzentration bei gleicher Stimulationsdauer eine Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren nachweisbar ist, wurde mit einer Isoprenalinkonzentration von  $10^{-7}$  mol/l für 2 Minuten stimuliert.

Initial führte dies zu einer Zunahme des LVDP von  $103,1 \pm 32,9$  auf  $167,8 \pm 39,3$  mmHg. Wie aus Abb. 3.8 ersichtlich ist, führte auch die wiederholte Gabe dieser höheren Konzentration nicht zu einer Abschwächung der Reaktion des Herzens auf ISO. Der prozentuale Anstieg des LVDP nahm bei zunehmender Anzahl ISO-Stimulationen geringfügig zu. Eine Desensibilisierung der  $\beta$ -AR ließ sich nicht erreichen. Die anderen kardialen Parameter zeigten ebenfalls keine Anzeichen einer Desensibilisierung (vgl. Tab 3.3).



**Abbildung 3.8:** Der Effekt von wiederholten Isoprenalingaben auf den LVDP unter normoxen Bedingungen. Die Herzen wurden jeweils mit  $10^{-7}$  mol/l Isoprenalin 2 Minuten stimuliert. Darstellung als Prozent von unstimuliert, MW  $\pm$  SEM.  $n = 6$

Zeit [min]	LVDP [mmHg]	HR [ $\text{min}^{-1}$ ]	LVDPxHR [mmHg/min]	PP [mmHg]	$-\text{dP}/\text{dt}_{\text{min}}$ [mmHg/s]	$+\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ [mmHg/s]
0	$103,1 \pm 30,0$	$204 \pm 54$	$15697 \pm 1272$	$48,3 \pm 0,0$	$2050 \pm 629$	$3117 \pm 479$
10	$167,8 \pm 35,8$	$269 \pm 26$	$45226 \pm 2190$	$41,3 \pm 1,9$	$4166 \pm 876$	$7233 \pm 1525$
20	$136,6 \pm 31,3$	$277 \pm 24$	$35559 \pm 3749$	$43,0 \pm 0,4$	$3800 \pm 1035$	$5967 \pm 1462$
30	$123,2 \pm 26,2$	$286 \pm 22$	$34276 \pm 5915$	$43,49 \pm 2,3$	$3517 \pm 1014$	$5533 \pm 1326$

**Tabelle 3.3:** Hämodynamische Daten bei repetitiver normoxer ISO Stimulation ( $10^{-7}$  mol/l, 2 min intrakardial, 10 min auswaschen, nach Stabilisierungsphase Messpunkt 0 ohne Isoprenalin). Die Werte sind MW  $\pm$  SEM.  $n = 6$

### 3.1.3 Isoprenalin 10 nmol/l für 45 Minuten

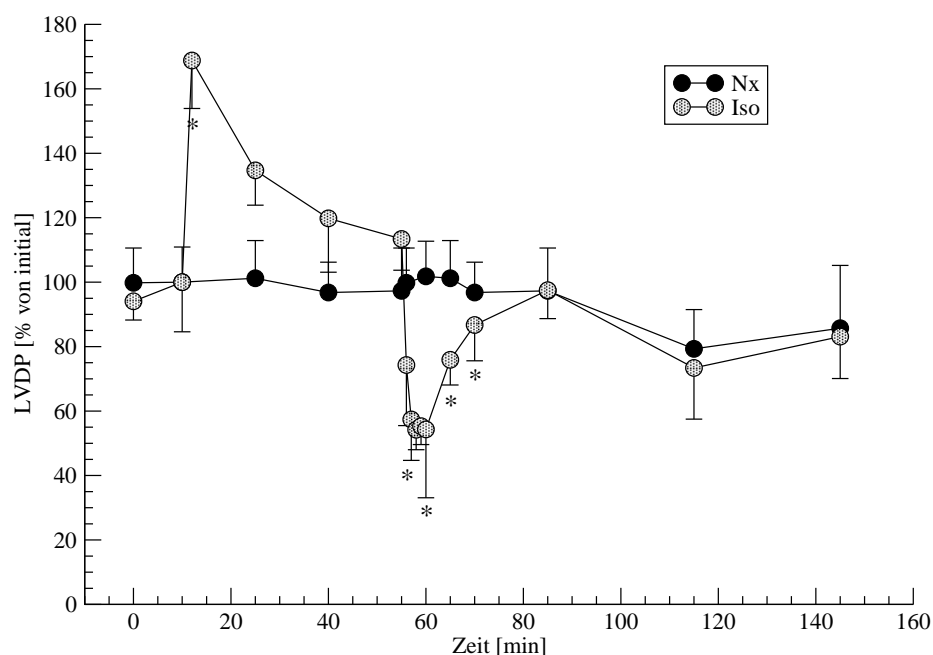
Bei einer prolongierten Stimulation mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin von 45 Minuten zeigte sich initial ein transientser LVDP-Anstieg von  $96,4 \pm 13,7$  auf  $161,0 \pm 15,5$  mmHg ( $p < 0,05$  vs. Nx). Nach 15 Minuten war der LVDP im Vergleich mit den normoxen Kontrollen nicht mehr signifikant erhöht. Nach 45 Minuten war er bis auf  $108,5 \pm 13,7$  mmHg abgesunken.

Mit Beginn der Perfusion mit dem Standardpuffer fiel der LVDP auf ein signifikant niedrigeres Niveau ( $p < 0,05$  vs. Nx) mit dem Minimum von  $52,0 \pm 9,1$  mmHg nach 3 Minuten. Hiernach setzte eine langsame Funktionserholung ein. Nach 30 Minuten war der LVDP wieder auf dem Niveau der normoxen Kontrollen und zeigte auch im weiteren Verlauf keine Auffälligkeiten (vgl. Abb. 3.9).

Die Herzfrequenz hielt nach einem signifikanten Anstieg von  $287 \pm 23$  auf  $326 \pm 20$   $\text{min}^{-1}$  dieses Niveau während der gesamten Isoprenalinstimulationsdauer (vgl. Tab. 3.4).

Aus dem Perfusionsdruck war ersichtlich, dass die Herzen wie erwartet auf Isoprenalin mit einer Koronardilatation reagierten. Während der gesamten Perfusion mit Isoprenalin war dieser Effekt messbar.

Die Relaxations- und Kontraktionsgeschwindigkeit reagierten gleichsinnig mit einer initialen Zunahme von  $2013 \pm 340$  auf  $3729 \pm 609$  mmHg/s bzw.  $3429 \pm 853$  auf  $6286 \pm 1896$  mmHg/s ( $p < 0,05$  vs. Nx).



**Abbildung 3.9:** Der Effekt von Isoprenalin auf den LVDP unter normoxen Bedingungen.

Die Herzen wurden mit einer Isoprenalinkonzentration von  $10^{-8}$  mol/l 45 Minuten stimuliert und danach 90 Minuten mit dem Standardpuffer perfundiert. Die Prozentwerte sind auf den initialen nichtstimulierten Zustand bezogen. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM.  $n = 6$ , \* :  $p < 0,05$  vs. Nx

Zeit [min]	LVDP [mmHg]	HR [ $\text{min}^{-1}$ ]	LVDP $\times$ HR [mmHg/min]	PP [mmHg]	$-\text{dP}/\text{dt}_{\text{min}}$ [mmHg/s]	$+\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ [mmHg/s]
0	90,8 $\pm$ 15,1	271 $\pm$ 38	24648 $\pm$ 5936	50,2 $\pm$ 5,8	1814 $\pm$ 280	2957 $\pm$ 741
10	96,4 $\pm$ 13,7	287 $\pm$ 23	27607 $\pm$ 4160	48,9 $\pm$ 2,5	2014 $\pm$ 340	3429 $\pm$ 853
12	161,0 $\pm$ 15,5*	326 $\pm$ 20*	50183 $\pm$ 8771*	46,3 $\pm$ 3,4	3729 $\pm$ 609*	6286 $\pm$ 1896*
25	129,5 $\pm$ 19,8	326 $\pm$ 50	40140 $\pm$ 8450	40,5 $\pm$ 3,5	3214 $\pm$ 538	4971 $\pm$ 968
40	115,6 $\pm$ 24,1	362 $\pm$ 23	40343 $\pm$ 10610	42,1 $\pm$ 6,2	2914 $\pm$ 620	4729 $\pm$ 1467
55	108,5 $\pm$ 13,7	359 $\pm$ 19	37673 $\pm$ 6635	42,5 $\pm$ 5,7	2857 $\pm$ 320	4714 $\pm$ 1189
56	70,2 $\pm$ 15,4*	358 $\pm$ 20*	25629 $\pm$ 5403*	40,8 $\pm$ 5,6*	1971 $\pm$ 555	3071 $\pm$ 575
57	54,4 $\pm$ 10,6	342 $\pm$ 14	19221 $\pm$ 3327	40,3 $\pm$ 5,8	1514 $\pm$ 559	2314 $\pm$ 564
58	52,0 $\pm$ 9,1	325 $\pm$ 12	17318 $\pm$ 2801	42,1 $\pm$ 6,5	1357 $\pm$ 410	2057 $\pm$ 342
59	53,5 $\pm$ 11,0	315 $\pm$ 18	16712 $\pm$ 3140	44,1 $\pm$ 7,4	1343 $\pm$ 297	2071 $\pm$ 225
60	53,5 $\pm$ 25,6*	304 $\pm$ 24*	17056 $\pm$ 7284	48,4 $\pm$ 9,1	1400 $\pm$ 283	2186 $\pm$ 617
65	75,3 $\pm$ 14,6*	297 $\pm$ 19*	21970 $\pm$ 4583	64,7 $\pm$ 12,0	1729 $\pm$ 243	2986 $\pm$ 856
70	82,3 $\pm$ 10,4*	288 $\pm$ 27*	23467 $\pm$ 3498	76,8 $\pm$ 16,2	1786 $\pm$ 113	3257 $\pm$ 674
85	93,3 $\pm$ 12,2	281 $\pm$ 17*	25717 $\pm$ 3012*	91,7 $\pm$ 16,1	1929 $\pm$ 231	3571 $\pm$ 757
115	69,4 $\pm$ 13,4	289 $\pm$ 19*	18284 $\pm$ 2001	111,5 $\pm$ 9,9	1557 $\pm$ 118	2629 $\pm$ 373
145	79,2 $\pm$ 13,1	289 $\pm$ 18*	20843 $\pm$ 3314	123,2 $\pm$ 6,9	1743 $\pm$ 199	3014 $\pm$ 584

**Tabelle 3.4:** Hämodynamische Daten bei prolongierter normoxer ISO Stimulation ( $10^{-8}$  mol/l, nach Zeitpunkt 10 45 min intrakardial). Die Werte sind MW  $\pm$  SEM.  $n = 6$ , \* :  $p < 0,05$  vs. Nx

## 3.2 Einfluss $\beta$ -adrenerger Stimulation auf die post-ischämische Funktionserholung

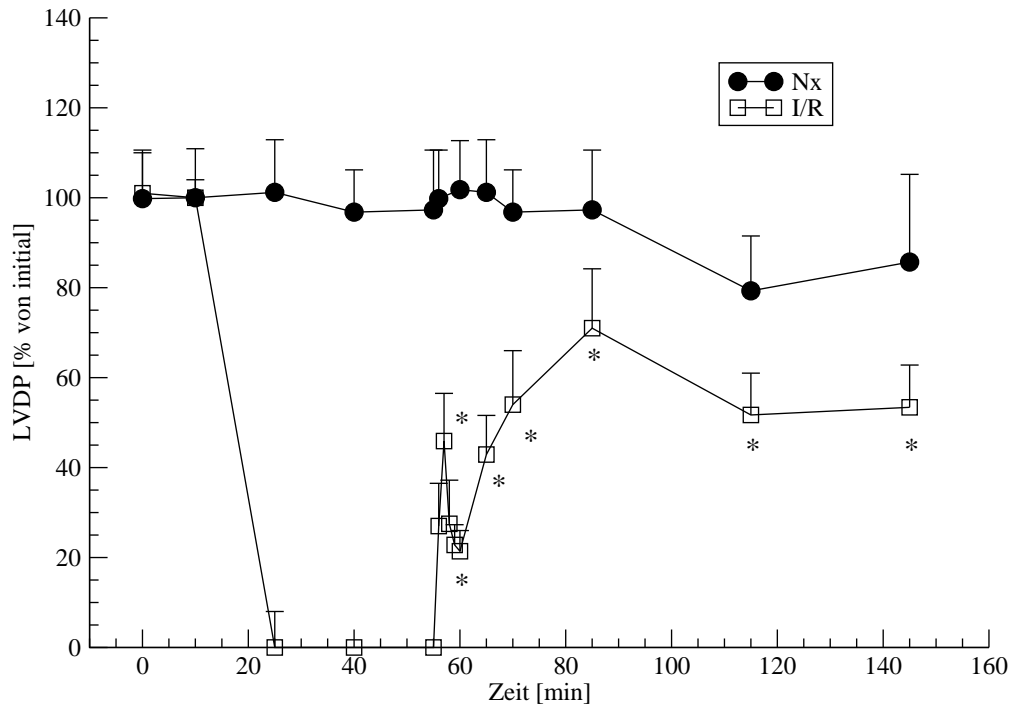
### 3.2.1 Normoxie und ischämische Kontrolle

Bei einer Versuchszeit von 160 Minuten verhielt sich das normox salin perfundierte Langendorff-Präparat stabil (Abb. 3.10). Wie aus Tab. 3.5 zu ersehen, traten während der Versuchsdauer im LVDP, HR, LVDPxHR nur geringe Schwankungen auf. Der Perfusionsdruck stieg gegen Ende der Versuchsdauer bis auf  $118,3 \pm 7,6$  mmHg an, was auf eine Erhöhung des koronaren Widerstandes hindeutet.

Bei der ischämischen Kontrolle fiel der LVDP während der Null-Fluss-Ischämie auf 0% ab. In der Reperfusion stieg der LVDP innerhalb von 2 Minuten auf  $45,9 \pm 10,6\%$  von prä-ischämisch an. Danach fiel der LVDP im Sinne eines Reperfusionsschadens auf  $21,4 \pm 4,6\%$  ab. 5 Minuten nach Beginn der Reperfusion erfolgte ein Wiederanstieg des LVDP mit einem Maximum von  $71,0 \pm 13,2\%$  30 Minuten nach Reperfusion. Bis zum Ende der Versuchsdauer entwickelten die I/R-Herzen, wie erwartet, einen signifikant niedrigeren LVDP als die normox perfundierten Herzen ( $53,4 \pm 9,4\%$  vs.  $85,7 \pm 19,5\%$ ). Die Absolutwerte sind aus Tab. 3.6 ersichtlich.

Zeit [min]	LVDP [mmHg]	HR [min <sup>-1</sup> ]	LVDPxHR [mmHg/min]	PP [mmHg]	-dP/dt <sub>min</sub> [mmHg/s]	+dP/dt <sub>max</sub> [mmHg/s]
0	94,3 ± 21,5	188 ± 75	18470 ± 6582	48,1 ± 1,9	1713 ± 533	2575 ± 654
10	96,4 ± 12,4	222 ± 40	19847 ± 5480	48,5 ± 2,2	1975 ± 453	2913 ± 669
25	109,9 ± 16,1	216 ± 37	18742 ± 5061	49,7 ± 3,3	2138 ± 370	2913 ± 620
40	100,6 ± 11,4	216 ± 30	19388 ± 5702	49,6 ± 5,4	2038 ± 213	2913 ± 702
55	99,9 ± 11,3	180 ± 59	17280 ± 4977	55,4 ± 7,0	1925 ± 417	2925 ± 918
60	101,6 ± 7,9	160 ± 49	16543 ± 4965	56,7 ± 9,5	1988 ± 770	2763 ± 977
65	101,1 ± 10,8	160 ± 49	16657 ± 5064	62,9 ± 9,0	2013 ± 650	2888 ± 925
70	100,3 ± 8,4	167 ± 66	15973 ± 5912	65,4 ± 9,6	1850 ± 450	2888 ± 919
85	97,2 ± 9,4	179 ± 71	16754 ± 5877	82,0 ± 15,7	1800 ± 487	2813 ± 851
115	72,9 ± 4,3	202 ± 71	14270 ± 5389	108,7 ± 6,5	1563 ± 463	2150 ± 716
145	81,5 ± 7,7	189 ± 62	15742 ± 5602	118,3 ± 7,6	1600 ± 431	2313 ± 775

**Tabelle 3.5:** Hämodynamische Daten der Herzen bei normoxer Perfusion von insgesamt 165 Minuten Dauer. Die Herzen waren während der gesamten Versuchsdauer stabil. Die Werte sind MW ± SEM.  $n = 8$



**Abbildung 3.10:** LVDP im Zeitverlauf während 160 Minuten Perfusion mit dem Standardpuffer (Nx) bzw. 20 Minuten Stabilisierung, 45 Minuten Null-Fluss-Ischämie und 90 Minuten Reperfusion (I/R). Nach initialem LVDP-Anstieg, zeigte sich der erwartete Reperfusionsschaden in der I/R-Gruppe nach ca. 2 Minuten. Die Daten sind dargestellt als Prozent von prä-ischämisch. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. Nx: Normoxie Kontrolle  $n = 6$ , I/R: Ischämie und Reperfusion  $n = 7$ , \*  $p < 0,05$  vs. Nx.

Zeit [min]	LVDP [mmHg]	HR [min <sup>-1</sup> ]	LVDP $\times$ HR [mmHg/min]	PP [mmHg]	-dP/dt <sub>min</sub> [mmHg]	+dP/dt <sub>max</sub> [mmHg]
0	103,1 $\pm$ 17,8	221 $\pm$ 51	22657 $\pm$ 6354	49,4 $\pm$ 3,3	2150 $\pm$ 453	3033 $\pm$ 616
10	94,8 $\pm$ 16,3	230 $\pm$ 54	21812 $\pm$ 6268	49,9 $\pm$ 2,2	1933 $\pm$ 266	2788 $\pm$ 431
56	25,9 $\pm$ 12,4*	154 $\pm$ 54	2453 $\pm$ 1290*	60,2 $\pm$ 3,8	911 $\pm$ 557*	1233 $\pm$ 978*
57	43,2 $\pm$ 11,1	193 $\pm$ 81	11053 $\pm$ 4681	65,7 $\pm$ 6,5	1167 $\pm$ 408	1433 $\pm$ 667
58	27,8 $\pm$ 12,9	204 $\pm$ 24	5849 $\pm$ 3622	64,9 $\pm$ 6,0	1011 $\pm$ 515	1256 $\pm$ 683
59	22,6 $\pm$ 6,3	174 $\pm$ 73	4387 $\pm$ 2909	61,7 $\pm$ 3,9	922 $\pm$ 442	1022 $\pm$ 585
60	21,2 $\pm$ 6,2*	140 $\pm$ 57	3526 $\pm$ 1950*	59,9 $\pm$ 2,9	856 $\pm$ 409*	1033 $\pm$ 525*
65	43,9 $\pm$ 10,8*	198 $\pm$ 80	10211 $\pm$ 3020*	57,7 $\pm$ 2,9	1133 $\pm$ 320*	1389 $\pm$ 484*
70	55,8 $\pm$ 16,0*	203 $\pm$ 66	12301 $\pm$ 3673	56,2 $\pm$ 2,9	1356 $\pm$ 356*	1722 $\pm$ 641*
85	65,2 $\pm$ 13,4*	231 $\pm$ 48	16833 $\pm$ 2150	59,5 $\pm$ 2,8	1700 $\pm$ 485	2011 $\pm$ 423*
115	51,6 $\pm$ 9,5*	235 $\pm$ 66	12615 $\pm$ 4168	69,7 $\pm$ 3,0*	1344 $\pm$ 356	1667 $\pm$ 383
145	51,9 $\pm$ 7,4*	243 $\pm$ 66	12168 $\pm$ 2468	87,9 $\pm$ 7,8*	1322 $\pm$ 365	1667 $\pm$ 411

**Tabelle 3.6:** Hämodynamische Daten der I/R-Herzen. Nach einer initialen 10 minütigen Stabilisierungsphase ist 10 Minuten normox perfundiert worden. Hiernach erfolgte die 45 minütige Ischämie (Messwerte nicht dargestellt), mit nachfolgenden 90 Minuten Reperfusion. Die Werte sind MW  $\pm$  SEM.  $n = 9$ , \* :  $p < 0,05$  vs. Nx

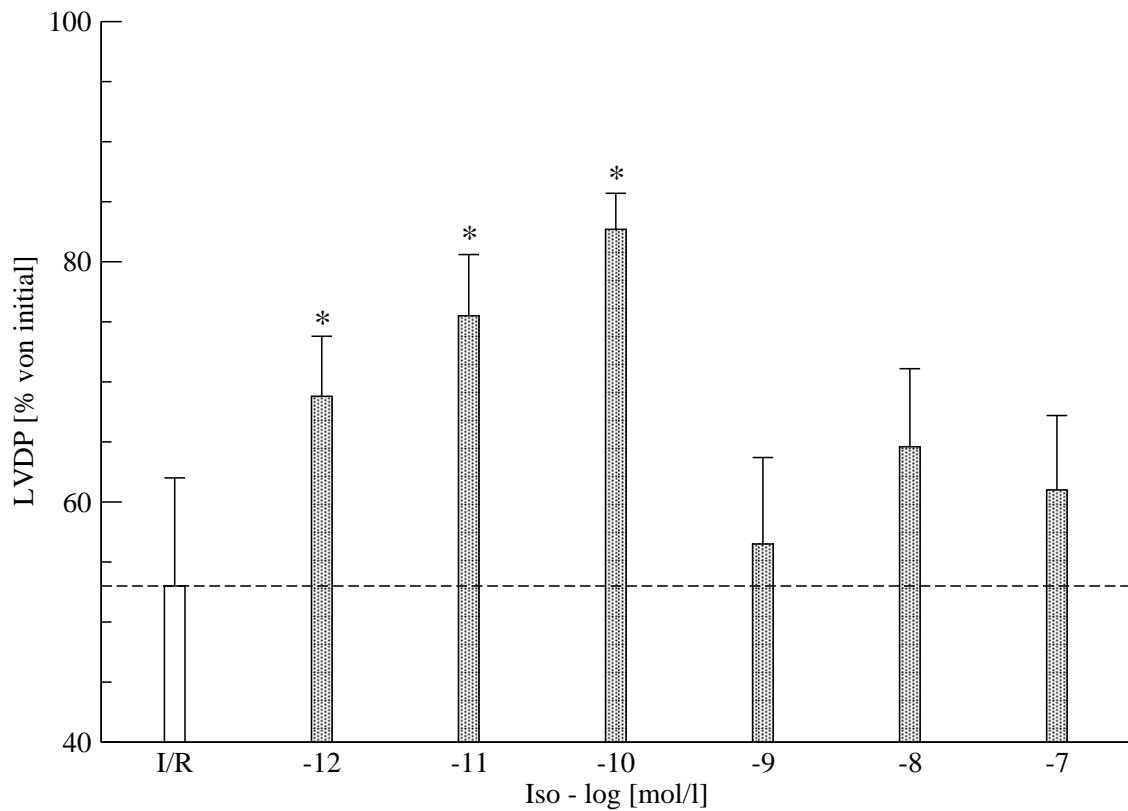
### 3.2.2 Isoprenalin prä- und intra-ischämisch

Es ist bekannt, dass ein pharmakologisches Preconditioning (PPC) mit Isoprenalin kardioprotektiv wirkt. In dieser Versuchsreihe wurde untersucht, ob es bei einem PPC analog zum ischämischen Preconditioning (IPC) notwendig ist, dass ein hämodynamischer oder energetischer Stress vor der Indexischämie auf das Herz einwirkt und die Kardioprotektion triggert. Weiterhin wurde untersucht, ob ein prä-ischämisches Auswaschen des Isoprenalins notwendig für die Induktion der Kardioprotektion ist. Hierzu verblieb Isoprenalin während der 45 minütigen Ischämie intrakardial und wurde erst zum Beginn der Reperfusion wieder aus dem Herz ausgewaschen. Die Reperfusionsphase dauerte 90 Minuten.

