

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. van Aken-

**Wirkung von nichtliquorgängigem Naloxon-Methiodid  
auf myokardiales Stunning  
im chronisch instrumentierten, wachen Hund**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur  
Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

**Frank Strothmann**  
aus  
Halle (Westfalen)

2003

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Jürgens

1. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. T.P. Weber
2. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. U.R. Liljenqvist

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Juni 2004

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Anästhesie und operative Intensivmedizin  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. van Aken-  
1. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. T.P. Weber  
2. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. U.R. Liljenqvist

## **Zusammenfassung**

### **Wirkung von nichtliquorgängigem Naloxon-Methiodid auf myokardiales Stunning im chronisch instrumentierten, wachen Hund**

Strothmann, Frank

Beim myokardialen Stunning handelt es sich um eine postischämische kontraktile Dysfunktion, die nach Wiederherstellung der Perfusion trotz fehlender irreversibler Zellschädigung bei normalen koronaren Blutfluss persistiert.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte einer präischämischen Gabe des peripher wirkenden, nichtliquorgängigen Opioidrezeptorantagonisten Naloxon-Methiodid auf die Wirkung bei myokardialen Stunning untersucht.

Die Versuche wurden durch die Bezirksregierung Münster (Aktenzeichen: 23.0835.1.0 (G 36/98)) genehmigt. Zehn gesunde Foxhounds wurden nach linksseitiger Thorakotomie chronisch instrumentiert, um Messungen des mittleren systemarteriellen Drucks (MAP), des linksatrialen Drucks (LAP), des linksventrikulären Drucks (LVP) und dessen erster Ableitung nach der Zeit (LV dp/dt), der epikardialen Blutflussgeschwindigkeit im Rasmus interventricularis anterior (RIVA), der linken Koronararterie (BFV LAD), sowie der fraktionellen myokardialen Wanddicke im RIVA-perfundierten Myokardbezirk (WTF) durchzuführen. Pneumatische Ballonokkluder um die Riva ermöglichten reversible Induktion einer zehnminütigen Myokardischämie. Versuche an wachen Tieren erfolgten frühestens nach einer postoperativen Erholungsphase von zehn Tagen. Bei allen Tieren wurden 2 Stunningversuche randomisiert in alternierender Reihenfolge durchgeführt, d.h. bei 5 Hunden erfolgte die erste LAD-Okklusion ohne Applikation des Opioidrezeptorantagonisten (Kontrolle) und bei den anderen 5 Tieren nach präischämischer Gabe von 63 µg/kg Naloxon-Methiodid (Intervention). Die hämodynamischen Parameter, sowie die WTF wurden zu vorbestimmten Zeiten bis zur vollständigen Erholung gemessen.

In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, daß die intavenöse Gabe von nichtliquorgängigen, peripher wirkenden Naloxon-Methiodid keinen Einfluß auf den Schweregrad des myokardialen Stunning bewirkt und sich die ischämische und postischämische linksventrikuläre systolische Funktion nicht veränderte.

Die bereits nachgewiesene günstige Beeinflussung von myokardialen Stunning durch liquorgängiges Naloxon beruht somit am ehesten auf einer Blockade der kardiovaskulären Effekte zentralwirksamer endogener Opioidpeptide.

Tag der mündlichen Prüfung: 16.06.2004

## Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung .....	I
Tabellen- und Abbildungsverzeichnis .....	III
Abkürzungsverzeichnis .....	IV
<b>1. Einleitung</b>	<b>Seite 1</b>
1.1 Myokardischämie und myokardiales Stunning .....	Seite 1
1.2 Zentrale und periphere Effekte der EOP.....	Seite 7
1.3 Ziel der Untersuchung .....	Seite 15
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>Seite 16</b>
2.1 Operative Instrumentierung .....	Seite 16
2.2 Messmethoden .....	Seite 21
2.3 Eingesetztes Pharmakon: Naloxon-Methiodid .....	Seite 27
2.4 Versuchsablauf .....	Seite 29
2.5 Datenerfassung und Statistik .....	Seite 33
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>Seite 34</b>
3.1 Hämodynamik .....	Seite 34
3.2 Regionale Wanddickenveränderungen.....	Seite 43
3.3 Regionaler myokardialer Blutfluss .....	Seite 46
<b>4. Diskussion</b>	<b>Seite 47</b>
4.1 Myokardiales Stunning .....	Seite 47
4.2 Das Versuchsmodell .....	Seite 55
4.3 Einfluss von Naloxon-Methiodid auf myokardiales Stunning .....	Seite 61
4.3.1 Einflüsse des EOP-Systems auf Myokardischämien .....	Seite 61
4.3.2 Periphere und zentrale Einflüsse von EOP auf das Myokard.....	Seite 64
4.3.2.1 Untersuchungen an intakten Tiermodellen .....	Seite 64
4.3.2.2 Untersuchungen an isolierten Organpräparaten .....	Seite 66
4.3.2.3 Untersuchungen an isolierten Kardiomyozyten .....	Seite 66
4.4 Zusammenfassung .....	Seite 69
4.5 Schlussfolgerung und Ausblick .....	Seite 70
Literaturverzeichnis .....	Seite 72
Lebenslauf .....	Seite 88
Danksagungen .....	Seite 90
Anhang .....	Seite 91

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b>	<i>Unterscheidungsmerkmale von Myokardischämie, Stunning und Hibernation</i>	Seite 6
<b>Tabelle 2</b>	<i>Hämodynamischen Werte mit/ohne Naloxon-Methiodid-Applikation in den ersten 180 Min.</i>	Seite 36
<b>Tabelle 3</b>	<i>Hämodynamischen Werte mit/ohne Naloxon-Methiodid-Applikation zwischen 6 und 48 Std.</i>	Seite 37
<b>Tabelle 4</b>	<i>Übersicht über die Daten der fraktionierten myokardialen Wanddicke (WTF)</i>	Seite 44
<b>Tabelle 5</b>	<i>Mechanismen des myokardialen Stunning</i>	Seite 49

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1</b>	<i>Schematische Darstellung der Instrumentierung bei Sicht auf das Herz nach linkseitiger Thoraktomie</i>	Seite 20
<b>Abbildung 2</b>	<i>Schematische Darstellung der typischen Registrierung der Hämodynamik</i>	Seite 24
<b>Abbildung 3</b>	<i>Strukturformeln für Naloxon-Methiodid und für Naloxon</i>	Seite 28
<b>Abbildung 4</b>	<i>Versuchsablauf für Versuch 1 (Kontrolle) und Versuch 2 (Naloxon-Methiodid)</i>	Seite 31
<b>Abbildung 5</b>	<i>Verlauf des mittleren arterielle Druckes (MAP) für Kontrolle und Naloxon-Methiodid</i>	Seite 38
<b>Abbildung 6</b>	<i>Verlauf des linksatrialen Druckes (LAP) im Versuchsablauf in beiden Versuchsreihen</i>	Seite 39
<b>Abbildung 7</b>	<i>Verlauf der linksventrikulären Druckerhöhungsgeschwindigkeit (LV dp/dt) in beiden Versuchsreihen</i>	Seite 40
<b>Abbildung 8</b>	<i>Verlauf der Herzfrequenz (HR) im Versuchsablauf in beiden Versuchsreihen</i>	Seite 41
<b>Abbildung 9</b>	<i>Verlauf der Blutflussgeschwindigkeit (BFV LAD) im Versuchsaufbau in beiden Versuchsreihen</i>	Seite 42
<b>Abbildung 10</b>	<i>Verlauf der fraktionellen myokardialen Wanddicke (WTF) im LAD-perfundiertem Myokardareal</i>	Seite 45
<b>Abbildung 11</b>	<i>Vergleich der subendokardialen Perfusion im Bereich der LAD-Versorgung</i>	Seite 46
<b>Abbildung 12</b>	<i>Zusammenfassende Darstellung der möglichen Grundlagen des myokardialen Stunning</i>	Seite 52