#### Linksventrikulärer Druck

Nach 90 Minuten Reperfusion war in den Versuchsgruppen mit Isoprenalinkonzentrationen von  $10^{-12}$  bis  $10^{-10}$  mol/l ein, im Vergleich zur I/R-Kontrolle, signifikant höherer LVDP zu messen (Abb. 3.11). Dieser Einfluss war konzentrationsabhängig. Bei einer Konzentration von  $10^{-10}$  mol/l Isoprenalin war die Funktionserholung mit  $82,7 \pm 3,0\%$  vom Initialwert vs.  $53,4 \pm 9,4\%$  am stärksten ausgeprägt. Eine weitere Herabsetzung der Isoprenalinkonzentration auf  $10^{-11}$  und  $10^{-12}$  mol/l führte zu keiner weiteren Verbesserung der linksventrikulären Funktion ( $75,5 \pm 5,1\%$  bzw.  $68,8 \pm 5,0\%$  von initial). Im Vergleich mit den kontinuierlich normox perfundierten Kontrollen zeigte sich kein signifikanter Unterschied im LVDP.

Bei höheren Isoprenalinkonzentrationen ( $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  mol/l) fand sich zwar eine geringfügige Funktionsverbesserung, die aber deutlich schwächer ausgeprägt war als bei den niedrigeren Konzentrationen. Das Signifikanzniveau im Vergleich mit den I/R-Kontrollen wurde nicht erreicht ( $70,00 \pm 5,89$  und  $66,29 \pm 8,65\%$  von initial,  $p < 0,05$ ).

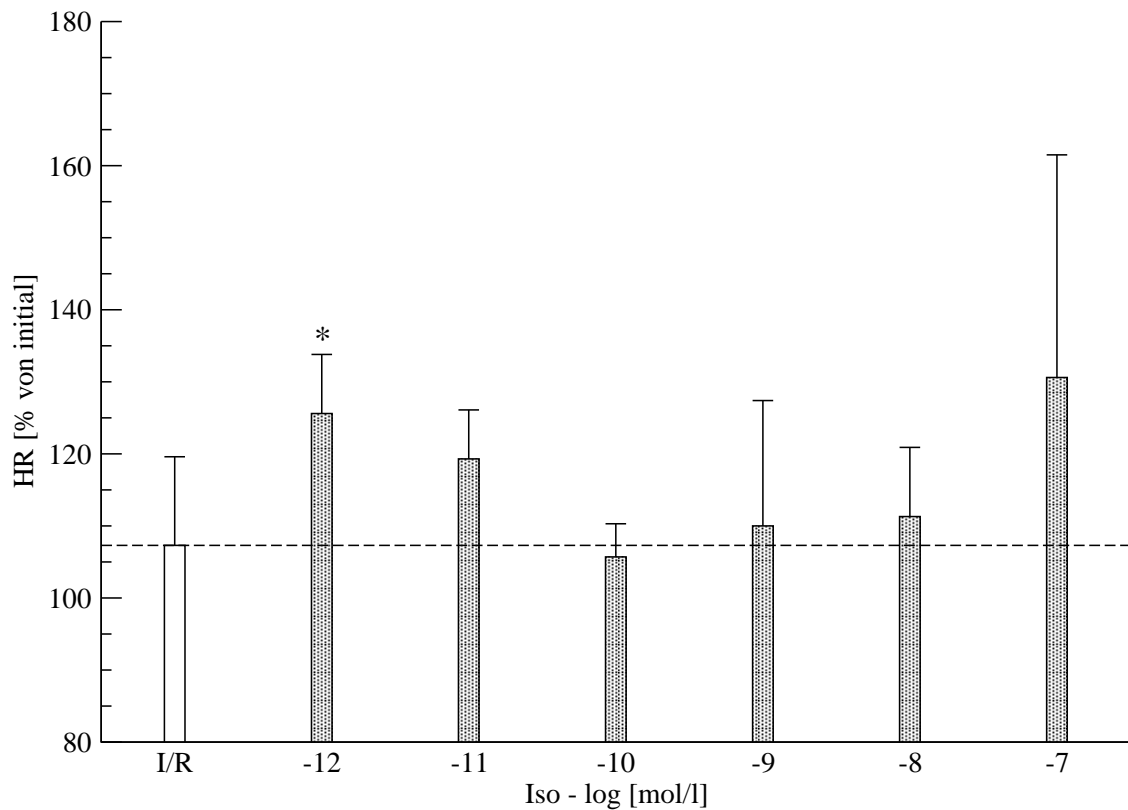


**Abbildung 3.11:** LVDP nach 45 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion. Isoprenalin in den angegebenen Konzentrationen 2 Minuten prä-ischämisch appliziert und intra-ischämisch intrakardial. Auswaschen zu Beginn der Reperfusion. Daten als Prozent von prä-ischämisch. LVDP-Absolut-Werte bei 100% waren bei  $97,8 \pm 20,4$  mmHg. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakongabe. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R.



### Herzfrequenz

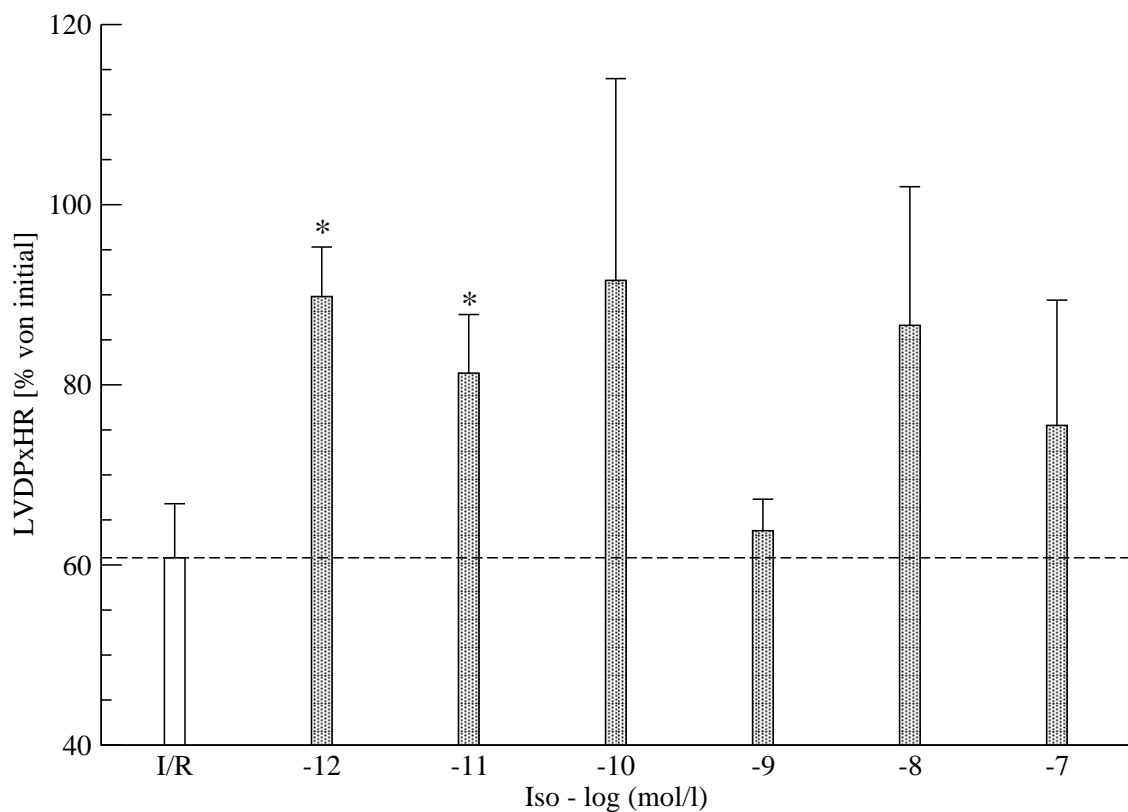
Die Herzfrequenz bei einer Konzentration von  $10^{-12}$  mol/l Isoprenalin lag über der ischämischen Kontrolle ( $125,6 \pm 8,2$  vs.  $97,0 \pm 15,1$  % von initial). Bei höheren Isoprenalinkonzentrationen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen (Abb. 3.12).



**Abbildung 3.12:** Herzfrequenz nach 45 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion. Isoprenalin prä- und intra-ischämisch intrakardial. Auswaschen zu Beginn der Reperfusion. Daten als Prozent von prä-ischämisch. HR-Absolut-Werte bei 100% waren bei  $230,5 \pm 55,8 \text{ min}^{-1}$ . Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakongabe. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R.

LVDP<sub>x</sub>HR

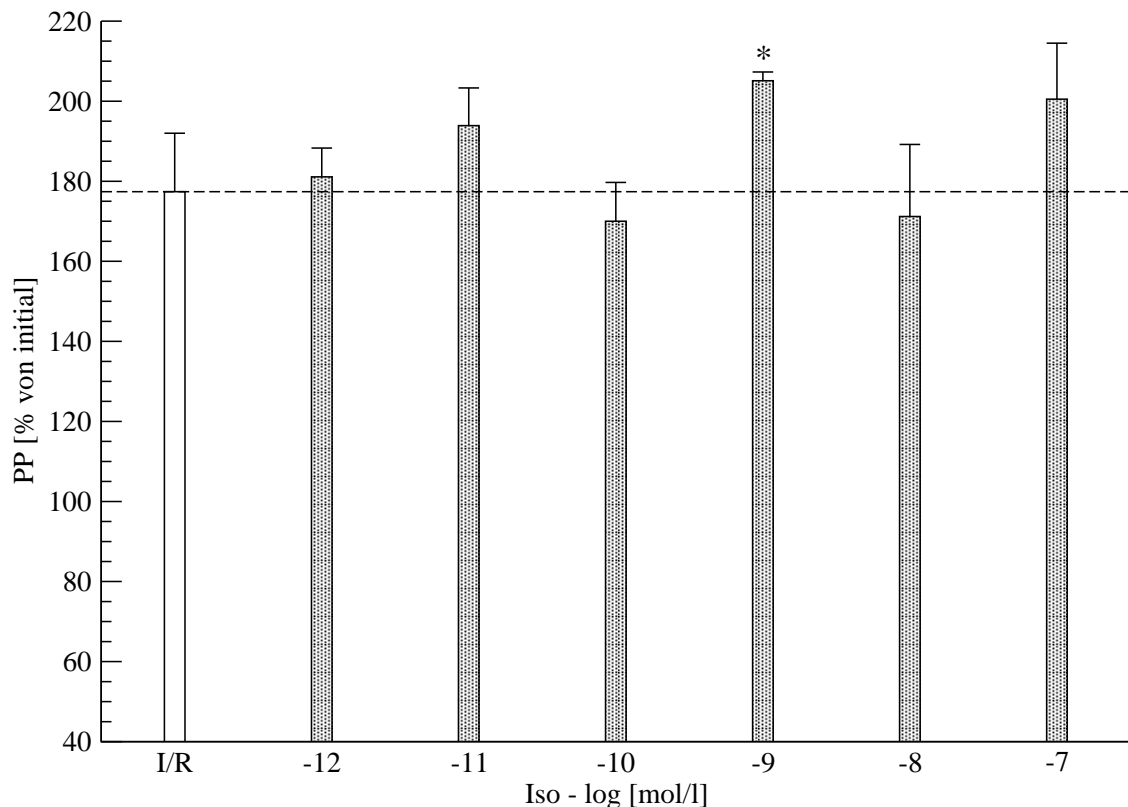
Der LVDP<sub>x</sub>HR lag bei den mit  $10^{-12}$  bis  $10^{-10}$  mol/l Isoprenalin behandelten Herzen bei 80–90 % von prä-ischämisch. Aufgrund einer hohen Standardabweichung wurde bei einer Konzentration von  $10^{-10}$  mol/l nicht das Signifikanzniveau erreicht, obwohl auch bei dieser Konzentration in diesem Parameter vom Trend eine Funktionsverbesserung zu sehen war (Abb. 3.13).



**Abbildung 3.13:** LVDP<sub>x</sub>HR 90 Minuten nach Reperfusion, nach einer 45 minütigen Ischämie. Isoprenalin in den angegebenen Konzentrationen 2 Minuten prä-ischämisch appliziert und intra-ischämisch intrakardial. Auswaschen zu Beginn der Reperfusion. Daten als Prozent von prä-ischämisch. LVDP<sub>x</sub>HR-Absolut-Werte bei 100% waren bei  $22055,3 \pm 5400$  mmHg. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakongabe. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R.

### Perfusionsdruck

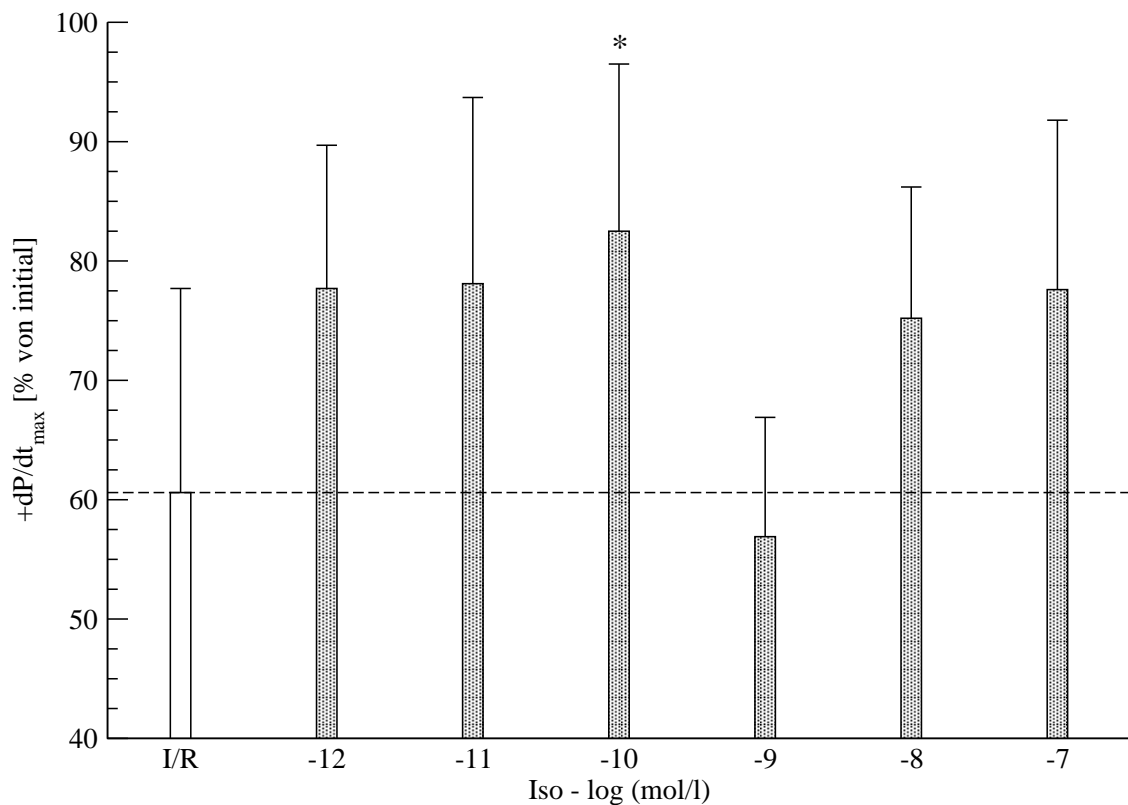
Der Perfusionsdruck war in allen Versuchsgruppen zum Ende der Reperfusionphase angestiegen. Wie aus Abb. 3.14 zu entnehmen, hat eine prä-ischämische  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation keine signifikanten Auswirkungen auf den Perfusionsdruck. Konzentrationsunabhängig schwankt der Perfusionsdruck der mit Isoprenalin behandelten Herzen um den Perfusionsdruck der I/R-Kontrollen.



**Abbildung 3.14:** Perfusionsdruck 90 Minuten nach Reperfusion, nach einer 45-minütigen Ischämie. Isoprenalin in den angegebenen Konzentrationen 2 Minuten prä-ischämisch appliziert und intra-ischämisch intrakardial. Auswaschen zu Beginn der Reperfusion. Daten als Prozent von prä-ischämisch. PP-Absolut-Werte bei 100% waren bei  $48,9 \pm 2,5$  mmHg. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakongabe. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R.

### Kontraktionsgeschwindigkeit

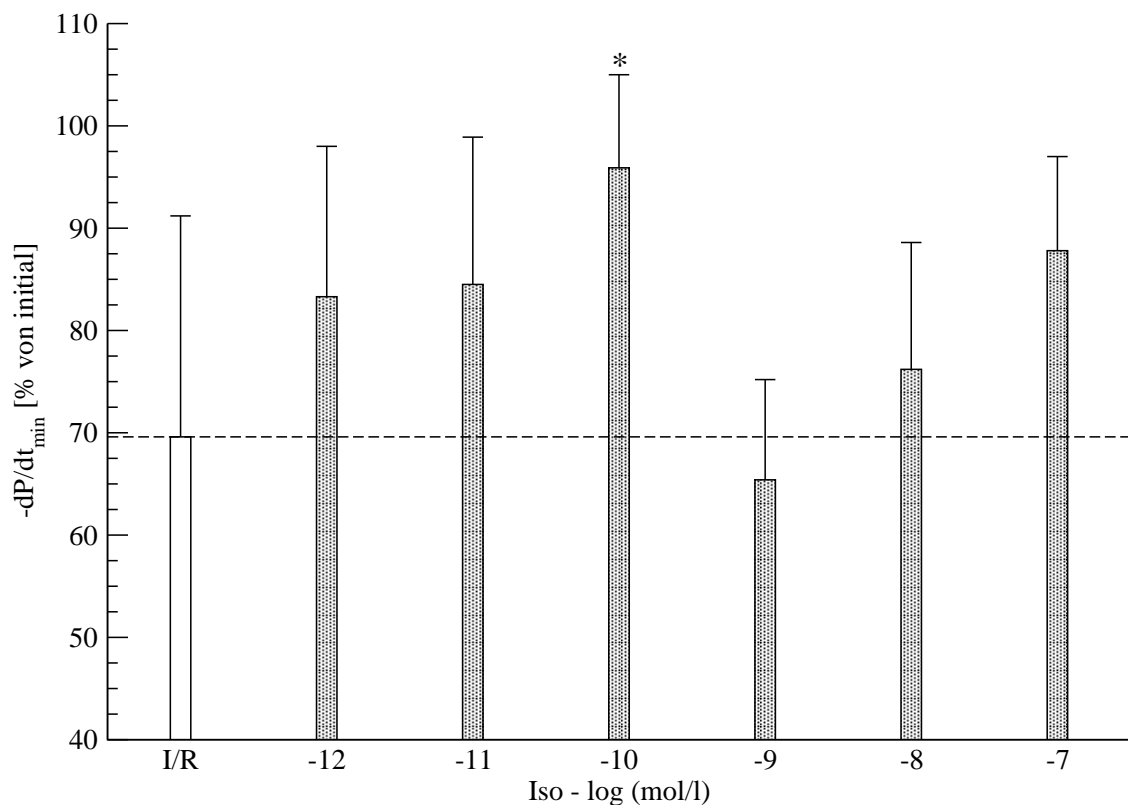
$+dP/dt_{\max}$  zeigte bei ISO-Konzentrationen von  $10^{-12}$  –  $10^{-10}$  mol/l eine post-ischämische Kontraktionsverbesserung im Vergleich mit den I/R-Kontrollen. Dieser Effekt war bei  $10^{-10}$  mol/l mit  $2233 \pm 512$  vs.  $1666 \pm 411$  mmHg/s signifikant verbessert. Bei  $10^{-9}$  mol/l ISO fand sich eine im Vergleich mit den anderen ISO-Konzentration auffällig verminderte post-ischämische Kontraktionsgeschwindigkeit. Eine weitere Erhöhung der ISO-Konzentration resultierte in einer erneuten post-ischämischen Funktionserholung, auch wenn dieser Effekt nicht das Signifikanzniveau erreichte (Abb. 3.15).