## Abkürzungsverzeichnis und Begriffserläuterungen

<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>Baseline</b>	Ausgangswert, Ausgangsbedingungen
<b>bpm</b>	Herzfrequenz pro Minute
<b>EOP</b>	Endogene Opioidpeptide
<b>h / Std</b>	Stunden
<b>HR</b>	Herzfrequenz
<b>Hz</b>	Hertz
<b>ISCH</b>	Ischämie
<b>KG</b>	Körpergewicht
<b>kg</b>	Kilogramm
<b>LAD</b>	Ramus interventricularis anterior der linken Koronararterie
<b>LAP</b>	Linksatrialer Druck
<b>LV</b>	Linker Ventrikel
<b>LVP</b>	Linksventrikulärer Druck
<b>LV dp/dt</b>	Druckanstiegsgeschwindigkeit im LV
<b>MAP</b>	Mittlerer arterieller Blutdruck
<b>Min / min</b>	Minuten
<b>ml</b>	Milliliter
<b>ms</b>	Millisekunde
<b>PTCA</b>	Perkutane transluminale Koronarangioplastie
<b>RIVA</b>	Ramus interventricularis anterior
<b>Stunning</b>	revers., postischäm. myokardiale Dysfunktion
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>WTF</b>	"Wall-Thickening-Fraktion", Wanddickenfraktion
<b>δ</b>	delta
<b>ε</b>	eta
<b>κ</b>	kappa
<b>μ</b>	mü
<b>σ</b>	sigma

# **1. Einleitung**

## **1.1 Myokardischämie und myokardiales Stunning**

Den Zustand unzureichender oder unterbrochener Sauerstoffversorgung eines Organs oder Organteils aufgrund gestörter arterieller Durchblutung bezeichnet man als Ischämie. Dabei besteht typischerweise ein Ungleichgewicht zwischen Sauerstoff- und Nährstoffangebot auf der einen Seite und dem zellulären Energie- und Sauerstoffbedarf des betroffenen Gewebes auf der anderen Seite. Als Folge resultieren häufig Funktionsstörungen der betroffenen Organsysteme. Ist die Versorgung der Zellen vollständig unterbrochen entsteht auf Dauer eine Zellnekrose (Fauci et al., 1998).

Myokardiale Ischämien sind häufig mit einer Arteriosklerose der Koronararterien assoziiert, die man als Koronarsklerose bezeichnet. Hierbei kann es aufgrund der nicht ausreichenden myokardialen Sauerstoffversorgung zu elektrophysiologischen und kontraktile Funktionsstörungen kommen. Die Folge können dann unterschiedliche Krankheitsbilder sein, wie Angina pectoris, Herzrhythmusstörungen oder das akute Koronarsyndrom bis hin zum Myokardinfarkt. Epidemiologisch stellt die koronare Herzerkrankung ein bedeutendes klinisches Problem dar, weil die ursächlichen Risikofaktoren einer koronaren Arteriosklerose in den westlichen Industrienationen weit verbreitet sind. Als solche sind beispielsweise neben der arteriellen Hypertonie, dem Diabetes mellitus und Störungen des Fettstoffwechsels auch das Rauchen zu benennen (Fauci et al., 1998). Laut Todesstatistik der Bundesrepublik Deutschland wurde im Jahr 2000 bei 20% aller Verstorbenen eine ischämische Herzerkrankung als Todesursache festgestellt (Staatistisches Bundesamt, 2002). Myokardiale Ischämien können außerdem auch bei klinisch asymptomatischen Patienten z.B. im Rahmen chirurgischer Eingriffe nach Operationen vorkommen.