**Abbildung 3.15:**  $+dP/dt_{\max}$  90 Minuten nach Reperfusion, nach einer 45 minütigen Ischämie. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakongabe. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R.

### Relaxationsgeschwindigkeit

Die Relaxationsgeschwindigkeit  $-dP/dt_{\min}$  zeigte ein ähnliches konzentrationsabhängiges Verhalten wie die Kontraktionsgeschwindigkeit. Die Protektion des Myokards war bei  $10^{-10}$  mol/l am ausgeprägtesten und hatte ein Minimum bei  $10^{-9}$  mol/l ISO. Bei höheren ISO-Konzentrationen kam es wieder zu einem post-ischämischen Anstieg des Relaxationsgeschwindigkeit (Abb. 3.16).



**Abbildung 3.16:**  $-dP/dt_{\min}$  90 Minuten nach Reperfusion, nach einer 45 minütigen Ischämie. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakogabe. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R.

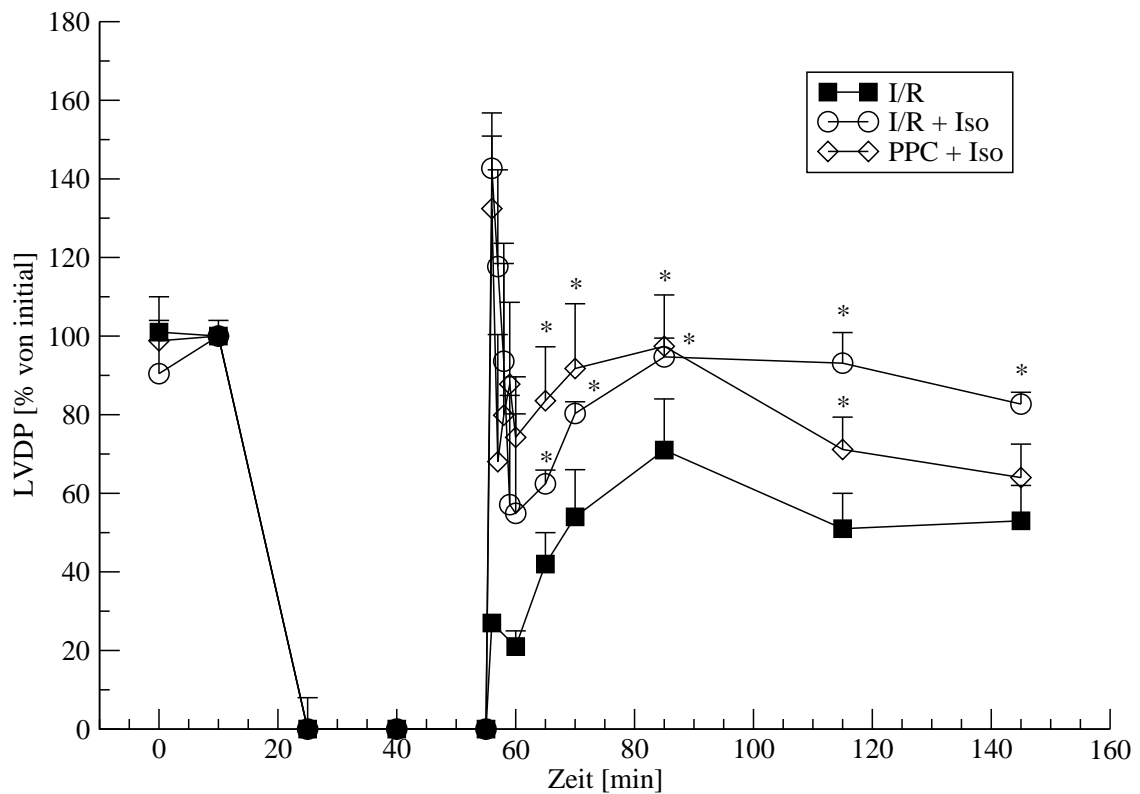
### 3.2.3 Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin

Als nächstes wurde untersucht, ob die Stimulation von  $\beta$ -Adrenozeptoren vor der Index-Ischämie ausreichend ist um eine post-ischämische Funktionserholung zu erreichen, oder ob dieser protektive Effekt von der intra-ischämischen Anwesenheit von Isoprenalin abhängt.

Hierzu wurde ein klassisches pharmakologisches Preconditioning (PPC) mit dem Versuchsprotokoll mit intra-ischämischer Anwesenheit von Isoprenalin verglichen. Hierzu wurde die 3.2.2 ermittelte maximal kardioprotektive Isoprenalin-Konzentration von  $10^{-10}$  mol/l gewählt. Beim PPC wurde Isoprenalin 5 Minuten vor der Index-Ischämie wieder ausgewaschen.

Im Vergleich zu den I/R-Kontrollen zeigte sich in den ersten 60 Minuten eine signifikante Verbesserung der post-ischämischen Funktion bei beiden Versuchsprotokollen (vgl. Abb. 3.17,  $93,1 \pm 7,8$  %,  $71,1 \pm 8,2$  % vs  $51,7 \pm 9,3$  % von initial,  $p < 0,05$  vs. I/R).

Dieser protektive Effekt war beim klassischen PPC 90 Minuten nach Reperfusion nicht mehr nachweisbar. Im Vergleich hiermit zeigten die Herzen, in denen Isoprenalin erst während der Reperfusion ausgewaschen wurde, nach 90 Minuten Reperfusion eine signifikant höhere linksventrikuläre Funktion ( $94,4 \pm 12,2$  vs.  $64,0 \pm 8,5$ ,  $p < 0,05$  vs. I/R).



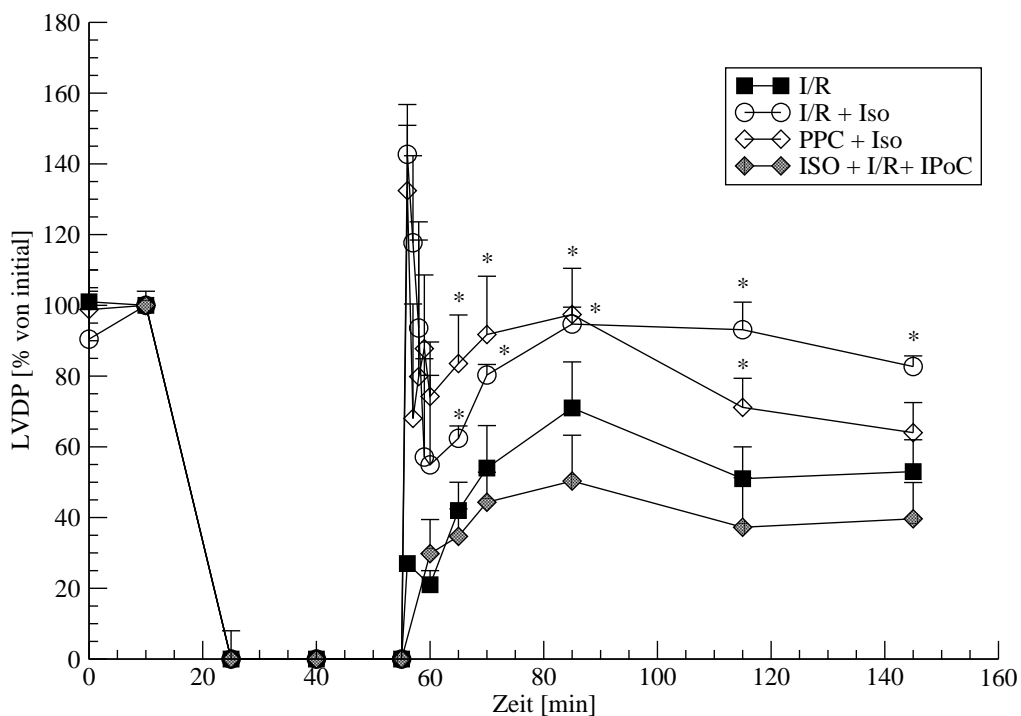
**Abbildung 3.17:** Effekt einer prä-ischämischen  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation auf die post-ischämische Funktionserholung im Zeitverlauf. LVDP im Zeitverlauf, 45 Minuten Ischämie, 90 Minuten Reperfusion. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakon, I/R + Iso: Ischämie und Reperfusion mit Isoprenalin  $10^{-10}$  mol/l, Isoprenalin intra-ischämisch, PPC + Iso: Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin  $10^{-10}$  mol/l, \*:  $p < 0,05$  vs. I/R.

### 3.2.4 Isoprenalin prä-, intra-ischämisch und ischämisches Postconditioning

Weiterhin wurde untersucht, ob die Kombination einer prä-ischämischen  $\beta$ -Adrenozeptor-Aktivierung mit einem ischämischen Postconditioning zu einer weiteren Verstärkung der kardioprotektiven Effekte führt.

Es wurde Isoprenalin in einer Konzentration von  $10^{-8}$  mol/l prä-ischämisch eingewaschen und verblieb während der Ischämie intrakardial. Zu Beginn der Reperfusionphase wurde ein IPoC von 3 x 30 sek appliziert.

Während der gesamten Reperfusionphase fand sich eine Funktionsverschlechterung der mit Isoprenalin und einem IPoC behandelten Herzen im Vergleich mit den I/R-Kontrollen ( $39,66 \pm 10,2$  % vs.  $56,5 \pm 7,2$ ,  $p > 0,05$ ). Exemplarisch ist hier der LVDP im Zeitverlauf dargestellt (vgl. Abb. 3.18).



**Abbildung 3.18:** LVDP im Zeitverlauf, 45 Minuten Ischämie, 90 Minuten Reperfusion. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakon, I/R + Iso: Ischämie und Reperfusion mit Isoprenalin  $10^{-10}$  mol/l, Isoprenalin intra-ischämisch, PPC + Iso: Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin  $10^{-10}$  mol/l, ISO + I/R + IPoC: Isoprenalin intra-ischämisch  $10^{-8}$  mol/l und ischämisches Postconditioning,  $n = 6$ , \*:  $p < 0,05$  vs. I/R.

### 3.3 Einfluss von $\beta$ -Blockern auf die post-ischämische Funktionserholung

#### 3.3.1 Alleinige Gabe von Atenolol

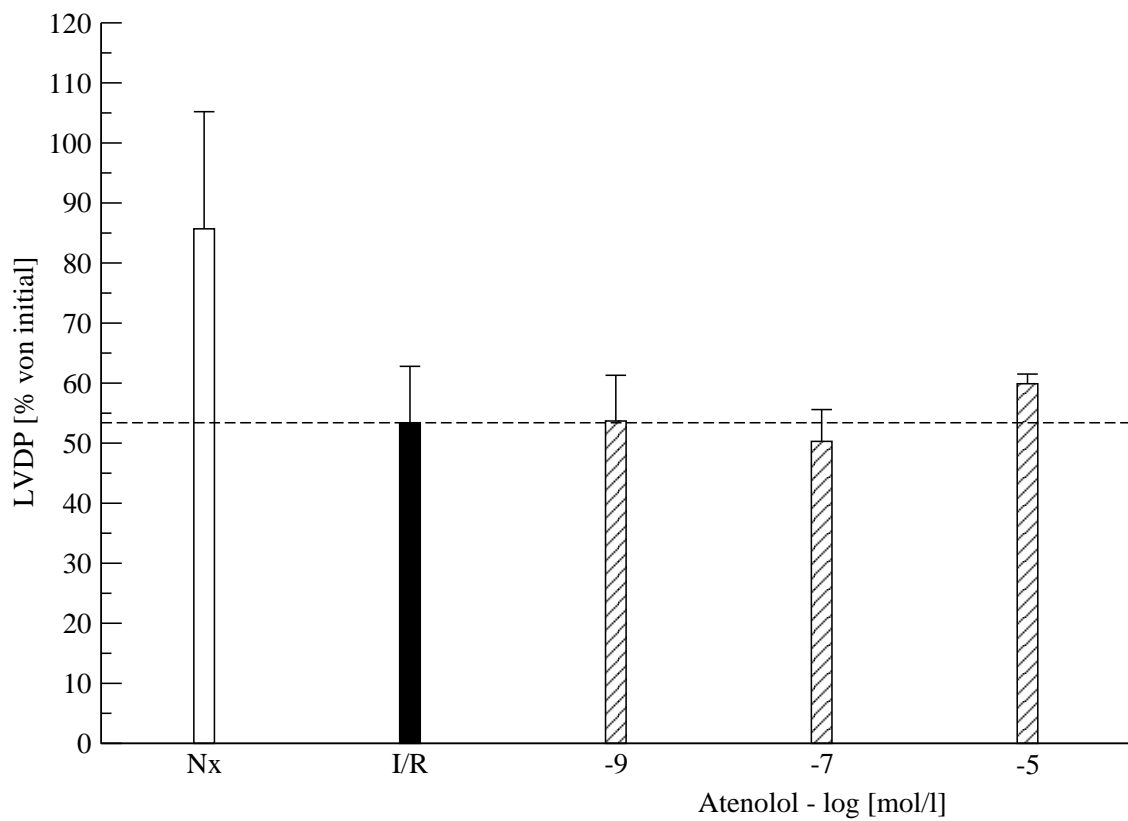
Dieser Versuchsreihe wurde durchgeführt um zu differenzieren, ob eine Aktivierung von  $\beta$ -Adrenozeptoren notwendig ist oder ob eine reine Bindung eines Liganden an den Rezeptor ausreicht um kardioprotektive Effekt zu induzieren. Hierzu wurde der  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonist Atenolol prä-ischämisch appliziert und erst während der Reperfusion wieder ausgewaschen.

In den eingesetzten Konzentrationen von  $10^{-9}$ ,  $10^{-7}$  und  $10^{-5}$  mol/l hatte die alleinige Gabe von Atenolol im Vergleich mit den I/R-Kontrollen keinen Einfluss auf die post-ischämische Funktionserholung in den untersuchten hämodynamischen Parametern (vgl. Tab. 3.7). Exemplarisch ist der LVDP nach 90 Minuten Reperfusion in Abb. 3.19 dargestellt.

	HR [min <sup>-1</sup> ]	LVeDP [mmHg]	LVsysDP [mmHg]	LVDP [mmHg]	LVDPxHR [mmHg/min]
<b>Nx</b>	189 ± 2	14,5 ± 5,3	94,0 ± 28,5	83,3 ± 8,0	15742 ± 5602
<b>I/R</b>	243 ± 63	41,7 ± 3,6*	93,6 ± 11,7	51,9 ± 7,4*	12168 ± 2468
<b>Ate 10<sup>-9</sup> mol/l</b>	263 ± 74	35,2 ± 3,0*	82,6 ± 12,6	44,7 ± 7,0*	11428 ± 3022
<b>Ate 10<sup>-7</sup> mol/l</b>	212 ± 70	42,6 ± 4,9*	93,3 ± 8,5	45,9 ± 10,1*	9630 ± 3580
<b>Ate 10<sup>-5</sup> mol/l</b>	315 ± 29	47,1 ± 3,0*	106,8 ± 2,1	52,6 ± 8,7*	16450 ± 2557
	PP [mmHg]	-dP/dt <sub>min</sub> [mmHg/s]	+dP/dt <sub>max</sub> [mmHg/s]		
<b>Nx</b>	118,3 ± 7,6	1600 ± 431	2313 ± 775		
<b>I/R</b>	87,9 ± 7,8*	1767 ± 342	1667 ± 411		
<b>Ate 10<sup>-9</sup> mol/l</b>	83,3 ± 10,2*	1259 ± 288	1683 ± 343		
<b>Ate 10<sup>-7</sup> mol/l</b>	88,5 ± 8,9*	1275 ± 324	1537 ± 374		
<b>Ate 10<sup>-5</sup> mol/l</b>	91,7 ± 10,6*	1517 ± 637	2066 ± 480		

**Tabelle 3.7:** Hämodynamische Funktionsparameter nach prä-ischämischer  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade mit Atenolol nach 45 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion. Nx: Normoxe Kontrolle, I/R: Ischämie und Reperfusion, Ate: Atenolol prä-ischämisch. Die Werte sind MW ± SEM. \*:  $p < 0,05$  vs. Nx, \*:  $p < 0,05$  vs. I/R,  $n = 8$



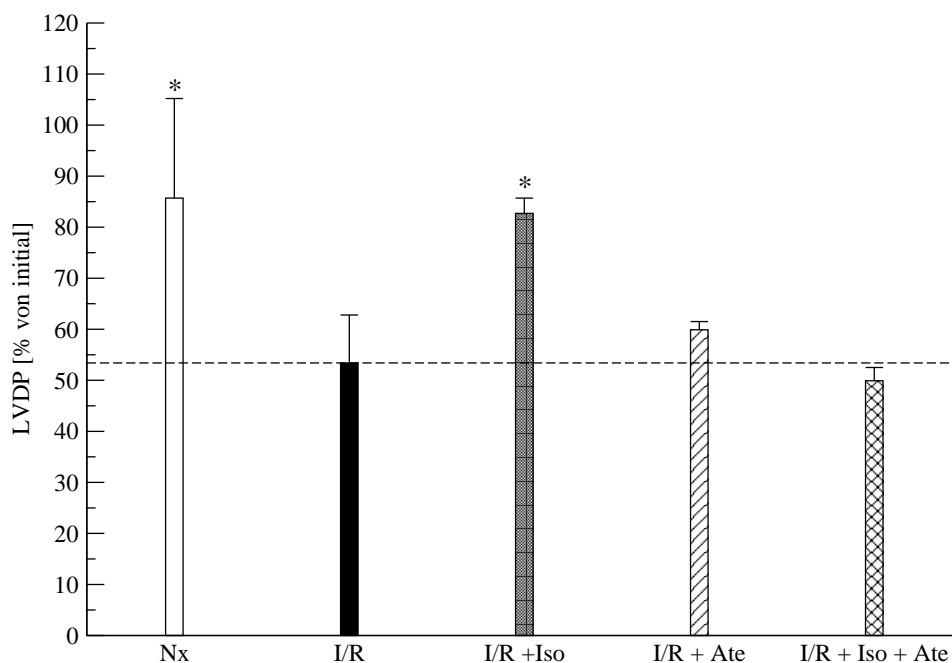


**Abbildung 3.19:** Der Einfluss von prä-ischämisch eingewaschenem Atenolol auf den nach 90 Minuten Reperfusion entwickelten LVDP. Daten als Prozent von prä-ischämisch. LVDP-Absolut-Werte bei 100% sind  $94,6 \pm 15,4$  mmHg. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM. Nx: Normoxe Kontrolle, I/R: Ischämie und Reperfusion,  $n = 8$

### 3.3.2 Simultane Gabe von Atenolol und Isoprenalin

Um zu untersuchen, ob Atenolol ein spezifischer Antagonist von Isoprenalin ist und an den selben Rezeptor bindet, wurden Atenolol und Isoprenalin gemeinsam vor der Ischämie eingewaschen und verblieben während der Null-Fluss-Ischämie im Herzen. Isoprenalin wurde in der maximal kardioprotektiven Konzentration von  $10^{-10}$  mol/l (vgl. 3.2.2) und in der höheren Konzentration von  $10^{-8}$  mol/l verwendet. Atenolol wurde in einer Konzentration von  $10^{-5}$  mol/l verwendet.

Die Gabe von Atenolol führte zu einer vollständigen Hemmung der kardioprotektiven Effekte von Isoprenalin (vgl. Abb. 3.11). Es fand sich kein durch die Isoprenalinkonzentration bedingter Unterschied in den Versuchsgruppen (Daten nicht dargestellt). In den anderen hämodynamischen Parametern zeigte sich ebenfalls kein Unterschied zu den I/R-Kontrollen (Daten nicht dargestellt).



**Abbildung 3.20:** LVDP in % von prä-ischämisch nach 45 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion. Dargestellt ist der Einfluss einer gleichzeitigen  $\beta$ -Adrenozeptor-Stimulation Isoprenalin und  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade mit Atenolol. Daten als Prozent von prä-ischämisch. LVDP-Absolut-Werte bei 100% sind  $94,7 \pm 18,7$  mmHg. Die Werte sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM.

Nx: Normoxe Kontrolle mit 135 Minuten Perfusion, I/R: 45 Minuten Ischämie und 90 Minuten Reperfusion, Isoprenalin  $10^{-10}$  mol/l, Atenolol  $10^{-7}$  mol/l, Isoprenalin und Atenolol wurden prä-ischämisch eingewaschen und während der Reperfusion ausgewaschen, \*:  $p < 0,05$  vs. I/R,  $n = 8$

### 3.4 Einfluss der $\beta$ -Adrenozeptoren auf post-ischämische Arrhythmien

Kardiale Arrhythmien traten häufig während der ersten 5 Minuten Reperfusion nach Ischämie auf. Bei den normox perfundierten Herzen traten während der gesamten Versuchsdauer keine Arrhythmien auf. In den Versuchsgruppen, in denen die Herzen prä-ischämisch mit Isoprenalin behandelt worden sind, traten weniger Arrhythmien auf. Dieser Effekt war bei  $10^{-11}$  und  $10^{-10}$  mol/l am ausgeprägtesten. Bei höheren Isoprenalin-konzentrationen war dieser protektive Effekt nicht mehr nachweisbar (vgl. Tab. 3.8).

Ein klassisches pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin und 5 Minuten Auswaschen vor der Index-Ischämie zeigte keinen Einfluss auf die Inzidenz der Arrhythmien im Vergleich mit den I/R-Kontrollen.

Die prä-ischämische Gabe von Atenolol konnte die durch Isoprenalin erreichte Protektion nicht imitieren. Die Inzidenz der Arrhythmien war in diesen Gruppen höher als in den I/R-Kontrollen.

Die kombinierte Gabe von Isoprenalin und Atenolol zeigte ebenfalls keine Reduktion der post-ischämischen Arrhythmien.

Ein ischämisches Postconditioning nachfolgend auf die prä-ischämische Gabe von Isoprenalin erhöhte die Auftretenswahrscheinlichkeit von Arrhythmien.

Versuchsprotokoll	AR	Versuchsprotokoll	AR
Nx	0,0% *		
I/R	18,8%		
ISO $10^{-12}$ mol/l	16,7%	ATE $10^{-5}$ mol/l	33,3%
ISO $10^{-11}$ mol/l	0,0% *	ATE $10^{-7}$ mol/l	37,5%
ISO $10^{-10}$ mol/l	0,0% *	ATE $10^{-9}$ mol/l	37,5%
ISO $10^{-9}$ mol/l	8,3%	ISO $10^{-10}$ mol/l + ATE $10^{-5}$ mol/l	16,7%
ISO $10^{-8}$ mol/l	14,8%	ISO $10^{-8}$ mol/l + ATE $10^{-5}$ mol/l	50,0%
ISO $10^{-7}$ mol/l	11,1%		
PPC (ISO $10^{-8}$ mol/l)	16,7%	ISO $10^{-8}$ mol/l + IPoC	37,5%

**Tabelle 3.8:** Inzidenz von Arrhythmien (AR) während der ersten 5 Minuten Reperfusion nach 45 Minuten Ischämie. Nx: Normoxe Kontrolle, I/R: Ischämie und Reperfusion, ISO: Isoprenalin prä- und intra-ischämisch, ATE: Atenolol prä- und intra-ischämisch, IPoC: Ischämisches Postconditioning, PPC: Pharmakologisches Preconditioning mit 5 Minuten Auswaschen, \*:  $p < 0,05$  vs. I/R

### 3.5 Einfluss von Isoprenalin auf die post-ischämische Aktivierbarkeit von $\beta$ -Adrenozeptoren

Es wurde untersucht, ob der Ischämie-/Reperfusionsschaden zu einer Veränderung der Aktivierbarkeit von  $\beta$ -Adrenozeptoren führt. Zugleich wurde die Beeinflussbarkeit der post-ischämischen  $\beta$ -Adrenozeptoraktivierbarkeit durch prä-ischämische Isoprenalinstimulation und ischämisches Postconditioning untersucht.

Hierzu wurden die Herzen nach 45 Minuten Null-Fluss-Ischämie und 30 Minuten Reperfusion mit einer Isoprenalin-Konzentration von  $10^{-7}$  mol/l für 10 Minuten stimuliert.

#### 3.5.1 Normoxie und ischämische Kontrolle

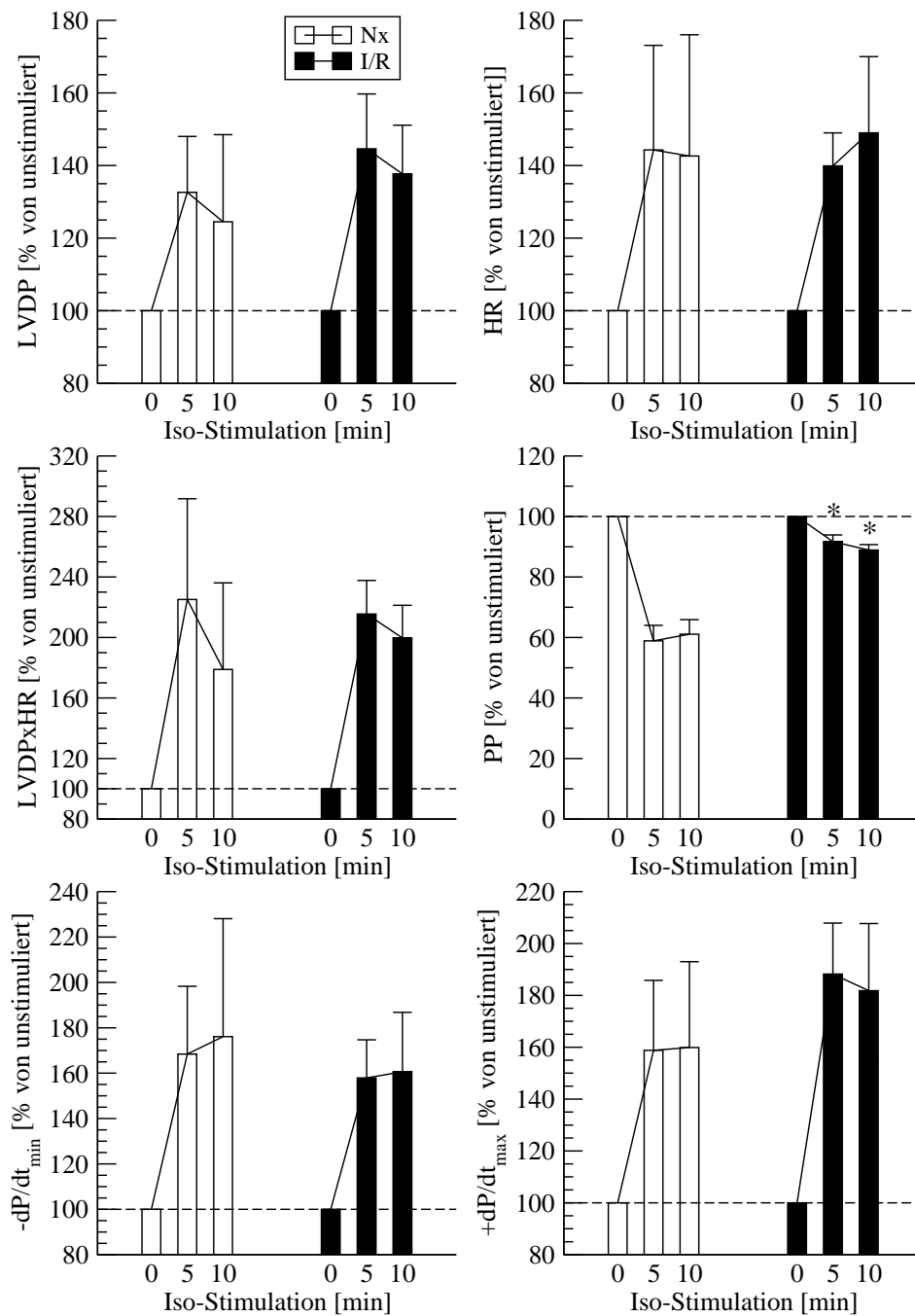
Auch nach einer prolongierten Perfusionsdauer reagierten die normox perfundierten Herzen mit einem LVDP-Anstieg von  $99,7 \pm 10,8$  auf  $125,5 \pm 16,1$  mmHg. Die Herzfrequenz stieg von  $240 \pm 49$  auf  $304 \pm 50$   $\text{min}^{-1}$ . Ein vergleichbares Verhalten zeigten  $-dP/dt_{\min}$  ( $1800 \pm 456$  auf  $2988 \pm 845$  mmHg/s) und  $+dP/dt_{\max}$  ( $2813 \pm 796$  auf  $4400 \pm 1255$  mmHg/s). Der Perfusionsdruck fiel von  $85,6 \pm 22,8$  auf  $49,0 \pm 16,9$  mmHg (vgl. Abb. 3.21).

Die Ischämie/Reperfusion-Kontrollen zeigten ebenfalls einen Anstieg des LVDP von  $69,2 \pm 16,0$  auf  $96,9 \pm 12,0$  mmHg. Die Herzfrequenz stieg von  $252 \pm 60$  auf  $33,4 \pm 55$   $\text{min}^{-1}$ . Die Relaxationsgeschwindigkeit  $-dP/dt_{\min}$  stieg von  $2040 \pm 318$  auf  $3180 \pm 337$  mmHg/s. Die Kontraktionsgeschwindigkeit  $+dP/dt_{\max}$  zeigte einen Anstieg von  $2220 \pm 319$  auf  $4140 \pm 493$  mmHg/s auf Isoprenalinstimulation.

Es fand sich in den Parametern LVDP, HR, HRxLVDP,  $-dP/dt_{\min}$  und  $+dP/dt_{\max}$  kein statistischer Unterschied zwischen den normoxen und den ischämischen Versuchsgruppen.

Der Perfusionsdruck unter Isoprenalinstimulation fiel im Gegensatz zu den normoxen Kontrollen nur auf  $91,7 \pm 2,2\%$  ab (Nx:  $58,9 \pm 5,1\%$ ,  $p < 0,05$ ).

In beiden Versuchsgruppen zeigte der Messpunkt nach 10 Minuten Isoprenalinstimulation keine weiteren signifikanten Veränderungen in der Reaktion der Herzen. Insbesondere war keine Adaptation auf die prolongierte Isoprenalinstimulation zu verzeichnen.



**Abbildung 3.21:** 10 Minuten Isoprenalin  $10^{-7}$  mol/l nach 45 Minuten Ischämie und 30 Minuten Reperfusion. 100%-Werte vor Stimulation. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. Nx: Normoxie Kontrolle (100% LVDP:  $99,7 \pm 10,8$  mmHg, HR:  $240 \pm 49$   $\text{min}^{-1}$ , HRxLVDP:  $23374 \pm 5086$  mmHg/min, PP:  $85,6 \pm 22,8$  mmHg,  $-\text{dP}/\text{dt}_{\text{min}}$ :  $1800 \pm 456$  mmHg/s,  $+\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ :  $2813 \pm 796$  mmHg/s), I/R: Ischämie und Reperfusion (100% LVDP:  $69,2 \pm 16,0$  mmHg, HR:  $252 \pm 60$   $\text{min}^{-1}$ , HRxLVDP:  $15198 \pm 3404$  mmHg/min, PP:  $60,2 \pm 4,3$  mmHg,  $-\text{dP}/\text{dt}_{\text{min}}$ :  $2040 \pm 314$  mmHg/s,  $+\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ :  $2220 \pm 319$  mmHg/s), \*:  $p < 0,05$  vs. Nx,  $n = 8$ .

### 3.5.2 Prolongierte Isoprenalinstimulation

Zur Untersuchung der Fragestellung, ob eine prolongierte Isoprenalinstimulation die  $\beta$ -Adrenozeptoren desensibilisiert, wurden die Herzen 45 Minuten mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin normox stimuliert. Nachfolgend wurde 30 Minuten mit dem Standardpuffer perfundiert und hiernach mit  $10^{-7}$  mol/l Isoprenalin für 10 Minuten stimuliert.

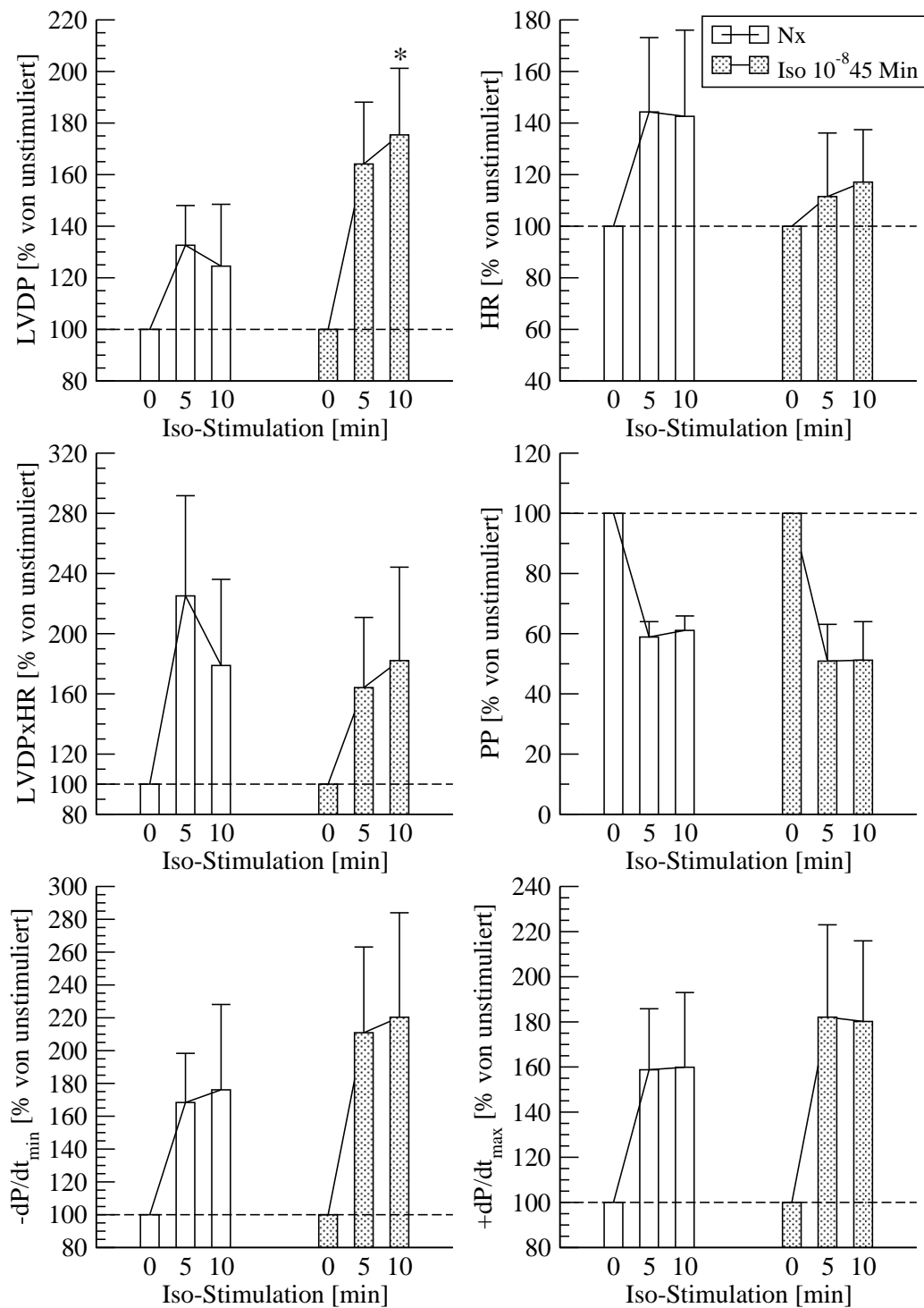
Es zeigte sich im LVDP auf die erneute Isoprenalinstimulation ein Druckanstieg. Der LVDP stieg nach 5 Minuten Isoprenalin von  $93,3 \pm 12,2$  auf  $139,9 \pm 28,5$  mmHg. Nach 10 Minuten auf  $148,9 \pm 34,5$  mmHg. Dieser Druckanstieg war im Vergleich mit den normoxen Kontrollen nach 10 Minuten signifikant stärker ausgeprägt ( $p < 0,05$ ).

Die Herzfrequenz reagierte auf eine erneute Isoprenalinstimulation mit einem geringen Anstieg von  $280 \pm 16$  auf  $315 \pm 80$  min<sup>-1</sup>.

Der Perfusionsdruck zeigte wie in den normoxen Kontrollen einen Abfall des Koronarwiderstandes.

Die Relaxations- und Kontraktionsgeschwindigkeit zeigten ebenfalls keinen Hinweis auf eine  $\beta$ -Adrenozeptordesensibilisierung.

Die Ergebnisse zeigen, dass  $\beta$ -Adrenozeptoren auch nach einer prolongierten Perfusion mit Isoprenalin von 45 Minuten Dauer nach 30 Minuten Perfusion mit dem Standardpuffer nicht desensibilisiert worden sind.



**Abbildung 3.22:** LVDP nach 45 Minuten Isoprenalin  $10^{-8}$  mol/l und 30 Minuten Perfusion während Isoprenalinstimulation ( $10^{-7}$  mol/l). Messung nach 5 Minuten und 10 Minuten Isoprenalin intrakardial als Anstieg von unstimuliert (100% bei 30 Minuten Reperfusion). Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. Nx: Normoxie Kontrolle, \*:  $p < 0,05$  vs. I/R,  $n = 8$ .

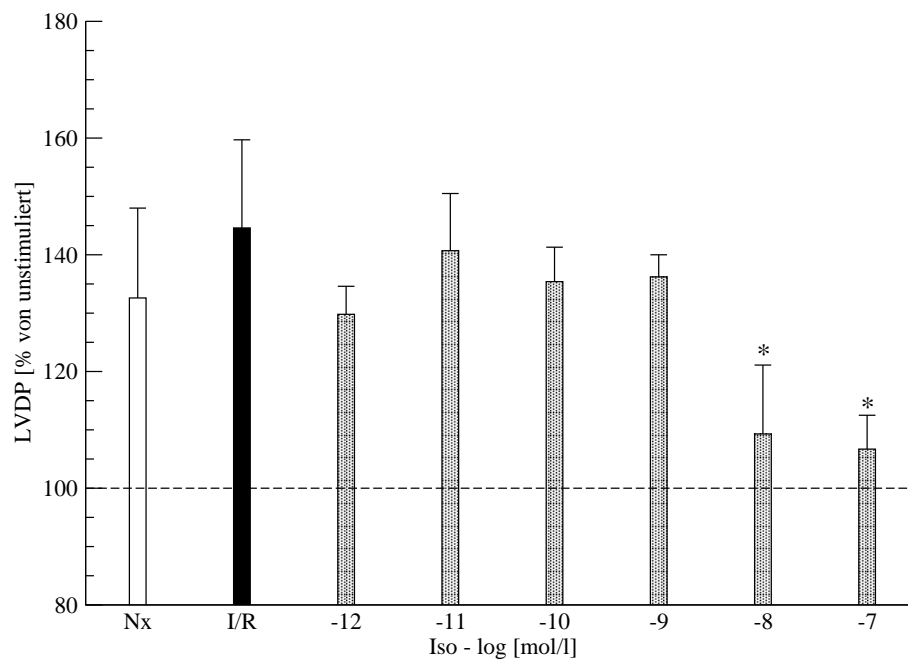
### 3.5.3 Isoprenalin prä- und intra-ischämisch

Isoprenalin wurde in Konzentrationen von  $10^{-12}$  –  $10^{-7}$  mol/l vor der Ischämie 2 Minuten eingewaschen und am Anfang der Reperfusion wieder ausgewaschen.

#### Linksventrikulärer Druck

Bei allen untersuchten Isoprenalin-Konzentrationen reagierten die Herzen wie die normoxen und I/R-Kontrollen mit einem Anstieg des LVDP. Bei  $10^{-12}$  –  $10^{-9}$  mol/l Isoprenalin gab es keinen signifikanten Unterschied im Vergleich mit den Ischämie/Reperfusion-Kontrollen. Im Mittel stieg der LVDP auf  $135,5 \pm 7,7\%$  von unstimuliert nach 5 Minuten Isoprenalin. Nach 10 Minuten wurde noch ein LVDP  $126,3 \pm 10,0\%$  entwickelt.

Bei einer prä-ischämischen Konzentration von  $10^{-8}$  und  $10^{-7}$  mol/l zeigte sich ein signifikant geringerer Anstieg des LVDP unter Isoprenalin ( $109,3 \pm 11,8\%$  und  $106,7 \pm 5,8\%$  vs. I/R  $144,6 \pm 15,1\%$ ,  $p < 0,05$ , vgl. Abb. 3.23).