Bis in die siebziger Jahre ging die medizinische Forschung davon aus,



dass funktionell beeinträchtigt Herzmuskelgewebe nach myokardialen Ischämien entweder als Folge einer andauernden Ischämie oder einer Infarzierung durch Absterben des betroffenen Myokardareals anzusehen ist (Rahimtoola et al., 1989). Mitte der 70er Jahre konnte bei wachen, chronisch instrumentierten Hunden im Experiment nachgewiesen werden, dass eine 5 bis 15 Minuten dauernde Koronarokklusion nach Beginn der Reperfusion, und somit wieder normaler Koronardurchblutung, zu einer andauernden kontraktile Dysfunktion führt. Diese regional beschränkte Dysfunktion des Myokards, die sich nach Wiedereröffnung der Koronararterien in der Reperusionsphase zeigte, zeichnete sich durch eine verlängerte enddiastolische und endsystolische Muskelfaserlänge aus. Außerdem verringerte sich die Kontraktionsgeschwindigkeit des Myokards für mehrere Stunden. Diese postischämische myokardiale Kontraktionsstörung blieb bestehen, obwohl das Elektrokardiogramm (EKG) und der regionale Blutfluss innerhalb weniger Minuten wieder auf normale bzw. leicht subnormale Werte zurückkehrten (Heyndrickx et al., 1975).

Die gleiche Arbeitsgruppe zeigte später in einem ähnlichen Experiment, dass nach Beginn der Reperfusion die Wanddicke im betroffenen postischämischen Myokardareal erst in der frühen Diastole ihr Maximum erreichte. Normalerweise ist die Wanddickenzunahme des linken Ventrikels in der Systole am stärksten ausgeprägt. Man erklärte sich diese Dyskinesie mit der oben genannten Verringerung der Kontraktionsgeschwindigkeit. Daneben war die absolute Wanddicke im Vergleich zu präischämischen Werten im Sinne einer Hypokinesie vermindert. Nach einer Stunde normalisierten sich die beschriebenen Dyskinesien wieder, während die absolute Wanddicke erst nach 24 Stunden die präischämischen Ausgangswerte erreichte. Außerdem konnte neben der postischämischen kontraktile Funktionsstörung zusätzlich, nach initialer reaktiver Hyperämie, ein bis zu drei Stunden andauernder, verringerter transmuraler Blutfluß beobachtet werden.

Das oben aufgeführte Phänomen der postischämischen kontraktile Dysfunktion im vitalem Herzmuskelgewebe wurde 1982 von Braunwald und

Kloner als myokardiales Stunning bezeichnet (engl. "to stun" = betäuben) (Braunwald und Kloner., 1982). Laut dieser Definition müssen zwei Aspekte beim myokardialen Stunning gegeben sein. Zum einen ist die regionale, kontraktile Dysfunktion ein vollständig reversibler Prozess. Zum zweiten bleibt die beschriebene Dysfunktion zunächst auch nach Aufhebung der regionalen Perfusionseinschränkung bestehen.

Zur genaueren Untersuchung dieses Phänomens wurden mehrere Hypothesen aufgestellt, die das Verhalten des Myokards nach Wiederherstellung der Perfusion erklären sollen. Drei Mechanismen werden dabei als wahrscheinliche Ursachen für myokardiales Stunning angenommen (Bolli, 1990):

#### Oxyradikal-Hypothese

Wichtige Bestandteile der Herzmuskelzelle, wie z.B. das Sarkolemm, kontraktile Fasern, Enzyme und Mitochondrien werden durch reaktive Sauerstoffradikale über Lipid- bzw. Proteinoxidation geschädigt.

#### Kalzium-Hypothese

Durch den Effekt des "Calcium-overload" kommt es zum Zeitpunkt der Reperfusion zu einem kurzzeitigem, gesteigerten Kalziumeinstrom, der die Zellorganellen schädigt. Außerdem kann auch eine verringerte Empfindlichkeit der Myofilamente auf Kalzium ursächlich sein.

#### Dysfunktion des sarkoplasmatischen Retikulum

Der Kalziumgehalt des sarkoplasmatischen Retikulum verringert sich durch eine Reduktion der  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase. Als Folge wird in der Systole weniger Kalzium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum freigesetzt. Da Kalzium zur Aktivierung der kontraktilen Proteine notwendig ist, wird dadurch eine geringere Anzahl an kontraktilen Proteinen aktiviert.