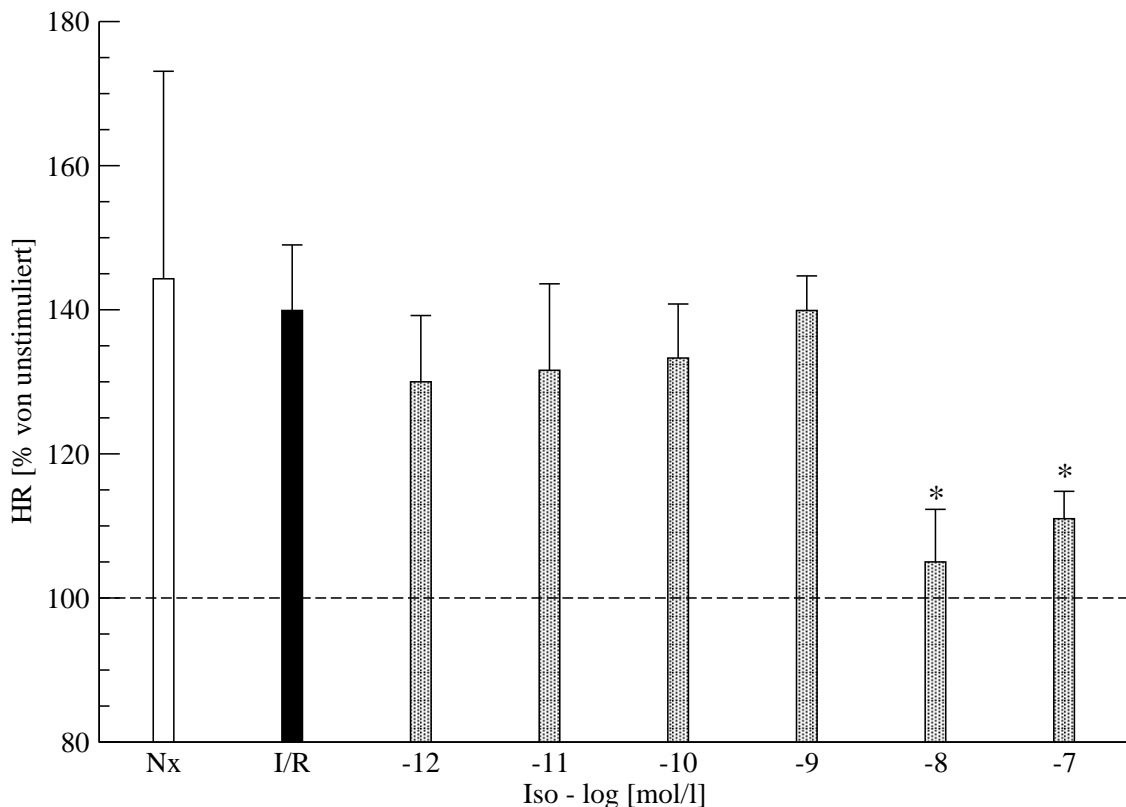


**Abbildung 3.23:** LVDP nach 45 Minuten Ischämie und 35 Minuten Reperfusion während Isoprenalinstimulation ( $10^{-7}$  mol/l). Messung nach 5 Minuten Isoprenalin intrakardial und als Anstieg von unstimuliert (100% bei 30 Minuten Reperfusion) dargestellt. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. Nx: Normoxe Kontrolle 100%:  $99,7 \pm 10,8$  mmHg, I/R: Ischämie und Reperfusion 100%:  $69,2 \pm 16,0$  mmHg, Isoprenalin-Konzentrationen prä-ischämisch mit Auswaschen während der Reperfusion 100%:  $88,2 \pm 14,2$ ,  $80,3 \pm 17,2$ ,  $81,1 \pm 14,0$ ,  $77,2 \pm 9,1$ ,  $95,8 \pm 17,5$ ,  $85,9 \pm 16,0$  mmHg, \*:  $p < 0,05$  vs. I/R,  $n = 8$ .



### Herzfrequenz

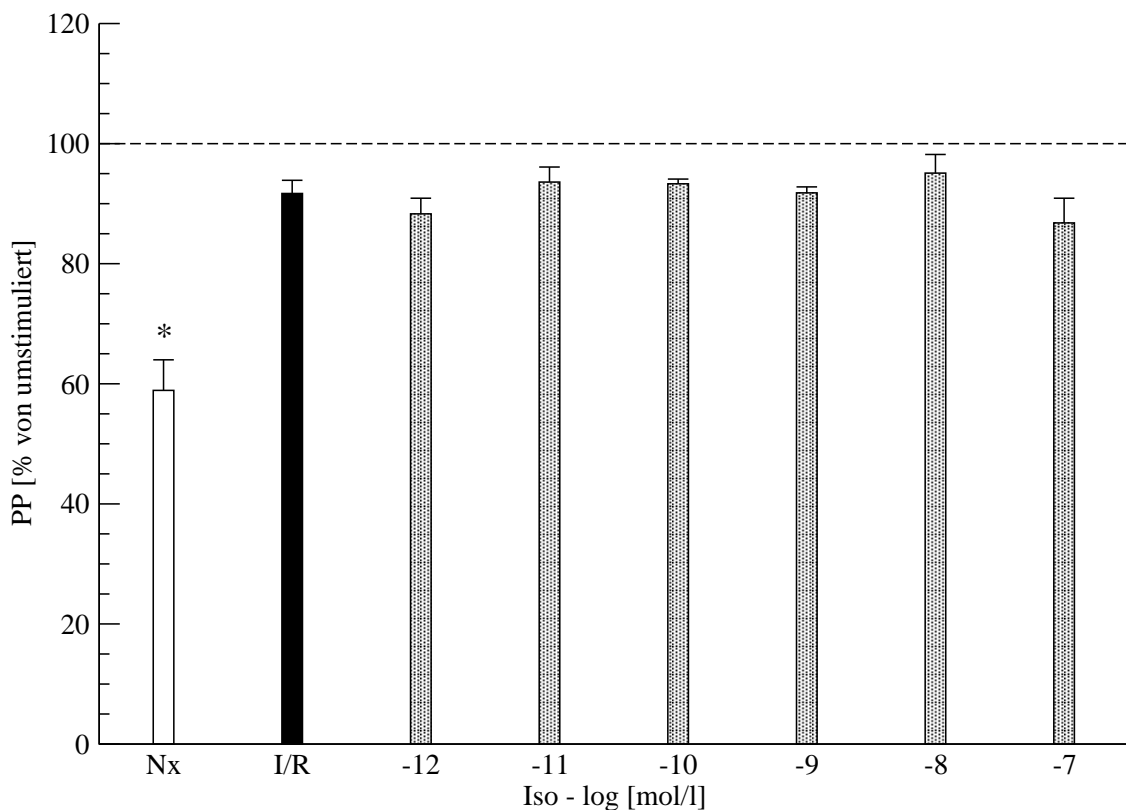
Auch die Herzfrequenz reagierte bei allen Isoprenalinkonzentrationen mit einem Anstieg. Bei einer prä-ischämisch applizierten Isoprenalinkonzentration von  $10^{-12}$  bis  $10^{-9}$  mol/l zeigte sich kein Unterschied zu den normoxen und I/R-Kontrollen. Bei einer prä-ischämischen Isoprenalinkonzentration von  $10^{-8}$  und  $10^{-7}$  mol/l entwickelten die Herzen einen signifikant geringeren Anstieg der Herzfrequenz ( $105,0 \pm 7,3\%$  und  $111,0 \pm 3,8\%$  vs.  $138,9 \pm 9,1\%$  vs. I/R,  $p < 0,05$ , vgl. Abb. 3.24).



**Abbildung 3.24:** Effekt von Isoprenalin ( $10^{-7}$  mol/l) auf die Herzfrequenz nach 45 Minuten Ischämie und 35 Minuten Reperfusion. Die Veränderungen der HR wurden nach 5 Minuten Stimulation mit Isoprenalin gemessen und als Anstieg in Prozent von unstimuliert (100% bei 30 Minuten Reperfusion) dargestellt. Dargestellt sind die MW ± SEM. Nx: Normoxe Kontrolle, I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakongabe, Isoprenalinkonzentrationen prä-ischämisch mit Auswaschen während der Reperfusion. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R,  $n = 8$ .

### Perfusionsdruck

Der Perfusionsdruck reagierte auf Isoprenalinstimulation mit einem Abfall. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in Abhängigkeit von der Isoprenalinkonzentration zu den I/R-Kontrollen. Im Vergleich zu der normoxen Kontrolle war bei allen postischämischen Versuchsreihen der Abfall des Perfusionsdrucks signifikant weniger stark ausgeprägt (Nx  $58,9 \pm 5,1$  vs. I/R  $91,7 \pm 2,2$  % von unstimuliert, vgl. Abb. 3.25).

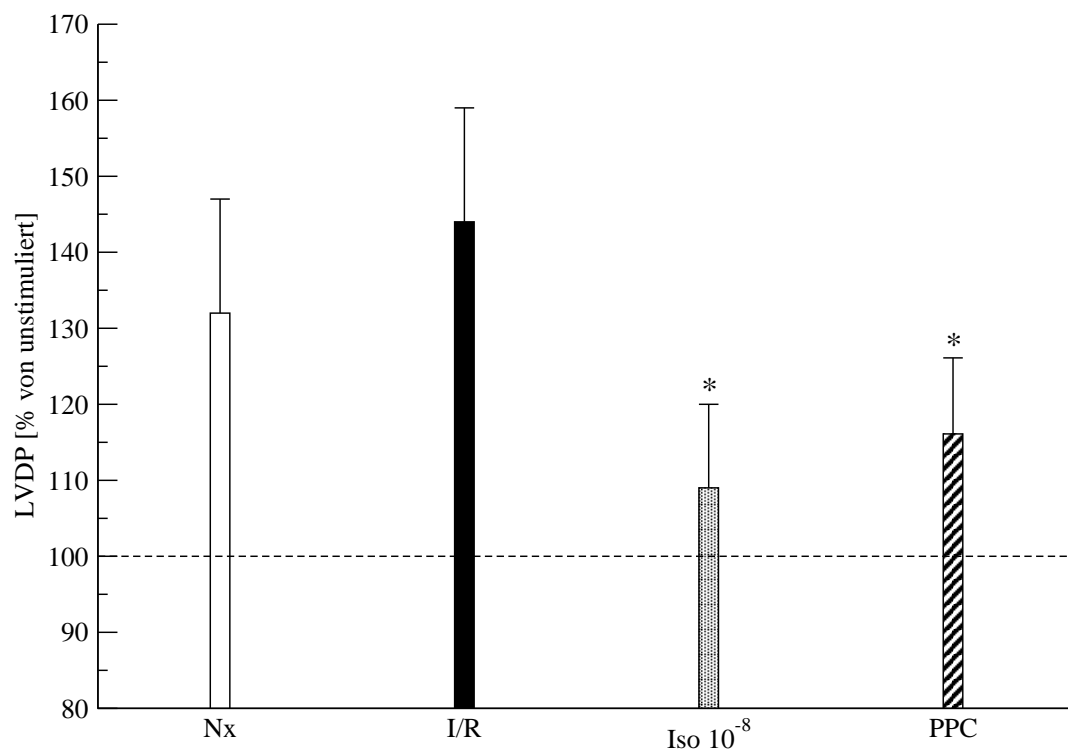


**Abbildung 3.25:** Perfusionsdruck nach 45 Minuten Ischämie und 35 Minuten Reperfusion während Isoprenalinstimulation ( $10^{-7}$  mol/l). Messung nach 5 Minuten Isoprenalin intrakardial und als Druck von unstimuliert (100% bei 30 Minuten Reperfusion) dargestellt. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. Nx: Normoxe Kontrolle, I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakongabe. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R,  $n = 8$ .

### 3.5.4 Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin

Um zu unterscheiden, ob die Abnahme der Aktivierbarkeit der  $\beta$ -Adrenozeptoren bei prä-ischämisch appliziertem Isoprenalin durch die lange Inkubationszeit während der Ischämie verursacht wurde oder ob dies einen primären Effekt der prä-ischämischen Aktivierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren darstellt, wurde zum Vergleich ein klassisches pharmakologisches Preconditioning (PPC) durchgeführt. Hierzu wurde eine Konzentration von  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin verwendet und 5 Minuten prä-ischämisch ausgewaschen.

Auch nach einem PPC zeigten die Herzen auf Stimulation mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin nur einen geringen Anstieg des LVDP von  $114,6 \pm 19,5$  auf  $128,1 \pm 22,0$  mm-Hg. Der Druckanstieg war signifikant geringer ausgeprägt als in den I/R-Kontrollen (vgl. Abb. 3.26). Der Herzfrequenzanstieg unterschied sich mit  $39,5 \pm 20,5\%$  vs. I/R  $39,9 \pm 9,1\%$  nicht.

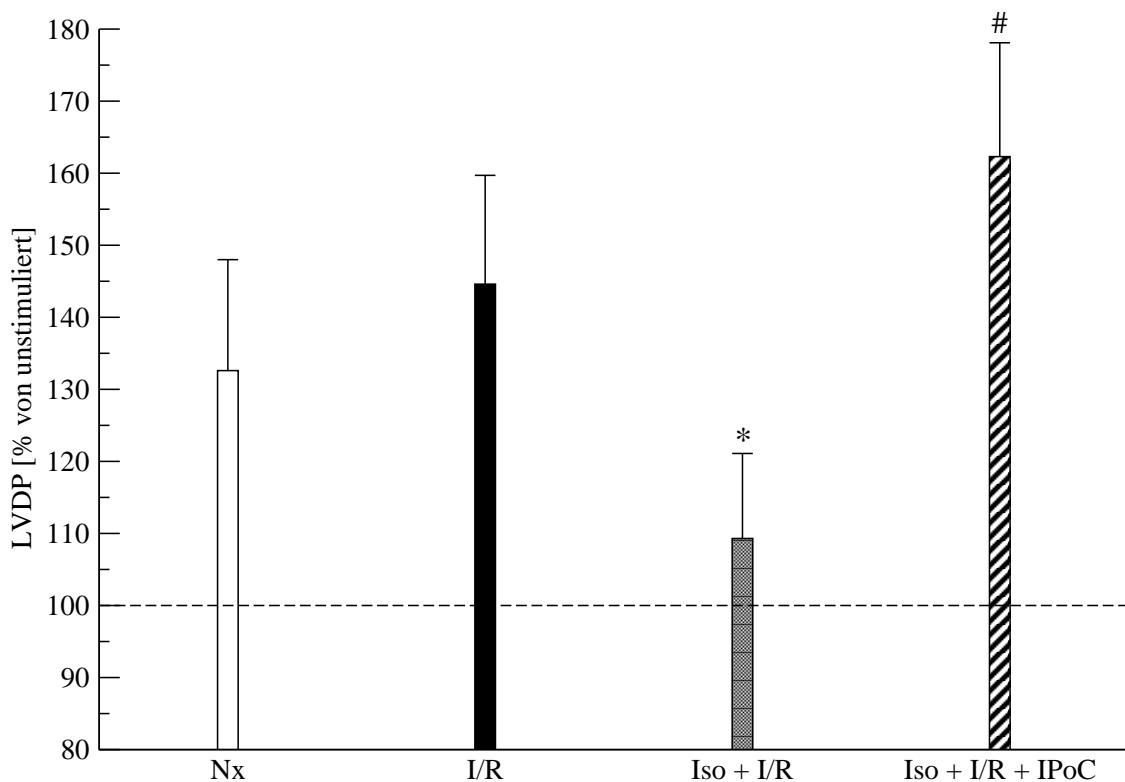


**Abbildung 3.26:** LVDP 35 Minuten nach Reperfusion, nach einer 45 minütigen Ischämie. Bei einem PPC mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin entwickelten die Herzen einen signifikant niedrigeren LVDP als in den normoxen und I/R-Kontrollen. Im Vergleich mit einer intra-ischämischen Stimulation mit gleicher Isoprenalin-Konzentration zeigte sich kein Unterschied. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. Nx: Normoxe Kontrolle, I/R: Ischämie und Reperfusion ohne Pharmakongabe, Isoprenalin  $10^{-8}$  mol/l intra-ischämisch, PPC mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin. \*:  $p < 0,05$  vs. I/R,  $n = 6$ .

### 3.5.5 Isoprenalin und ischämisches Postconditioning

Um zu untersuchen, ob eine durch Isoprenalin hervorgerufene ischämische Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren antagonisierbar ist, wurden Herzen, die mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin während der Ischämie inkubiert wurden, nach der Ischämie einem ischämischen Postconditioning unterzogen.

Durch ischämisches Postconditioning ließ sich die Nicht-Aktivierbarkeit der  $\beta$ -Adrenozeptoren vollständig antagonisieren. Aktivierung mit Isoprenalin führte wieder zu einer ausgeprägten Inotropiesteigerung ( $162,3 \pm 15,8\%$  mit Postconditioning vs.  $109,3 \pm 11,8\%$  ohne Postconditioning vor der Stimulation, Abb. 3.27). Das Niveau der Kontraktilitätszunahme war mit der ischämischen Kontrolle vergleichbar ( $144,6 \pm 15,1\%$  von vor der Stimulation). Die Veränderung Herzfrequenz durch Isoprenalinstimulation vollzog sich analog zum LVDP.



**Abbildung 3.27:** LVDP während Stimulation mit  $10^{-7}$  mol/l Isoprenalin. 35 Minuten nach Reperfusion, nach einer 45 minütigen Ischämie. Dargestellt sind die MW  $\pm$  SEM. Nx: Normoxie Kontrolle, I/R: Ischämie und Reperfusion Kontrolle, Iso + I/R: Ischämie und Reperfusion mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin während der Ischämie, Iso + I/R + IPoC: Ischämie mit  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin und Ischämischen Postconditioning. \* $p < 0,05$  gegenüber Nx.

## 4 Diskussion

### 4.1 Hauptbefunde

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass ein pharmakologisches Preconditioning mittels  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation eine hoch spezifische Form des Preconditionings darstellt. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass eine prolongierte intra-ischämische  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation konzentrationsabhängig protektiv auf die post-ischämische Funktion wirkt.

Die Ergebnisse zeigen, dass ein klassisches pharmakologisches Preconditioning mittels  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation einer niedriger dosierten, dafür aber längeren intra-ischämischen Stimulation, in Bezug auf die post-ischämische Funktionserholung unterlegen ist.

Es konnte nachgewiesen werden, dass  $\beta$ -Adrenozeptoren durch wiederholte Isoprenalinstimulationen, oder einer Stimulationsdauer von 45 Minuten nicht desensibilisieren. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass eine Ischämie ebenfalls nicht zur Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren führt.

Die Kombination aus Ischämie und Isoprenalinstimulation resultiert in einer signifikanten Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren. Ein ischämisches Postconditioning kann die Rezeptorkopplung wiederherstellen.

### 4.2 Post-ischämische kontraktile Dysfunktion

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass für eine Funktionswiederherstellung des post-ischämischen Myokards weder ein kurzzeitiger metabolischer Stress noch eine Calcium-Überladung vor der Index-Ischämie notwendig ist. Schon eine nicht hämodynamisch wirksame Konzentration Isoprenalin, gemessen am LVDP, hat einen kardioprotektiven Effekt. Hämodynamisch wirksame Konzentrationen Isoprenalin hingegen bewirken einen gegenteiligen Effekt. Diese durch Isoprenalin ausgelösten Effekte ließen sich durch Atenolol, einen  $\beta$ -Blocker, vollständig verhindern. Dies lässt den Schluss zu, dass ein pharmakologisches Preconditioning über  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation einen spe-

zifischen Effekt der  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation darstellt und weniger einen Effekt des Preconditionings im klassischen Sinne.

Schon frühere Studien haben einen kardioprotektiven Effekt einer  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation zeigen können (Miyawaki u. Ashraf 1997b). In diesen Studien ist aber die funktionelle Erholung des Myokards während einer druckkonstanten Perfusion ermittelt worden. Bei einer Veränderung des intrakoronaren Widerstandes wurde der Fluss verändert (Miyawaki u. Ashraf 1997b). Dies führt zu einer veränderten Sauerstoffversorgung zwischen protektioniertem und unprotektioniertem Myokard. Aus diesem Grund war es bisher nicht möglich zu differenzieren, ob die post-ischämische Funktionserholung auf dem Preconditioning oder auf der veränderten Sauerstoffversorgung beruhte. In unserem Modell ist die Sauerstoffversorgung aufgrund des unveränderten koronaren Flusses während der gesamten Versuchsdauer konstant. Auch unter diesen Bedingungen fanden wir eine deutliche Verbesserung der post-ischämischen kontraktile Funktion. Hierbei ist wiederum auffällig, dass diese Protektion nur bei niedrigen Konzentrationen auftritt und bei höheren Konzentrationen nicht nachweisbar ist. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen von Miyawaki u. Ashraf (1997b).

Es wurde von Miyawaki u. Ashraf (1997b) die Hypothese aufgestellt, dass es bei höheren Isoprenalinkonzentrationen zu einem höheren  $Ca^{2+}$ -Einstrom in die Zelle käme und damit der Grenzwert für die optimale intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentration überschritten sei. Eine ebenfalls von Miyawaki u. Ashraf (1997b) vorgeschlagene Erklärung für die Unwirksamkeit höherer Isoprenalinkonzentrationen macht ein nicht vollständiges Auswaschen des Isoprenalins vor der Indexischämie verantwortlich. Wir konnten im Rahmen dieser Arbeit die letztere Hypothese widerlegen. Es gab keinen Unterschied zwischen den Versuchsreihen, in denen Isoprenalin im Sinne eines klassischen Preconditionings ausgewaschen wurde und in denen Isoprenalin während der Indexischämie im Herz verblieben ist. Wir konnten ebenfalls zeigen, dass es zu keiner Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren durch repetitive Isoprenalinstimulation kommt.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die prä-ischämische Stimulation der  $\beta$ -Adrenozeptoren, unabhängig von einer hämodynamisch messbaren Wirkung, eine Aktivierung der kardioprotektiven Signalkaskade bewirkt. Am Herzen sind zwei Typen,  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Adrenozeptoren zu finden. Robinet et al. (2005) und Mallet et al. (2006) fanden Hinweise auf eine Abhängigkeit von  $\beta_1$ -Adrenozeptoren. Tong et al. (2005) und Frances et al. (2003) hingegen zeigten, dass eine Stimulation von  $\beta_2$ -Adrenozeptoren zur Kardioprotektion notwendig ist. In dieser Arbeit stand jedoch nicht die Spezifizierung des Rezeptor-Subtyps im Vordergrund. Isoprenalin ist für keinen der beiden Rezeptor-

Subtypen ein spezifischer Agonist. Es zeigte sich aber, dass eine Blockade von  $\beta_1$ -Adrenozeptoren mittels Atenolol zur Aufhebung der Kardioprotektion führt. Unsere Ergebnisse stehen damit im Einklang mit der Arbeit von Robinet et al. (2005) und Mallet et al. (2006).

Der bisher meist untersuchte Zusammenhang zwischen kardialer Adrenozeptorstimulation und Kardioprotektion im Kontext eines IPC oder PPC betrifft die  $\alpha$ -Adrenozeptoren, die damit einhergehende Aktivierung der  $PIP_2$  sowie nachfolgend der Proteinkinase C (PKC) (Parratt 1994). Es konnte gezeigt werden, dass mit der Inhibition der PKC mittels Polymyxin B der Effekt des PPC mit Isoprenalin reduziert wird (Yabe et al. 1998). In dieser Studie wird die Hypothese aufgestellt, dass die Myozyten, aufgrund der starken hämodynamischen Effekte von Isoprenalin auf das Myokard ein relatives Sauerstoffdefizit während der Stimulation erleiden. Durch diese relative Hypoxie wird ein Effekt ähnlich dem IPC ausgelöst, der wiederum durch die PKC vermittelt wird. Diese Hypothese wird durch unsere Ergebnisse nicht unterstützt. Auch ohne eine hämodynamisch wirksame Aktivierung des Herzens ließ sich eine Kardioprotektion erreichen.

Es ist bekannt, dass Stimulation von  $\beta$ -Adrenozeptoren zu einem stimulierenden G-Protein ( $G_s$ ) koppelt und zu dessen Aktivierung führt. Dieses  $G_s\alpha$  führt zur intrazellulären Akkumulation von cAMP mit der Aktivierung der Adenylatcyclase (Fleming et al. 1992; Lochner et al. 1999). cAMP aktiviert die Proteinkinase A (PKA), die spannungsabhängige  $Ca^{2+}$ -Kanäle phosphoryliert und zu einem erhöhten  $Ca^{2+}$ -Influx führt (Kamp u. Hell 2000). Eine geringfügige Erhöhung der  $Ca^{2+}$ -Konzentration ist mit einer Stimulation der PKC über die Zwischenstation der Phospholipase C verbunden (Miyawaki et al. 1996).

Wir haben in Maier et al. (2009) dargestellt, dass eine Inhibition der PKA mit H89 zu einer Aufhebung der Kardioprotektion führt. Dies lässt den Schluß zu, dass der von einem pharmakologischen Preconditioning mit Isoprenalin ausgelöste kardioprotektive Effekt auf einer  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation mit einer nachfolgenden Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels und darauf folgender Aktivierung der PKA beruht. Die zentrale Rolle der PKA zeigte auch Robinet et al. (2005), wobei dies im Gegensatz zu den Ergebnissen von Tong et al. (2005) steht, die an  $\beta_2$ -knock-out Mäusen die  $\beta_1$ -Rezeptoren für die Kardioprotektion verantwortlich zeigten. Eine Erklärung für diese gegensätzlichen Ergebnisse könnten Differenzen zwischen den unterschiedlichen Spezies sein.

Durch Blockade der Phosphodiesterase III, die unabhängig von einer Rezeptoraktivierung zu einer Steigerung des intrazellulären cAMP-Spiegels führt (Sanada et al. 2001), lässt sich ebenfalls eine Protektion erreichen. In der Studie von Sandhu et al. (1996) zeig-

te sich, dass ein cAMP-Konzentrationsanstieg vor der Indexischämie zur Kardioprotektion notwendig ist. Ein cAMP-Anstieg während der prolongierten Ischämie bleibt aber ohne Auswirkung auf die kardiale Funktion.

Von Schlüter et al. (1998) konnte eine spezifische Aktivierung der Phosphoinositid-3-Kinase (PI-3-K) durch Isoprenalin in isolierten Kardiomyozyten nachgewiesen werden. Dass auch die im Signalweg nachgelagerte PI-3-K von Bedeutung für die Kardioprotektion ist, konnten wir in Maier et al. (2009) mit Wortmannin, einem spezifischen Inhibitor der PI-3-K, zeigen. Bei Hemmung der PI-3-K hatte eine Aktivierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren keinen kardioprotektiven Effekt mehr.

Während der frühen Phase der Reperfusion kommt es häufig zu kardialen Arrhythmien (de Diego et al. 2008). In der vorliegenden Arbeit haben wir nachweisen können, dass bei niedrigen prä-ischämischen Isoprenalinkonzentrationen das Auftreten von deletären kardialen Arrhythmien signifikant erniedrigt ist. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen von Vegh et al. (1992) und Ravingerová et al. (2002), die zeigen konnten, dass ein IPC oder exogen prä-ischämisch applizierte Katecholamie zur Reduktion kardialer Arrhythmien führen. Okruhlicová et al. (2000) konnten eine Beteiligung des cAMP-Systems bei einem ischämischen Preconditioning zeigen, so dass ein gemeinsamer Signaltransduktionsweg beim IPC und PPC durch  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation vorliegen kann. Dies steht scheinbar im Widerspruch zu Végh u. Parratt (2002), in deren Studie ein negativer Effekt von prä-ischämisch applizierten Isoprenalin auf die Schwere kardialer Arrhythmien in der Reperfusionsphase bei Hunden aufgetreten war. Eine mögliche Erklärung könnte hier die prä-ischämisch applizierte höhere Dosis sein. Diese lag mit  $12,5 \text{ ng kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , bei einem mittleren Gewicht von 27 kg, wesentlich höher als die hier gewählten Konzentrationen. Wie wir ebenfalls zeigen konnten, ist dieser antiarrhythmische Effekt bei hämodynamisch wirksamen Konzentrationen nicht mehr vorhanden, während eine nur geringe Stimulation von  $\beta$ -Adrenozeptoren eine ausgeprägte antiarrhythmische Wirkung hat.

Zusammenfassend kann daher von einem direkten  $\beta$ -Adrenozeptor abhängigen kardioprotektiven Effekt ausgegangen werden, der konzentrationsabhängig schon bei hämodynamisch nicht wirksamen Konzentrationen eintritt.



### 4.3 $\beta$ -Adrenozeptor-Desensibilisierung

Wir konnten in dieser Arbeit nachweisen, dass  $\beta$ -Adrenozeptoren unter normoxen Bedingungen nicht durch Isoprenalin desensibilisiert werden. Konzentrationserhöhungen bis  $10^{-7}$  mol/l Isoprenalin führten nach repetitiver Stimulation in den hämodynamischen Parametern (LVDP, HR, LVDPxHR, PP,  $-dP/dt_{\min}$ ,  $+dP/dt_{\max}$ ) nicht zu einer Abschwächung der myokardialen Reaktion auf Isoprenalin. Eine Verlängerung der Stimulationsdauer bis auf 45 Minuten zeigte keine  $\beta$ -Adrenozeptordesensibilisierung. Auch nach prolongierter normoxer Perfusion von 70 Minuten ließ sich kein Anhalt für eine  $\beta$ -Adrenozeptordesensibilisierung finden. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen von Herepath u. Broadley (1990), wonach eine  $\beta$ -Adrenozeptordesensibilisierung erst nach einer Inkubationsdauer von 1 Stunde auftrat. Weiterhin ist die  $\beta$ -Adrenozeptordesensibilisierung nach Herepath u. Broadley (1990) und Broadley (1999) konzentrationsabhängig, wobei eine signifikante Desensibilisierung erst ab einer Konzentration von  $10^{-6}$  mol/l Isoprenalin auftrat.

Die kardioprotektiven Effekte von IPC und IPoC sind rezeptorvermittelt (Lochner et al. 1999; Mallet et al. 2006). Wie bereits in der Einleitung diskutiert, kommt hierbei den  $\beta$ -Adrenozeptoren eine wichtige Rolle zu. Im Rahmen dieser Arbeit wurde untersucht, welchen Einfluss Ischämie auf  $\beta$ -Adrenozeptoren und deren Aktivierbarkeit hat.

Die aktuelle Datenlage ist hierzu uneinheitlich (van den Ende et al. 1991; Strasser et al. 1988). So haben Sandhu et al. (1996) keinen Einfluss eines IPC auf den durch Isoprenalin ausgelösten cAMP-Spiegel feststellen können. Dem gegenüber stehen die Ergebnisse von Lochner et al. (1999), die einen konzentrationsabhängigen Effekt von Ischämie auf die cAMP-Entstehung nach Isoprenalinstimulation nachweisen konnten. Dieser war aber erst ab einer Konzentration von  $10^{-7}$  mol/l signifikant. In beiden Studien wurde schon nach wenigen Minuten post-ischämisch der cAMP-Spiegel des Myokards bestimmt. Aussagen, wie lange dieser Effekt anhält, liegen derzeit nicht vor.

Funktionelle Daten wurden von van den Ende et al. (1991) veröffentlicht. Hier konnte bei männlichen Ratten eine Abnahme des LVDP bei post-ischämischer Isoprenalinstimulation gezeigt werden. Diese Ergebnisse ließen sich in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigen. Während van den Ende et al. (1991) nach 30 Minuten globaler Ischämie und 30 Minuten Reperfusion mit Isoprenalin stimulierten, ließ sich in unseren Versuchsreihen mit weiblichen Ratten auch nach einer länger Ischämiezeit von 45 Minuten keine signifikante Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren nachweisen.

Mögliche Erklärungen für diese Diskrepanz könnten der Geschlechterunterschied oder der unterschiedliche Perfusionsdruck sein. In der Arbeit von van den Ende et al. (1991) wurden die Herzen druckkonstant mit 80 cm H<sub>2</sub>O perfundiert. Wie schon in 4.2 diskutiert, ist aufgrund des erhöhten kardialen Widerstands, ersichtlich aus dem erhöhten Perfusionsdruck, eine lokale Minderversorgung des Myokards mit O<sub>2</sub> möglich. So liegt in der Studie von van den Ende et al. (1991) am Ende der Reperfusion ein erniedrigter koronarer Fluss vor, was eine verminderte Versorgung des Myokards mit Substraten nach sich ziehen kann. Dies könnte eine Ursache für die post-ischämische Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren in dieser Studie sein.

Während der Isoprenalinstimulation kam es auch bei den post-ischämischen Kontrollen zu einem Abfall des Perfusionsdruck und einem Anstieg des LVDP, so dass von keiner Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren auszugehen ist. Die post-ischämischen radioaktiv markierten Ligandenbindungsergebnisse von  $\beta$ -Adrenozeptoren von van den Ende et al. (1991) haben keinen Unterschied zu den prä-ischämischen Bindungen gezeigt. In Zusammenschau mit unseren hämodynamischen Ergebnissen lässt sich kein Hinweis auf eine durch Ischämie ausgelöste  $\beta$ -Adrenozeptordesensibilisierung nachweisen.

Eine prolongierte intra-ischämische  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation mit Isoprenalin hatte bei niedrigen Konzentrationen keinen Einfluss auf die post-ischämische  $\beta$ -Adrenozeptor-Aktivierbarkeit. Bei höheren Konzentrationen ab  $10^{-8}$  mol/l Isoprenalin zeigte sich eine signifikante Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren. Dieser Effekt ließ sich ebenfalls bei einem klassischen PPC mit Isoprenalin nachweisen. Dabei war dieser bei einer prolongierten Isoprenalinstimulation während der Ischämie bei gleicher Isoprenalinkonzentration schwächer ausgeprägt. Eine Erklärung hierfür könnte in einer zeitabhängigen  $\beta$ -Adrenozeptorenaktivierung liegen. Die kurze prä-ischämische  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation scheint eine weniger starke protektive Wirkung als die prolongierte Isoprenalinstimulation zu haben.

Die hier dargestellten Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine  $\beta$ -Adrenozeptordesensibilisierung durch ein IPoC antagonisierbar ist. Nachdem die  $\beta$ -Adrenozeptoren durch eine prolongierte intra-ischämische Isoprenalinstimulation desensibilisiert worden sind, wurde durch ein nachfolgendes IPoC die  $\beta$ -Adrenozeptorfunktion nach 30 Minuten Reperfusion wiederhergestellt. Wie schon in Schreckenberget al. (2009) anhand des PTHrP-Rezeptors gezeigt, resensibilisiert ein IPoC desensibilisierte G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass ein IPoC desensibilisierte  $\beta$ -Adrenozeptoren wieder sensibilisieren kann.

#### 4.4 Einfluss einer $\beta$ -Adrenozeptorblockade auf den Reperfusionsschaden

Um zu klären, ob die durch Isoprenalin vermittelte Protektion auf einer Stimulation der  $\beta$ -Rezeptoren beruht, wurde Isoprenalin zusammen mit Atenolol, einem  $\beta$ -Adrenozeptorblocker, prä-ischämisch eingewaschen. Es zeigte sich, dass durch Atenolol die durch Isoprenalin induzierte Kardioprotektion vollständig aufgehoben wurde.

Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von Miyawaki u. Ashraf (1997a), wonach eine  $\beta$ -Adrenozeptorblockade ebenfalls die protektiven Effekte von Isoprenalin verhin-derte. Frances et al. (2003) konnten zeigen, dass Atenolol, aber nicht ICI-118,551, ein selektiver  $\beta_2$ -Blocker, eine Isoprenalin-induzierte Kardioprotektion verhindern konnte. Während bei Frances et al. (2003) zwischen Isoprenalinstimulation und Indexischämie 15 Minuten lagen, haben wir in unserer Arbeit vor der Indexischämie keine zeitliche Ver-zögerung durchgeführt. Wie bereits in Kapitel 4.2 diskutiert, ist diese Zeitdifferenz nicht zur Induktion der Kardioprotektion nötig. Es ließ sich keine Abhängigkeit von der zeit-lichen Applikation der  $\beta$ -Adrenozeptorblockade in der Hemmung der Kardioprotektion im Vergleich unserer Daten mit den Daten von Miyawaki u. Ashraf (1997a) und Frances et al. (2003) finden.

Lochner et al. (1999) haben nachweisen können, dass auch ein IPC durch einen  $\beta$ -Adrenozeptorblocker verhindert werden kann. In den letzten Jahren haben sich Hinweise ergeben, dass die beiden vorherrschenden  $\beta$ -Adrenozeptor-Subtypen  $\beta_1$  und  $\beta_2$  gegen-sätzliche Effekte bewirken (Xiao et al. 2004). Vittone et al. (2006) konnten zeigen, dass eine Hemmung der  $\beta_1$ -Adrenozeptoren die Protektion durch ein IPC aufhebt. In unserer Arbeit konnten wir diese Funktion des  $\beta_1$ -Subtyps auch bei einem pharmakologischen Preconditioning bestätigen.

Weiterhin wurde untersucht, ob eine alleinige Bindung eines Liganden an  $\beta$ -Adreno-zeptoren zur Protektion ausreichend ist. Hierzu wurde Atenolol in verschiedenen Kon-zentrationen prä-ischämisch eingewaschen und erst während der Reperfusion ausgewa-schen. Hier zeigte sich wie erwartet keine Veränderung der post-ischämischen kardialen Funktion im Vergleich mit den Kontrollen. In Bezug auf die post-ischämische Arrhyth-mieneigung ließ sich eine etwas höhere Inzidenz durch eine  $\beta$ -Adrenozeptorblockade nachweisen. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit der Studie von Tölg et al. (1997), die ebenfalls keine Reduktion post-ischämischer Arrhythmien durch Inhibition von  $\beta$ -Adrenozeptoren durch Atenolol und Timolol nachweisen konnten. Wie bereits in 3.2.2

dargestellt, resultiert eine niedrig dosierte  $\beta$ -Adrenozeptoraktivierung in einer Reduktion fataler post-ischämischer Arrhythmien.

Zusammenfassend ist für die Induktion kardioprotektiver Effekte eine Aktivierung von  $\beta$ -Adrenozeptoren notwendig. Eine alleinige Bindung eines Liganden an den Rezeptor bewirkt hingegen keine post-ischämischen funktionellen Veränderungen.

#### **4.5 Schlussfolgerung**

Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen, dass eine prä-ischämische  $\beta$ -Adrenozeptor-Aktivierung durch Isoprenalin schon in geringen Konzentrationen das Myokard effektiv vor dem Reperfusionsschaden schützt, ohne dass ein energetischer oder hämodynamischer Stress auf die Kardiomyozyten einwirken muss. Weiterhin ist es nicht notwendig, dass sich das Myokard von der  $\beta$ -Adrenozeptoraktivierung „erholt“, damit die kardioprotektiven Effekte auftreten können. Ein ischämisches Postconditioning beeinflusst die  $\beta$ -Adrenozeptorkopplung.

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation auf den myokardialen Reperfusionsschaden am Modell des isoliert salin perfundierten Rattenherzens untersucht.

Isoprenalin, ein nicht selektiver  $\beta$ -Adrenozeptoragonist, wurde prä-ischämisch dem Perfusat hinzugegeben. Nach 45 Minuten globaler Ischämie wurde während 90 Minuten Reperfusion die myokardiale Funktion anhand kardiodynamischer Parameter (Herzfrequenz, linksventrikulär entwickelter Druck, Doppelprodukt, linksventrikulärer enddiastolischer Druck, Perfusionsdruck,  $\pm dP/dt$ ) ermittelt.

Es ist bekannt, dass durch prä-ischämisch appliziertes Isoprenalin ein protektiver Effekt auf die post-ischämische Funktionserholung erreicht werden kann. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt schon bei hämodynamisch nicht relevanten Konzentrationen auftritt. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass eine niedrige  $\beta$ -Adrenozeptoraktivierung prä- und intra-ischämisch mit einer höheren post-ischämischen Funktionserholung einhergeht, als dies bei einem klassischen  $\beta$ -Adrenozeptor getriggerten Preconditioning der Fall ist. Um Kardioprotektion durch  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation zu induzieren, ist kein prä-ischämisches Auswaschen des Isoprenalins nötig.

Das Ausmaß der funktionellen Kardioprotektion war konzentrationsabhängig. Hämodynamisch wirksame Isoprenalininkonzentrationen führten zu keiner weiteren Verbesserung der myokardialen Funktion. Die durch Isoprenalin erreichte Kardioprotektion konnte durch Atenolol, einem  $\beta$ -Adrenozeptorblocker, unterdrückt werden.

Kurze Isoprenalinstimulationen führten zu keiner Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren. Auch konnte gezeigt werden, dass eine Ischämie von 45 Minuten Dauer zu keiner Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren führte.

Durch hohe Isoprenalininkonzentrationen während der Ischämie kam es zu einer Desensibilisierung von  $\beta$ -Adrenozeptoren. Durch ein ischämisches Postconditioning ließ sich diese Desensibilisierung wieder aufheben.

Diese Arbeit zeigt, dass eine prä-ischämische  $\beta$ -Adrenozeptorstimulation, als eine Form des pharmakologischen Preconditioning, keine Abwandlung des klassischen ischämischen Preconditioning darstellt, indem es durch hämodynamischen oder energetischen Stress dieses imitiert, sondern eine eigenständige Form des Preconditioning ist.

## 6 Summary

In the present study the influence of  $\beta$ -adrenoceptor stimulation on myocardial reperfusion injury was explored. Experiments were performed *ex vivo* in saline perfused rat hearts.

Hearts were preischemic exposed to isoprenaline, a non-selective  $\beta$ -adrenoceptor agonist. After 45 minutes of global ischemia and during 90 minutes of reperfusion the myocardial function was examined with hemodynamical parameters. Left ventricular developed pressure (LVDP), heart rate, rate pressure product, left ventricular enddiastolic pressure, perfusion pressure and  $\pm dP/dt$  were analyzed.

It is well known, that isoprenaline given prior to ischemia exerts a protective effect on postischemic function. The present study shows that this effect takes place in hemodynamical non-relevant concentrations. Furthermore, a low pre- and inraischemic  $\beta$ -adrenergic activation attenuated the postischemic ventricular dysfunction on a higher level in comparison with a classical  $\beta$ -adrenergic preconditioning. To induce cardioprotection with  $\beta$ -adrenoceptor stimulation, no preischemic wash-out of isoprenaline was needed.

The dimension of functional cardioprotection depends on concentration. Concentrations high enough to improve LVDP in normoxic hearts did not improve postischemic recovery. The effect on functional recovery was attenuated by atenolol, a selective  $\beta_1$ -adrenergic blocker.

Neither short stimulations with isoprenaline nor 45 minutes of ischemia desensitized the  $\beta$ -adrenoceptors.

High concentrations of isoprenaline during ischemia induced desensitization of  $\beta$ -adrenoceptors. Ischemic postconditioning restores  $\beta$ -adrenoceptor coupling.

This study shows that preischemic  $\beta$ -adrenoceptor stimulation as a pharmacological preconditioning protocol does not simply mimic classical ischemic preconditioning by induction of hemodynamic or energetic stress prior to a prolonged ischemic period. It is a highly specific form of preconditioning linked to a direct stimulation of  $\beta$ -adrenoceptors.