Es gibt noch weitere Hypothesen, die u. a. von einer gestörten Produktion energiereicher Phosphate der Mitochondrien, einer Störung der

sympathischen Erregbarkeit durch das vegetative Nervensystem oder einer Beeinträchtigung der extrazellulären Kollagenmatrix ausgehen. Da myokardiales Stunning aber einen multifaktorellen Prozess mit verschiedenen pathogenetischen Mechanismen darstellt, ist keine dieser Hypothesen allein ausreichend, das gesamte Geschehen umfassend zu erläutern (Bolli, 1990).

Eine Myokardischämie und myokardiales Stunning kann in vielen Situationen entstehen, wie z.B. bei instabiler Angina pectoris, beim akuten Myokardinfarkt, bei belastungsinduzierten Ischämien und bei operativen, bzw. interventionellen Eingriffen am Herzen, zu denen neben der koronaren Revaskularisationsoperation auch die perkutane transluminale Coronarangioplastie (PTCA) zählt (Ambrosio et al., 1996; Kloner und Jennings, 2001). Allerdings ist die Diagnose Stunning klinisch schwer zu stellen, da es keine ausschließende Methode gibt, die sicher differentialdiagnostisch myokardiales Stunning von anderen kontraktiven myokardialen Funktionsstörungen unterscheidet. Als Einflussfaktoren können sich hier beispielsweise positiv inotrope Substanzen auswirken, die die postischämische Funktion modulieren und dadurch eine eindeutige Unterscheidung zwischen myokardialen Stunning und einer anderen kontraktiven Dysfunktion wie dem sogenannten "hibernating myocardium" erschweren. Das Phänomen "Hibernation" stellt sich funktionell ähnlich dem Stunning dar, unterscheidet sich aber grundlegend vom myokardialen Stunning (Bolli, 1992, 1998; Nixon et al., 1982).

Der Begriff "Hibernation" (engl. für "Winterschlaf") wurde erstmals von Rahimtoola benutzt. Er beschreibt bei Patienten mit chronischen Durchblutungsstörungen der Koronararterien einen dauerhaften Zustand kontraktiver Dysfunktion (Rahimtoola, 1985). Dieses Phänomen wurde bei Patienten nach chirurgischer Revaskularisationstherapie, d.h. Bypassimplantation beobachtet, bei denen sich postoperativ die Funktion des Myokards normalisierte (Rahimtoola, 1985; Flameng et al., 1981). Es handelt sich dabei wahrscheinlich um einen Mechanismus des Herzmuskels, sich dem reduzierten koronaren Blutfluss und dem damit verminderten Sauerstoff-

und Nährstoffangebot durch eine reaktive Verminderung des myokardialen Sauerstoffverbrauchs durch Senkung der Kontraktionskraft anzupassen. Die Entstehung einer Myokardnekrose wird durch das intakte Gleichgewicht zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf verhindert. Bei Patienten mit "hibernating myocardium" treten aber trotz dieser Anpassungsreaktion unter körperlicher Belastung pektanginöse Beschwerden auf, da der dann in dieser Situation wieder erhöhte Sauerstoffbedarf des Myokards nicht kompensiert werden kann (Rahimtoola 1985, 1989). Der Pathomechanismus "Hibernation" wird von anderen Autoren beispielsweise auch als Ursache für die Entstehung der dilatativen Kardiomyopathie (DCM) oder für einige Arten der Herzinsuffizienz gedeutet (Shanes et. al, 1985; Akins et al., 1980). Der grundlegende Unterschied dieser beiden Formen liegt aber darin, dass beim "hibernating myocardium" die Hypoperfusion der Koronararterien fortbesteht, während beim Stunning das Verhalten des Myokards nach Wiederherstellung einer normalen bis supranormalen Perfusion beschrieben wird (Braunwald und Kloner, 1982; Rahimtoola 1985).