## 7 Literaturverzeichnis

- ABDALLAH, Y. ; GKATZOFLIA, A. ; PIEPER, H. ; ZOGA, E. ; WALTHER, S. ; KASSECKERT, S. ; SCHÄFER, M. ; SCHLÜTER, K. D. ; PIPER, H. M. ; SCHÄFER, C.: Mechanism of cGMP-mediated protection in a cellular model of myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 66 (2005), Apr, Nr. 1, 123–131
- ARGAUD, Laurent ; GATEAU-ROESCH, Odile ; RAISKY, Olivier ; LOUFOUAT, Joseph ; ROBERT, Dominique ; OVIZE, Michel: Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* 111 (2005), Jan, Nr. 2, 194–197
- ARMSTRONG, S. C. ; GANOTE, C. E.: Flow cytometric analysis of isolated adult cardiomyocytes: vinculin and tubulin fluorescence during metabolic inhibition and ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 24 (1992), Feb, Nr. 2, S. 149–162
- ASIMAKIS, G. K. ; INNERS-MCBRIDE, K. ; CONTI, V. R. ; YANG, C. J.: Transient  $\beta$  adrenergic stimulation can precondition the rat heart against postischaemic contractile dysfunction. *Cardiovasc Res* 28 (1994), Nov, Nr. 11, S. 1726–1734
- ASIMAKIS, G. K. ; INNERS-MCBRIDE, K. ; MEDELLIN, G. ; CONTI, V. R.: Ischemic preconditioning attenuates acidosis and postischemic dysfunction in isolated rat heart. *Am J Physiol* 263 (1992), Sep, Nr. 3 Pt 2, S. H887–H894
- BANERJEE, A. ; LOCKE-WINTER, C. ; ROGERS, K. B. ; MITCHELL, M. B. ; BREW, E. C. ; CAIRNS, C. B. ; BENSARD, D. D. ; HARKEN, A. H.: Preconditioning against myocardial dysfunction after ischemia and reperfusion by an alpha 1-adrenergic mechanism. *Circ Res* 73 (1993), Oct, Nr. 4, S. 656–670
- BANKWALA, Z. ; HALE, S. L. ; KLONER, R. A.: Alpha-adrenoceptor stimulation with exogenous norepinephrine or release of endogenous catecholamines mimics ischemic preconditioning. *Circulation* 90 (1994), Aug, Nr. 2, S. 1023–1028
- BETHELL, H. W. ; VANDENBERG, J. I. ; SMITH, G. A. ; GRACE, A. A.: Changes in ventricular repolarization during acidosis and low-flow ischemia. *Am J Physiol* 275 (1998), Aug, Nr. 2 Pt 2, S. H551–H561

- BODEN, William E. ; GUPTA, Vipul: Reperfusion strategies in acute ST-segment elevation myocardial infarction. *Curr Opin Cardiol* 23 (2008), Nov, Nr. 6, 613–619
- BOLLI, R. ; MARBÁN, E.: Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiol Rev* 79 (1999), Apr, Nr. 2, S. 609–634
- BOLLI, R. ; PATEL, B. S. ; JEROUDI, M. O. ; LAI, E. K. ; MCCAY, P. B.: Demonstration of free radical generation in  $\beta$ tunned"myocardium of intact dogs with the use of the spin trap alpha-phenyl N-tert-butyl nitron. *J Clin Invest* 82 (1988), Aug, Nr. 2, 476–485
- BONZ, A. ; SIEGMUND, B. ; LADILOV, Y. ; VAHL, C. F. ; PIPER, H. M.: Metabolic recovery of isolated adult rat cardiomyocytes after energy depletion: existence of an ATP threshold? *J Mol Cell Cardiol* 30 (1998), Oct, Nr. 10, 2111–2119
- BROADLEY, K. J.: Review of mechanisms involved in the apparent differential desensitization of beta1- and beta2-adrenoceptor-mediated functional responses. *J Auton Pharmacol* 19 (1999), Dec, Nr. 6, S. 335–345
- BROADLEY, K. J. ; PENSON, P. E.: The roles of  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenoceptor stimulation in myocardial ischaemia. *Auton Autacoid Pharmacol* 24 (2004), Oct, Nr. 4, 87–93
- CAVE, A. C.: Preconditioning induced protection against post-ischaemic contractile dysfunction: characteristics and mechanisms. *J Mol Cell Cardiol* 27 (1995), Apr, Nr. 4, S. 969–979
- COHEN, M. V. ; YANG, X. M. ; DOWNEY, J. M.: Smaller infarct after preconditioning does not predict extent of early functional improvement of reperfused heart. *Am J Physiol* 277 (1999), Nov, Nr. 5 Pt 2, S. H1754–H1761
- CORDEIRO, J. M. ; HOWLETT, S. E. ; FERRIER, G. R.: Simulated ischaemia and reperfusion in isolated guinea pig ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 28 (1994), Dec, Nr. 12, S. 1794–1802
- COSTA, Alexandre D T. ; PIERRE, Sandrine V. ; COHEN, Michael V. ; DOWNEY, James M. ; GARLID, Keith D.: cGMP signalling in pre- and post-conditioning: the role of mitochondria. *Cardiovasc Res* 77 (2008), Jan, Nr. 2, 344–352
- CUONG, Dang V. ; KIM, Nari ; YOUM, Jae B. ; JOO, Hyun ; WARDA, Mohamad ; LEE, Jae-Wha ; PARK, Won S. ; KIM, Taeho ; KANG, Sunghyun ; KIM, Hyungkyu ; HAN,



- Jin: Nitric oxide-cGMP-protein kinase G signaling pathway induces anoxic preconditioning through activation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290 (2006), May, Nr. 5, H1808–H1817
- DEFILY, D. V. ; CHILIAN, W. M.: Preconditioning protects coronary arteriolar endothelium from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 265 (1993), Aug, Nr. 2 Pt 2, S. H700–H706
- DENNIS, S. C. ; GEVERS, W. ; OPIE, L. H.: Protons in ischemia: where do they come from; where do they go to? *J Mol Cell Cardiol* 23 (1991), Sep, Nr. 9, S. 1077–1086
- DIEGO, Carlos de ; PAI, Rakesh K. ; CHEN, Fuhua ; XIE, Lai-Hua ; LEEUW, Jan D. ; WEISS, James N. ; VALDERRÁBANO, Miguel: Electrophysiological consequences of acute regional ischemia/reperfusion in neonatal rat ventricular myocyte monolayers. *Circulation* 118 (2008), Dec, Nr. 23, 2330–2337
- DÖRING, H. J. ; DEHNERT, H.: Das isoliert perfundierte Warmblüter-Herz nach Langendorff. *Bioesstechnik* V (1985), S. 1–29
- ENDE, R. van d. ; BATINK, H. D. ; PFAFFENDORF, M. ; ZWIETEN, P. A.: Discrepancies between inotropic responses and beta-adrenoceptor characteristics after global ischemia in isolated hearts. *J Cardiovasc Pharmacol* 18 (1991), Nov, Nr. 5, S. 679–686
- FLEMING, J. W. ; WISLER, P. L. ; WATANABE, A. M.: Signal transduction by G proteins in cardiac tissues. *Circulation* 85 (1992), Feb, Nr. 2, S. 420–433
- FRANCES, Carole ; NAZEYROLLAS, Pierre ; PREVOST, Alain ; MOREAU, Françoise ; PISANI, Jean ; DAVANI, Siamak ; KANTELIP, Jean-Pierre ; MILLART, Hervé: Role of beta 1- and beta 2-adrenoceptor subtypes in preconditioning against myocardial dysfunction after ischemia and reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 41 (2003), Mar, Nr. 3, S. 396–405
- FRANGOIANNIS, Nikolaos G. ; SMITH, C. W. ; ENTMAN, Mark L.: The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 53 (2002), Jan, Nr. 1, S. 31–47
- FRELIN, C. ; VIGNE, P. ; LADOUX, A. ; LAZDUNSKI, M.: The regulation of the intracellular pH in cells from vertebrates. *Eur J Biochem* 174 (1988), May, Nr. 1, S. 3–14

- GANOTE, C. E.: Contraction band necrosis and irreversible myocardial injury. *J Mol Cell Cardiol* 15 (1983), Feb, Nr. 2, S. 67–73
- GANOTE, C. E. ; HEIDE, R. S. V.: Cytoskeletal lesions in anoxic myocardial injury. A conventional and high-voltage electron-microscopic and immunofluorescence study. *Am J Pathol* 129 (1987), Nov, Nr. 2, S. 327–344
- GARLICK, P. B. ; RADDA, G. K. ; SEELEY, P. J.: Studies of acidosis in the ischaemic heart by phosphorus nuclear magnetic resonance. *Biochem J* 184 (1979), Dec, Nr. 3, S. 547–554
- GOLDHABER, J. I. ; QAYYUM, M. S.: Oxygen free radicals and excitation-contraction coupling. *Antioxid Redox Signal* 2 (2000), Nr. 1, S. 55–64
- GRES, Petra ; SCHULZ, Rainer ; JANSEN, Johanna ; UMSCHLAG, Christian ; HEUSCH, Gerd: Involvement of endogenous prostaglandins in ischemic preconditioning in pigs. *Cardiovasc Res* 55 (2002), Aug, Nr. 3, S. 626–632
- GRIFFITHS, E. J. ; HALESTRAP, A. P.: Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J* 307 ( Pt 1) (1995), Apr, S. 93–98
- GROHÉ, Christian ; EICKELS, Martin van ; WENZEL, Sibylle ; MEYER, Rainer ; DEGENHARDT, Heike ; DOEVENDANS, Pieter A. ; HEINEMANN, Marcus P. ; ROSS, Günter ; SCHLÜTER, Klaus-Dieter: Sex-specific differences in ventricular expression and function of parathyroid hormone-related peptide. *Cardiovasc Res* 61 (2004), Feb, Nr. 2, S. 307–316
- HALESTRAP, Andrew P. ; CLARKE, Samantha J. ; JAVADOV, Sabzali A.: Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 61 (2004), Feb, Nr. 3, 372–385
- HAUSENLOY, Derek J. ; MADDOCK, Helen L. ; BAXTER, Gary F. ; YELLON, Derek M.: Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning? *Cardiovasc Res* 55 (2002), Aug, Nr. 3, S. 534–543
- HAUSENLOY, Derek J. ; TSANG, A. ; MOCANU, Mihaela M. ; YELLON, Derek M.: Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288 (2005), Feb, Nr. 2, H971–H976

- HAUSENLOY, Derek J. ; TSANG, Andrew ; YELLON, Derek M.: The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning. *Trends Cardiovasc Med* 15 (2005), Feb, Nr. 2, 69–75
- HAUSENLOY, Derek J. ; YELLON, Derek M.: New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovasc Res* 61 (2004), Feb, Nr. 3, 448–460
- HAUSENLOY, Derek J. ; YELLON, Derek M. ; MANI-BABU, Siva ; DUCHEN, Michael R.: Preconditioning protects by inhibiting the mitochondrial permeability transition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287 (2004), Aug, Nr. 2, H841–H849
- HEARSE, D. J. ; HUMPHREY, S. M. ; CHAIN, E. B.: Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release. *J Mol Cell Cardiol* 5 (1973), Aug, Nr. 4, S. 395–407
- HEIDE, R. S. V. ; HILL, M. L. ; REIMER, K. A. ; JENNINGS, R. B.: Effect of reversible ischemia on the activity of the mitochondrial ATPase: relationship to ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 28 (1996), Jan, Nr. 1, 103–112
- HEREPATH, M. L. ; BROADLEY, K. J.: Desensitization of beta-adrenoceptor-mediated functional responses of guinea pig atria by in vitro incubation with isoprenaline. *J Cardiovasc Pharmacol* 15 (1990), Feb, Nr. 2, S. 259–268
- HEUSCH, G. ; SCHULZ, R.: [Ischemic pre- and postconditioning]. *Dtsch Med Wochenschr* 131 (2006), Sep, Nr. 39, 2169–2175
- HOUSLAY, M. D.: 'Crosstalk': a pivotal role for protein kinase C in modulating relationships between signal transduction pathways. *Eur J Biochem* 195 (1991), Jan, Nr. 1, S. 9–27
- ILIODROMITIS, Efstathios K. ; LAZOU, Antigone ; KREMASTINOS, Dimitrios T.: Ischemic preconditioning: protection against myocardial necrosis and apoptosis. *Vasc Health Risk Manag* 3 (2007), Nr. 5, S. 629–637
- ILIODROMITIS, Efstathios K. ; TASOULI, Androniki ; ANDREADOU, Ioanna ; BOFILIS, Elias ; ZOGA, Anastasia ; COKKINOS, Philip ; KREMASTINOS, Dimitrios T.: Intravenous atenolol and esmolol maintain the protective effect of ischemic preconditioning in vivo. *Eur J Pharmacol* 499 (2004), Sep, Nr. 1-2, 163–169

- INSERTE, J. ; GARCIA-DORADO, D. ; RUIZ-MEANA, M. ; SOLARES, J. ; SOLER, J.: The role of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchange occurring during hypoxia in the genesis of reoxygenation-induced myocardial oedema. *J Mol Cell Cardiol* 29 (1997), Apr, Nr. 4, 1167–1175
- ISHIHARA, Masaharu ; INOUE, Ichiro ; KAWAGOE, Takuji ; SHIMATANI, Yuji ; KURISU, Satoshi ; HATA, Takaki ; MITSUBA, Naoya ; KISAKA, Tomohiko: Impact of prodromal angina pectoris and white blood cell count on outcome of patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 103 (2005), Aug, Nr. 2, 150–155
- JAVADOV, Sabzali A. ; CLARKE, Samantha ; DAS, Manika ; GRIFFITHS, Elinor J. ; LIM, Kelvin H H. ; HALESTRAP, Andrew P.: Ischaemic preconditioning inhibits opening of mitochondrial permeability transition pores in the reperfused rat heart. *J Physiol* 549 (2003), Jun, Nr. Pt 2, 513–524
- JENNINGS, R. B. ; MURRY, C. E. ; REIMER, K. A.: Energy metabolism in preconditioned and control myocardium: effect of total ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 23 (1991), Dec, Nr. 12, S. 1449–1458
- JENNINGS, R. B. ; SCHAPER, J. ; HILL, M. L. ; STEENBERGEN, C. ; REIMER, K. A.: Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury. Changes in cell volume, electrolytes, metabolites, and ultrastructure. *Circ Res* 56 (1985), Feb, Nr. 2, S. 262–278
- JENNINGS, R. B. ; STEENBERGEN, C.: Nucleotide metabolism and cellular damage in myocardial ischemia. *Annu Rev Physiol* 47 (1985), 727–749
- JUHASZOVA, Magdalena ; ZOROV, Dmitry B. ; KIM, Suhn-Hee ; PEPE, Salvatore ; FU, Qin ; FISHBEIN, Kenneth W. ; ZIMAN, Bruce D. ; WANG, Su ; YTREHUS, Kirsti ; ANTOS, Christopher L. ; OLSON, Eric N. ; SOLLOTT, Steven J.: Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest* 113 (2004), Jun, Nr. 11, 1535–1549
- KAMMERMEIER, H.: High energy phosphate of the myocardium: concentration versus free energy change. *Basic Res Cardiol* 82 Suppl 2 (1987), S. 31–36
- KAMP, T. J. ; HELL, J. W.: Regulation of cardiac L-type calcium channels by protein kinase A and protein kinase C. *Circ Res* 87 (2000), Dec, Nr. 12, S. 1095–1102
- KITAKAZE, Masafumi ; ASAKURA, Masanori ; KIM, Jiyoong ; SHINTANI, Yasunori ; ASANUMA, Hiroshi ; HAMASAKI, Toshimitsu ; SEGUCHI, Osamu ; MYOISHI,

- Masafumi ; MINAMINO, Tetsuo ; OHARA, Takahiro ; NAGAI, Yoshiyuki ; NANTO, Shinsuke ; WATANABE, Kouki ; FUKUZAWA, Shigeru ; HIRAYAMA, Atsushi ; NAKAMURA, Natsuki ; KIMURA, Kazuo ; FUJII, Kenshi ; ISHIHARA, Masaharu ; SAITO, Yoshihiko ; TOMOIKE, Hitonobu ; KITAMURA, Soichiro ; INVESTIGATORS, J-W. I. N. D.: Human atrial natriuretic peptide and nicorandil as adjuncts to reperfusion treatment for acute myocardial infarction (J-WIND): two randomised trials. *Lancet* 370 (2007), Oct, Nr. 9597, S. 1483–1493
- KLONER, R. A. ; JENNINGS, R. B.: Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. *Circulation* 104 (2001), Dec, Nr. 24, S. 2981–2989
- KLONER, R. A. ; JENNINGS, R. B.: Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 2. *Circulation* 104 (2001), Dec, Nr. 25, S. 3158–3167
- KUNO, Atsushi ; CRITZ, Stuart D. ; CUI, Lin ; SOLODUSHKO, Victoriya ; YANG, Xi-Ming ; KRAHN, Thomas ; ALBRECHT, Barbara ; PHILIPP, Sebastian ; COHEN, Michael V. ; DOWNEY, James M.: Protein kinase C protects preconditioned rabbit hearts by increasing sensitivity of adenosine A<sub>2b</sub>-dependent signaling during early reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 43 (2007), Sep, Nr. 3, 262–271
- LADILOV, Y. ; HAFFNER, S. ; BALSER-SCHÄFER, C. ; MAXEINER, H. ; PIPER, H. M.: Cardioprotective effects of KB-R7943: a novel inhibitor of the reverse mode of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger. *Am J Physiol* 276 (1999), Jun, Nr. 6 Pt 2, S. H1868–H1876
- LADILOV, Y. V. ; SIEGMUND, B. ; BALSER, C. ; PIPER, H. M.: Simulated ischemia increases the susceptibility of rat cardiomyocytes to hypercontracture. *Circ Res* 80 (1997), Jan, Nr. 1, S. 69–75
- LADILOV, Y. V. ; SIEGMUND, B. ; PIPER, H. M.: Protection of reoxygenated cardiomyocytes against hypercontracture by inhibition of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange. *Am J Physiol* 268 (1995), Apr, Nr. 4 Pt 2, S. H1531–H1539
- LAZOU, Antigone ; ILIODROMITIS, E. K. ; CIESLAK, D. ; VOSKARIDES, K. ; MOUSIKOS, S. ; BOFILIS, E. ; KREMASTINOS, D. T.: Ischemic but not mechanical preconditioning attenuates ischemia/reperfusion induced myocardial apoptosis in anaesthetized rabbits: the role of Bcl-2 family proteins and ERK1/2. *Apoptosis* 11 (2006), Dec, Nr. 12, 2195–2204

- LEE, J. A. ; ALLEN, D. G.: Mechanisms of acute ischemic contractile failure of the heart. Role of intracellular calcium. *J Clin Invest* 88 (1991), Aug, Nr. 2, S. 361–367
- LISA, Fabio D. ; CANTON, Marcella ; MENABÒ, Roberta ; KALUDERCIC, Nina ; BERNARDI, Paolo: Mitochondria and cardioprotection. *Heart Fail Rev* 12 (2007), Dec, Nr. 3-4, 249–260
- LOCHNER, A. ; GENADE, S. ; TROMP, E. ; PODZUWEIT, T. ; MOOLMAN, J. A.: Ischemic preconditioning and the beta-adrenergic signal transduction pathway. *Circulation* 100 (1999), Aug, Nr. 9, S. 958–966
- MAIER, Thorsten ; SCHRECKENBERG, Rolf ; SCHLÜTER, Klaus-Dieter: Effect of pre-ischemic beta-adrenoceptor stimulation on postischemic contractile dysfunction. *Life Sci* 84 (2009), Mar, Nr. 13-14, 437–443
- MALLET, Robert T. ; RYOU, Myoung-Gwi ; WILLIAMS, Arthur G. ; HOWARD, Linda ; DOWNEY, H. F.: Beta1-Adrenergic receptor antagonism abrogates cardioprotective effects of intermittent hypoxia. *Basic Res Cardiol* 101 (2006), Sep, Nr. 5, 436–446
- MARAIS, E. ; GENADE, S. ; LOCHNER, A.: CREB Activation and Ischaemic Preconditioning. *Cardiovasc Drugs Ther* 22 (2008), Feb, Nr. 1, 3–17
- MIYAWAKI, H. ; ASHRAF, M.: Ca<sup>2+</sup> as a mediator of ischemic preconditioning. *Circ Res* 80 (1997), Jun, Nr. 6, S. 790–799
- MIYAWAKI, H. ; ASHRAF, M.: Isoproterenol mimics calcium preconditioning-induced protection against ischemia. *Am J Physiol* 272 (1997), Feb, Nr. 2 Pt 2, S. H927–H936
- MIYAWAKI, H. ; ZHOU, X. ; ASHRAF, M.: Calcium preconditioning elicits strong protection against ischemic injury via protein kinase C signaling pathway. *Circ Res* 79 (1996), Jul, Nr. 1, S. 137–146
- MOOLMAN, J. A. ; GENADE, S. ; TROMP, E. ; LOCHNER, A.: A comparison between ischemic preconditioning and anti-adrenergic interventions: cAMP, energy metabolism and functional recovery. *Basic Res Cardiol* 91 (1996), Nr. 3, S. 219–233
- MURRY, C. E. ; JENNINGS, R. B. ; REIMER, K. A.: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74 (1986), Nov, Nr. 5, S. 1124–1136

- NAKAMURA, M. ; WANG, N. P. ; ZHAO, Z. Q. ; WILCOX, J. N. ; THOURANI, V. ; GUYTON, R. A. ; VINTEN-JOHANSEN, J.: Preconditioning decreases Bax expression, PMN accumulation and apoptosis in reperfused rat heart. *Cardiovasc Res* 45 (2000), Feb, Nr. 3, S. 661–670
- NASA, Y. ; YABE, K. ; TAKEO, S.: Beta-adrenoceptor stimulation-mediated preconditioning-like cardioprotection in perfused rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol* 29 (1997), Apr, Nr. 4, S. 436–443
- NIAN, Min ; LEE, Paul ; KHAPER, Neelam ; LIU, Peter: Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. *Circ Res* 94 (2004), Jun, Nr. 12, 1543–1553
- NICHOLS, C. G. ; LEDERER, W. J.: The role of ATP in energy-deprivation contractures in unloaded rat ventricular myocytes. *Can J Physiol Pharmacol* 68 (1990), Feb, Nr. 2, S. 183–194
- OKRUHLICOVÁ, L. ; RAVINGEROVÁ, T. ; PANCZA, D. ; TRIBULOVÁ, N. ; STYK, J. ; STETKA, R.: Activation of adenylate cyclase system in the preconditioned rat heart. *Physiol Res* 49 (2000), Nr. 2, S. 251–259
- PARRATT, J. R.: Protection of the heart by ischaemic preconditioning: mechanisms and possibilities for pharmacological exploitation. *Trends Pharmacol Sci* 15 (1994), Jan, Nr. 1, S. 19–25
- PHILIPP, Sebastian ; YANG, Xi-Ming ; CUI, Lin ; DAVIS, Amanda M. ; DOWNEY, James M. ; COHEN, Michael V.: Postconditioning protects rabbit hearts through a protein kinase C-adenosine A2b receptor cascade. *Cardiovasc Res* 70 (2006), May, Nr. 2, 308–314
- PIPER, H. M. ; BALSER, C. ; LADILOV, Y. V. ; SCHÄFER, M. ; SIEGMUND, B. ; RUIZ-MEANA, M. ; GARCIA-DORADO, D.: The role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange in ischemia-reperfusion. *Basic Res Cardiol* 91 (1996), Nr. 3, S. 191–202
- PIPER, H. M. ; KASSECKERT, S. A. ; SCHLÜTER, K-D. ; ABDALLAH, Y.: [Pathophysiology of myocardial reperfusion injury]. *Dtsch Med Wochenschr* 133 (2008), Mar, Nr. 12, 586–590
- PIPER, H. M. ; LADILOV, Y. V. ; SIEGMUND, B.: Zelluläre Ursachen des myocardialen Ischämie-Reperfusionsschadens. In: GRIEBENOW, G. (Hrsg.) ; GÜLKER, H. (Hrsg.)