Aus den unterschiedlichen pathophysiologischen Ursachen der beiden genannten Phänomene wird deutlich, dass auch unterschiedliche therapeutische Ansätze zum Einsatz kommen. Demnach wird "Hibernation" im Gegensatz zum myokardialen Stunning durch Wiederherstellung der koronaren Perfusion therapiert und somit die Ursache einer kontraktile Dysfunktion behandelt. Dabei kommen interventionelle kardiologische Therapieformen zum Einsatz, wie z. B. die bereits genannte PTCA, bei der gegebenenfalls ein Stent implantiert werden kann und so durch ein Drahtgeflecht das betroffene Gefäß dauerhaft offen gehalten wird. Sollte eine kardiologische Intervention nicht möglich sein, so ist die operative Revaskularisation durch eine Bypassoperation indiziert. Im Gegensatz dazu wird beim myokardialen Stunning symptomatisch und nicht ursächlich therapiert, da hier die koronare Durchblutung nicht eingeschränkt ist. Eine solche symptomatische Therapie wäre beispielsweise die Behandlung der durch Stunning eingetretenen Hypotension. Die Therapie der ersten Wahl ist hier die bedarfsadaptierte Volumentherapie. Mit dem Einsatz von

Katecholaminen sollte erst begonnen werden, wenn trotz Normovolämie kein ausreichender arterieller Blutdruck aufrechterhalten werden kann, da sich der Sauerstoffbedarf des Myokards unter Katecholaminen weiter erhöht.

Aufgrund der diametralen therapeutischen Konzepte zur Behandlung des myokardialen Stunnings und der myokardialen Hibernation wird deutlich, wie wichtig eine genaue diagnostische Trennung zwischen diesen beiden Phänomenen ist (Bolli, 1992).

	<b><u>Myokard- Ischämie</u></b>	<b><u>Stunning</u></b>	<b><u>Hibernation</u></b>
<b>myokardiale Funktion</b>	reduziert	reduziert	reduziert
<b>koronarer Blutfluß</b>	stark reduziert bis fehlend	normal bis supranormal	leicht bis mittelgradig reduziert
<b>myokardialer Energistoff- wechsel</b>	reduziert bei persistierender Ischämie	normal bis massiv gesteigert	reduziert
<b>Dauer</b>	Minuten bis Stunden	Stunden bis Tage	Tage bis Wochen, bis Monate
<b>Outcome</b>	Infarzierung bei persistierender starker Ischämie	vollständige Erholung	Erholung mit Wiederherstellung des Blutflusses

***Tabelle 1: Unterscheidungsmerkmale von Myokardischämie, Stunning und Hibernation***

## 1.2 Zentrale und periphere Effekte der endogenen Opioidpeptide

Endogene Opioidpeptide (EOP) sind eine Gruppe körpereigener Substanzen, die als endogene Liganden der Opioidrezeptoren anzusehen sind. Sie werden definitionsgemäß von den von außen zugeführten, synthetischen Opiaten abgegrenzt. Diese Liganden bilden zusammen mit ihren Rezeptoren einen Regulationsmechanismus, der in der Evolution offensichtlich in Stresssituationen von Bedeutung gewesen ist. Die Freisetzung der EOP erfolgt, wenn der Organismus bestimmten Belastungen ausgesetzt ist, z. B. bei Kampf- oder Fluchtreaktionen, in denen auch das vegetative Nervensystem aktiviert wird. Dadurch wird beim Individuum ein Programm zur Stressbewältigung aktiviert, bei dem die sonst physiologisch sinnvollen Reaktionen des protektiven Systems unterdrückt werden. Dieses protektive System führt normalerweise in Belastungssituationen zu einer Aktivierung von Schmerzreaktionen, Angst, Tachykardie, Hyperthermie, Hypertension, Mydriasis, Husten, Hyperventilation und Stuhl- und Harndrang. Tritt nun ein Situation ein, in der genau diese ursprünglich protektiven Reaktionen für das Überleben des Individuums von Nachteil sind, kommt es zur gesteigerten Ausschüttung von EOP, wodurch diese Reaktionen blockiert und Flucht- und Kampfhandlungen ermöglicht werden. Dieser Regulationsmechanismus zur kurzzeitigen Krisenintervention in Stresssituationen kann sich allerdings auch nachteilig auf bereits vorgeschädigte Organe oder Organteilsysteme, wie beispielsweise auf ein durch koronare Ischämien vorgeschädigtes Myokard, auswirken.

Zu den EOP gehören das  $\beta$ -Endorphin, die Dynorphine, Methionin- und Leucin-Enkephalin (Met- bzw. Leu-Enkephalin), sowie die in neuerer Zeit entdeckten Endomorphine (Zadina et al., 1997) und Nociceptin (Meunier et al., 1995). Sie sind an vielen Stellen des Organismus nachgewiesen worden, so z. B. in Teilen des Gehirns wie der Hypophyse, dem Hypothalamus, dem zentralen Höhlengrau, dem limbischen System, den sympathischen Ganglien sowie in Teilen des Rückenmarks, aber auch in inneren Organen wie Herz, Nebennieren und dem Gastrointestinaltrakt. Alle EOP werden aus Vorstufen

durch enzymatische Spaltung gebildet.  $\beta$ -Endorphin entsteht im Hypothalamus und der Hypophyse aus Proopiomelanocortin (POMC), einer gemeinsamen Vorstufe mit dem adrenocorticotropen Hormon (ACTH). Die Enkephaline entstehen aus Präproenkephalin A; die Dynorphine werden aus Präproenkephalin B gebildet ( Barron, 1999; Mutschler, 2001; Sheps et al., 1988).

Die Wirkungen der EOP sowie der klinisch angewendeten synthetischen Opiate werden über verschiedene Rezeptortypen vermittelt. Diese verfügen über eine unterschiedliche Verteilung im zentralen Nervensystem, hier besonders konzentriert im Hypothalamus. Sie sind jedoch auch auf peripheren Nerven sowie inneren Organen zu finden. Bislang wurden fünf verschiedene Rezeptortypen formuliert:  $\delta$ -,  $\epsilon$ -,  $\kappa$ -,  $\mu$ - und  $\sigma$ -Rezeptoren, von denen die drei besonders klinisch relevanten Typen der  $\delta$ -,  $\kappa$ - und  $\mu$ -Rezeptoren mittlerweile entsprechend gut erforscht sind (Dhawan et al., 1996; Mutschler 2001).

Die Substanzen die als Liganden mit den Rezeptoren interagieren unterscheiden sich in Spezifität und Affinität zu den einzelnen Rezeptortypen, sowie durch den jeweiligen intrinsischen Effekt, den sie an den Rezeptoren entfalten. Neben reinen Agonisten und Antagonisten existieren auch Substanzen, die in der Lage sind gleichzeitig einige Rezeptortypen zu blockieren und andere zu aktivieren, sogenannte Ago-Antagonisten. Bei den EOP lässt sich für die einzelnen Substanzen eine gesteigerte Affinität zu einzelnen Rezeptortypen nachweisen, was jedoch keineswegs bedeutet, dass sie ausschließlich mit diesem in Wechselwirkung treten. Bevorzugte Liganden des  $\mu$ -Rezeptors sind das  $\beta$ -Endorphin und das Met-Enkephalin. Am  $\kappa$ -Rezeptor binden überwiegend die Dynorphine und am  $\delta$ -Rezeptor das Leu-Enkephalin (Dhawan et al., 1996).

Die wichtige Rolle der EOP ist u. a. mit Hilfe des unspezifischen Opioidrezeptorantagonisten Naloxon nachgewiesen worden. Naloxon ist ein reiner Antagonist an allen Rezeptortypen, der sowohl zentral auch als peripher wirkt. Es konkurriert mit Opioiden um Bindungsstellen an den

Opioidrezeptoren und hebt so durch kompetitive Hemmung die Wirkung aller Opioide auf. Anzumerken ist, dass Naloxon eine höhere Affinität zum  $\mu$ -Rezeptor als zu den anderen Rezeptortypen besitzt (Dhawan et al., 1996). In der Klinik wird Naloxon typischerweise zur Antagonisierung der Nebenwirkungen synthetischer Opiate wie z.B. Atemdepression und Bewusstseinsstörungen eingesetzt (Mutschler, 2001).