- ; DOMINIAK, P. (Hrsg.) ; PIPER, H. M. (Hrsg.): *Autonomes Nervensystem und Koronare Herzkrankheit*, Novartis Pharma GmbH, 1999, S. 21 – 35
- PIPER, H. M. ; MEUTER, Karsten ; SCHÄFER, Claudia: Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 75 (2003), Feb, Nr. 2, S. S644–S648
- PSYCHARI, Stavroula N. ; ILIODROMITIS, Efstathios K. ; HAMODRAKA, Eftihia ; LIAKOS, Georgios ; VELISSARIDOU, Angeliki ; APOSTOLOU, Thomas S. ; KREMASTINOS, Dimitrios T.: Preinfarction angina does not alter infarct size and in hospital outcome after acute myocardial infarction with ST elevation. *Int J Cardiol* 94 (2004), Apr, Nr. 2-3, 187–191
- RAVINGEROVÁ, T. ; PANCZA, D. ; ZIEGELHOFFER, A. ; STYK, J.: Preconditioning modulates susceptibility to ischemia-induced arrhythmias in the rat heart: the role of alpha-adrenergic stimulation and K(ATP) channels. *Physiol Res* 51 (2002), Nr. 2, S. 109–119
- RAVINGEROVÁ, Tána ; MATEJÍKOVÁ, Jana ; NECKÁR, Jan ; ANDELOVÁ, Eva ; KOLÁR, Frantisek: Differential role of PI3K/Akt pathway in the infarct size limitation and antiarrhythmic protection in the rat heart. *Mol Cell Biochem* 297 (2007), Mar, Nr. 1-2, 111–120
- REIMER, K. A. ; RASMUSSEN, M. M. ; JENNINGS, R. B.: On the nature of protection by propranolol against myocardial necrosis after temporary coronary occlusion in dogs. *Am J Cardiol* 37 (1976), Mar, Nr. 4, S. 520–527
- ROBINET, Arnaud ; HOIZEY, Guillaume ; MILLART, Hervé: PI 3-kinase, protein kinase C, and protein kinase A are involved in the trigger phase of beta1-adrenergic preconditioning. *Cardiovasc Res* 66 (2005), Jun, Nr. 3, 530–542
- ROSAMOND, Wayne ; FLEGAL, Katherine ; FRIDAY, Gary ; FURIE, Karen ; GO, Alan ; GREENLUND, Kurt ; HAASE, Nancy ; HO, Michael ; HOWARD, Virginia ; KISSELA, Bret ; KITTNER, Steven ; LLOYD-JONES, Donald ; MCDERMOTT, Mary ; MEIGS, James ; MOY, Claudia ; NICHOL, Graham ; O'DONNELL, Christopher J. ; ROGER, Veronique ; RUMSFELD, John ; SORLIE, Paul ; STEINBERGER, Julia ; THOM, Thomas ; WASSERTHIEL-SMOLLER, Sylvia ; HONG, Yuling ; COMMITTEE, American Heart Association S. ; SUBCOMMITTEE, Stroke S.: Heart disease and stroke statistics–2007 update: a report from the American Heart Association Statistics



- Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 115 (2007), Feb, Nr. 5, S. e69–171
- ROVETTO, M. J. ; LAMBERTON, W. F. ; NEELY, J. R.: Mechanisms of glycolytic inhibition in ischemic rat hearts. *Circ Res* 37 (1975), Dec, Nr. 6, S. 742–751
- RUBART, Michael ; ZIPES, Douglas P.: Mechanisms of sudden cardiac death. *J Clin Invest* 115 (2005), Sep, Nr. 9, 2305–2315
- SANADA, S. ; KITAKAZE, M. ; PAPST, P. J. ; ASANUMA, H. ; NODE, K. ; TAKASHIMA, S. ; ASAKURA, M. ; OGITA, H. ; LIAO, Y. ; SAKATA, Y. ; OGAI, A. ; FUKUSHIMA, T. ; YAMADA, J. ; SHINOZAKI, Y. ; KUZUYA, T. ; MORI, H. ; TERADA, N. ; HORI, M.: Cardioprotective effect afforded by transient exposure to phosphodiesterase III inhibitors: the role of protein kinase A and p38 mitogen-activated protein kinase. *Circulation* 104 (2001), Aug, Nr. 6, S. 705–710
- SANDHU, R. ; THOMAS, U. ; DIAZ, R. J. ; WILSON, G. J.: Effect of ischemic preconditioning of the myocardium on cAMP. *Circ Res* 78 (1996), Jan, Nr. 1, 137–147
- SCHLÜTER, K. D. ; GOLDBERG, Y. ; TAIMOR, G. ; SCHÄFER, M. ; PIPER, H. M.: Role of phosphatidylinositol 3-kinase activation in the hypertrophic growth of adult ventricular cardiomyocytes. *Cardiovasc Res* 40 (1998), Oct, Nr. 1, S. 174–181
- SCHRECKENBERG, Rolf ; MAIER, Thorsten ; SCHLÜTER, Klaus-Dieter: Post-conditioning restores pre-ischaemic receptor coupling in rat isolated hearts. *Br J Pharmacol* 156 (2009), Mar, Nr. 6, 901–908
- SCHULZ, R. ; GRES, P. ; HEUSCH, G.: Role of endogenous opioids in ischemic preconditioning but not in short-term hibernation in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280 (2001), May, Nr. 5, S. H2175–H2181
- SCHULZ, R. ; POST, H. ; VAHLHAUS, C. ; HEUSCH, G.: Ischemic preconditioning in pigs: a graded phenomenon: its relation to adenosine and bradykinin. *Circulation* 98 (1998), Sep, Nr. 10, S. 1022–1029
- SMART, S. C. ; SAGAR, K. B. ; SCHULTZ, J. el ; WARLTIER, D. C. ; JONES, L. R.: Injury to the Ca<sup>2+</sup> ATPase of the sarcoplasmic reticulum in anesthetized dogs contributes to myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 36 (1997), Nov, Nr. 2, S. 174–184

- SPEECHLY-DICK, M. E. ; MOCANU, M. M. ; YELLON, D. M.: Protein kinase C. Its role in ischemic preconditioning in the rat. *Circ Res* 75 (1994), Sep, Nr. 3, S. 586–590
- STAAT, Patrick ; RIOUFOL, Gilles ; PIOT, Christophe ; COTTIN, Yves ; CUNG, Thien T. ; L'HUILLIER, Isabelle ; AUPETIT, Jean-François ; BONNEFOY, Eric ; FINET, Gérard ; ANDRÉ-FOUËT, Xavier ; OVIZE, Michel: Postconditioning the human heart. *Circulation* 112 (2005), Oct, Nr. 14, 2143–2148
- STANTON, H. C. ; BRENNER, G. ; MAYFIELD, E. D.: Studies on isoproterenol-induced cardiomegaly in rats. *Am Heart J* 77 (1969), Jan, Nr. 1, S. 72–80
- STEENBERGEN, C. ; MURPHY, E. ; LEVY, L. ; LONDON, R. E.: Elevation in cytosolic free calcium concentration early in myocardial ischemia in perfused rat heart. *Circ Res* 60 (1987), May, Nr. 5, S. 700–707
- STEIN, Adam B. ; BOLLI, Roberto ; GUO, Yiru ; WANG, Ou-Li ; TAN, Wei ; WU, Wen-Jian ; ZHU, Xiaoping ; ZHU, Yanqing ; XUAN, Yu-Ting: The late phase of ischemic preconditioning induces a prosurvival genetic program that results in marked attenuation of apoptosis. *J Mol Cell Cardiol* 42 (2007), Jun, Nr. 6, 1075–1085
- STRASSER, R. H. ; KRIMMER, J. ; MARQUETANT, R.: Regulation of beta-adrenergic receptors: impaired desensitization in myocardial ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 12 Suppl 1 (1988), S. S15–S24
- TONG, Haiyan ; BERNSTEIN, Daniel ; MURPHY, Elizabeth ; STEENBERGEN, Charles: The role of beta-adrenergic receptor signaling in cardioprotection. *FASEB J* 19 (2005), Jun, Nr. 8, 983–985
- TONG, Haiyan ; ROCKMAN, Howard A. ; KOCH, Walter J. ; STEENBERGEN, Charles ; MURPHY, Elizabeth: G protein-coupled receptor internalization signaling is required for cardioprotection in ischemic preconditioning. *Circ Res* 94 (2004), Apr, Nr. 8, 1133–1141
- TOYO-OKA, T. ; ARISAKA, H. ; SANMA, H. ; SHIN, W. S. ; DAN, Y. ; SUGIMOTO, T.: Synergistic deleterious effect of micromolar Ca ions and free radicals on respiratory function of heart mitochondria at cytochrome C and its salvage trial. *Biochem Biophys Res Commun* 163 (1989), Sep, Nr. 3, S. 1397–1403
- TÖLG, R. ; KURZ, T. ; UNGERER, M. ; SCHREIECK, J. ; GÖRGE, B. ; RICHARDT, G.: Influence of alpha- and beta-adrenoceptor antagonists on ventricular fibrillation in

- ischemic rat hearts. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 356 (1997), Jul, Nr. 1, S. 62–68
- VEGH, A. ; KOMORI, S. ; SZEKERES, L. ; PARRATT, J. R.: Antiarrhythmic effects of preconditioning in anaesthetised dogs and rats. *Cardiovasc Res* 26 (1992), May, Nr. 5, S. 487–495
- VELDEN, J. van d. ; MERKUS, D. ; KLARENBEEK, B. R. ; JAMES, A. T. ; BOONTJE, N. M. ; DEKKERS, D. H W. ; STIENEN, G. J M. ; LAMERS, J. M J. ; DUNCKER, D. J.: Alterations in myofilament function contribute to left ventricular dysfunction in pigs early after myocardial infarction. *Circ Res* 95 (2004), Nov, Nr. 11, e85–e95
- VITTONI, Leticia ; SAID, Matilde ; MATTIAZZI, Alicia: beta(2)-Adrenergic stimulation is involved in the contractile dysfunction of the stunned heart. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 373 (2006), Apr, Nr. 1, 60–70
- VÉGH, Agnes ; PARRATT, James R.: Noradrenaline, infused locally, reduces arrhythmia severity during coronary artery occlusion in anaesthetised dogs. *Cardiovasc Res* 55 (2002), Jul, Nr. 1, S. 53–63
- WATANABE, Kenichi ; YAOITA, Hiroyuki ; OGAWA, Kazuei ; OIKAWA, Masayoshi ; MAEHARA, Kazuhira ; MARUYAMA, Yukio: Attenuated cardioprotection by ischemic preconditioning in coronary stenosed heart and its restoration by carvedilol. *Cardiovasc Res* 71 (2006), Aug, Nr. 3, 537–547
- XIAO, Rui-Ping ; ZHU, Weizhong ; ZHENG, Ming ; CHAKIR, Khalid ; BOND, Richard ; LAKATTA, Edward G. ; CHENG, Heping: Subtype-specific beta-adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends Pharmacol Sci* 25 (2004), Jul, Nr. 7, 358–365
- YABE, K. ; ISHISHITA, H. ; TANONAKA, K. ; TAKEO, S.: Pharmacologic preconditioning induced by beta-adrenergic stimulation is mediated by activation of protein kinase C. *J Cardiovasc Pharmacol* 32 (1998), Dec, Nr. 6, S. 962–968
- YANG, Xin-Chun ; LIU, Yu ; WANG, Le-Feng ; CUI, Liang ; WANG, Tie ; GE, Yong-Gui ; WANG, Hong-Shi ; LI, Wei-Ming ; XU, Li ; NI, Zhu-Hua ; LIU, Sheng-Hui ; ZHANG, Lin ; JIA, Hui-Min ; VINTEN-JOHANSEN, Jakob ; ZHAO, Zhi-Qing: Reduction in myocardial infarct size by postconditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J Invasive Cardiol* 19 (2007), Oct, Nr. 10, 424–430

ZHAO, Zhi-Qing ; CORVERA, Joel S. ; HALKOS, Michael E. ; KERENDI, Faraz ; WANG, Ning-Ping ; GUYTON, Robert A. ; VINTEN-JOHANSEN, Jakob: Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285 (2003), Aug, Nr. 2, H579–H588

ZWEIER, Jay L. ; TALUKDER, M. A H.: The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 70 (2006), May, Nr. 2, 181–190

## A Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
+dP/dt <sub>max</sub>	max. Druckanstiegsgeschwindigkeit (Kontraktionsgeschwindigkeit)
-dP/dt <sub>min</sub>	max. Druckabfallsgeschwindigkeit (Relaxationsgeschwindigkeit)
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
HR	Herzfrequenz
IPC	Ischämisches Preconditioning
IPoC	Ischämisches Postconditioning
I/R	Ischämie und Reperfusion
ISO	Isoprenalin
LVDP	linksventrikulärer Druck (left ventricular developed Pressure)
LVeDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVsysDP	linksventrikulärer systolischer Druck
mPTP	mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-Poren
MW	Mittelwert
Nx	Normox
P <sub>dias</sub>	Diastolischer Druck
pH	negativer dekadischer Logarithmus der H <sup>+</sup> -Konzentration
pH <sub>i</sub>	intrazellulärer pH
PI-3-K	Phosphoinositid-3-Kinase
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PP	Perfusionsdruck (Perfusat Pressure)
PPC	Pharmakologisches Preconditioning
P <sub>sys</sub>	Systolischer Druck
RISK-Pathway	Reperfusion Injury Salvage Kinase Pathway
ROS	freie Radikale (reactive oxygen spezies)
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler (standard error of the mean)

## B Abbildungsverzeichnis

2.1	Schema Langendorff-Apparatur . . . . .	16
2.2	Schema des intraventrikulär liegenden Katheters . . . . .	17
2.3	Versuchsprotokolle Isoprenalin repetitiv . . . . .	19
2.4	Versuchsprotokolle Kontrollen . . . . .	19
2.5	Versuchsprotokoll: I/R . . . . .	20
2.6	Versuchsprotokolle: Pharmakon intra-ischämisch intrakardial . . . . .	21
2.7	Versuchsprotokoll: Pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin . . . . .	22
2.8	Versuchsprotokolle: Isoprenalin prä- und intra-ischämisch, IPoC . . . . .	22
3.1	Effekt einer normoxen Isoprenalinstimulation auf die Herzfrequenz . . . . .	26
3.2	Effekt einer normoxen Isoprenalinstimulation auf den LVDP . . . . .	26
3.3	Effekt einer normoxen Isoprenalinstimulation auf den PP . . . . .	27
3.4	Effekt einer normoxen Isoprenalinstimulation auf +dP/dt . . . . .	27
3.5	Effekt einer normoxen Isoprenalinstimulation auf den -dP/dt . . . . .	28
3.6	Effekt normoxer repetitiver Isoprenalinstimulationen $10^{-8}$ mol/l, 2 Min. . . . .	29
3.7	Effekt normoxer repetitiver Isoprenalinstimulationen $10^{-8}$ mol/l, 5 Min. . . . .	30
3.8	Effekt normoxer repetitiver Isoprenalinstimulationen $10^{-7}$ mol/l, 2 Min. . . . .	31
3.9	Effekt normoxer prolongierter Isoprenalinstimulationen $10^{-8}$ mol/l, 45 Min. . . . .	33
3.10	I/R-Kontrolle, LVDP im Zeitverlauf . . . . .	35
3.11	Isoprenalin intra-ischämisch: LVDP . . . . .	37
3.12	Isoprenalin intra-ischämisch: HR . . . . .	38
3.13	Isoprenalin intra-ischämisch: LVDPxHR . . . . .	39
3.14	Isoprenalin intra-ischämisch: PP . . . . .	40
3.15	Isoprenalin intra-ischämisch: +dP/dt <sub>max</sub> . . . . .	41
3.16	Isoprenalin intra-ischämisch: -dP/dt <sub>min</sub> . . . . .	42
3.17	Zeitverlauf pharmakologisches Preconditioning mit Isoprenalin . . . . .	43
3.18	Postconditioning: LVDP 90 Min. nach Reperfusion . . . . .	44
3.19	Atenolol prä- und intra-ischämisch . . . . .	46
3.20	Isoprenalin + Atenol: LVDP 90 Minuten nach Reperfusion . . . . .	47

3.21 $\beta$ -AR-Aktivierbarkeit Kontrollen . . . . .	50
3.22 $\beta$ -AR-Aktivierbarkeit nach 45 min Isoprenalin: LVDP . . . . .	52
3.23 $\beta$ -AR-Aktivierbarkeit nach Isoprenalin intra-ischämisch: LVDP . . . . .	53
3.24 $\beta$ -AR-Aktivierbarkeit nach Isoprenalin intra-ischämisch: HR . . . . .	54
3.25 $\beta$ -AR-Aktivierbarkeit nach Isoprenalin intra-ischämisch: PP . . . . .	55
3.26 $\beta$ -AR-Aktivierbarkeit nach PPC mit Isoprenalin: LVDP . . . . .	56
3.27 $\beta$ -AR-Aktivierbarkeit nach Postconditioning . . . . .	57

## **C Erklärung**

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

Thorsten Björn Maier



## **D Danksagung**

Ich danke

Herrn Prof. Dr. K.-D. Schlüter für die Überlassung dieses Promotionsthemas, seine ständige Ansprechbarkeit, die kontinuierliche Betreuung und Unterstützung, sowie für seine immer und durch nichts zu erschütternde positive Sicht der Dinge.

Herrn Dr. R. Schreckenberg für die geduldige Beantwortung aller "kurzen" Fragen.

Herrn Peter Volk für seine geduldige Einführung in das Laborleben und seine Hilfsbereitschaft nicht nur in methodischen Belangen.

Meinen Eltern und Großeltern, für alles was sie für mich getan haben.

Meiner Freundin Theresa für ihre Geduld und fortwährende moralische Unterstützung.

## E Lebenslauf

### Persönliche Daten

---

Name	Thorsten Björn Maier
Geburtsdatum und -ort:	26. Juli 1981 in Bochum
Anschrift:	Bahnhofstraße 60, 35390 Gießen
Familienstand:	ledig
Eltern:	Hartmut Maier Angelika Maier geb. Kasper

### Schulbildung

---

1988–1992	Kath. Johannes-Grundschule, Altenberge
1992–2001	Städt. Gymnasium Borghorst, Steinfurt
06/2001	Allgemeine Hochschulreife

### Zivildienst

---

07/2001 – 04/2002	Arbeiter-Samariter-Bund Münster, Rettungssanitäter
-------------------	--

### Hochschulbildung

---

04/2002	Medizinstudium an der Justus-Liebig-Universität Gießen
04/2004	Ärztliche Vorprüfung
02/2007 – 01/2008	Praktisches Jahr
<i>Chirurgie</i>	Universitätsklinikum Gießen Allgemeinchirurgie, Neurochirurgie, Unfallchirurgie
<i>Innere Medizin</i>	Universitätsklinikum Gießen Kardiologische Intensiv, Internistische Notaufnahme
<i>Herz-/Gefäßchirurgie</i>	Universitätsklinikum Gießen
04/2008	Ärztliche Prüfung
seit 07/2008	Assistenzarzt am Universitätsklinikum Gießen Abteilung für Allgemein-, Viszeral-, Thorax-, Transplantations- und Kinderchirurgie

## **Veröffentlichungen und Vorträge**

---

MAIER, Thorsten ; SCHRECKENBERG, Rolf ; SCHLÜTER, Klaus-Dieter:  
Effect of pre-ischemic beta-adrenoceptor stimulation on postischemic contractile dysfunction. *Life Sci* 84 (2009), Mar, Nr. 13-14, 437–443

SCHRECKENBERG, Rolf ; MAIER, Thorsten ; SCHLÜTER, Klaus-Dieter:  
Postconditioning restores pre-ischaemic receptor coupling in rat isolated hearts.  
*Br J Pharmacol* 156 (2009), Mar, Nr. 6, 901–908

MAIER, Thorsten ; SCHLÜTER, Klaus-Dieter ; SCHRECKENBERG, Rolf:  
Pharmacologic Pre-Conditioning by  $\beta$ -Adrenoceptorstimulation: Does it exist?  
*The 86th Annual Meeting of The German Physiological Society,*  
*Acta Physiologica* (2007), Volume 189, Supplement 653:O14-8, Vortrag

Gießen, im Juli 2009

*edition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

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

ISBN 3-8359-5493-8



9 17 8 3 8 3 5 1 9 3 4 9 3 9