In vielen Studien konnte nachgewiesen werden, dass Naloxon eine Verbesserung der Hämodynamik bei unterschiedlichen kardiovaskulären Krankheitsbildern bewirkt. So werden EOP unter anderem bei Erkrankungen wie einer manifesten Herzinsuffizienz (Imai et al., 1994), verschiedenen Schockformen (Holaday et al., 1978; 1980; 1981; 1983) oder einem Myokardinfarkt (Olroyd et al., 1992; Paradis et al., 1992) verstärkt ausgeschüttet. Der Nachweis hierfür erfolgte sowohl in tierexperimentellen Studien wie auch bei Untersuchungen beim Menschen. Erhöhte Plasmaspiegel von  $\beta$ -Endorphin wurden bei Patienten mit Myokardinfarkt gefunden (Chen et al., 1995). Bei Patienten nach einer PTCA aufgrund signifikanter Koronarstenosen ließen sich im Koronarsinus ebenfalls erhöhte  $\beta$ -Endorphin-Plasmaspiegel messen (Parlapiano et al., 1998). Zusätzlich wurde in verschiedenen Studien eine schädliche Wirkung der EOP auf das Myokard festgestellt. Zu beobachten war eine Verminderung der Kontraktilität von isolierten kardialen Myozyten (Ventura et al., 1992) unter Opioidenfluss. Ebenfalls unter Opioidwirkung wurde eine Verminderung der positiv inotropen Antwort von isolierten kardialen Myozyten auf  $\beta$ -adrenerge Stimulation nachgewiesen (Xiao et al., 1997).

Naloxon hemmt die Wirkung aller EOP, unter anderem auch die negativ inotrope Wirkung. Damit erklärt sich der durch Naloxongabe induzierte positive Effekt auf die Hämodynamik. Wu et al. beobachteten beispielsweise bei Ratten, denen in einem Akutversuch eine koronararterielle Ligatur angelegt wurde, nach Vorbehandlung mit Dynorphin vermehrt auftretende Bradykardien, Arrhythmien und eine Hypotension. Nach Vorbehandlung mit Naloxon traten diese nicht auf (Wu et al., 1993). In der selben Spezies



konnten die nach myokardialer Ischämie aufgetretenen Arrhythmien durch die Gabe von Naloxon beendet werden (Olroyd et al., 1995). Bei anästhesierten Hunden mit myokardialen Ischämien konnte ein protektiver Effekt von Naloxon nachgewiesen werden. Dabei bewirkte die Applikation des unspezifischen Antagonisten Naloxon (+ und – Isomer) eine Verbesserung der Herzfrequenz und des arteriellen Blutdrucks, während die isolierte Gabe des (+)-Isomer von Naloxon keine solchen Effekte hatte (Chen et al., 1995). Caffrey et al. konnten ebenfalls beim Hund nach intrakoronarer Infusion des (-)-Isomers von Naloxon eine dosisabhängige Steigerung von Blutdruck, Blutdruckanstiegsgeschwindigkeit und des cardiac output nachweisen (Caffrey et al., 1985).

Holaday et al. testeten ebenfalls an Ratten den Einfluss von Naloxon bei verschiedenen, künstlich erzeugten Schockformen. So wurde im septischen Schock, ausgelöst durch eine Endotoxininjektion, eine Anhebung des mittleren arteriellen Blutdrucks nach Naloxongaben beobachtet (Holaday et Faden.,1978). Auch im spinalen Schock gelang dieser Nachweis, wobei zusätzlich durch Naloxon ein Auskühlen und eine Hypoventilation der Tiere verhindert wurde (Holaday et Faden 1980). In der selben Arbeit konnte durch direkte intraventrikuläre Naloxonapplikation in das zentrale Nervensystem nachgewiesen werden, dass die beschriebenen Effekte vorwiegend zentral vermittelt sind.

Die rezeptorvermittelten Wirkungen der EOP auf das Herz-Kreislaufsystem sind allerdings immer noch nur ansatzweise bekannt. Es ist aber gelungen, einige rezeptorspezifische Wirkungen auf das Myokard zu definieren. Allerdings sind dabei sehr unterschiedliche Versuchsansätze und Spezies zum Einsatz gekommen. Neben experimentellen Untersuchungen an Organpräparaten und Akutversuchen an Tieren sind die Daten nur selten in chronisch instrumentierten Tiermodellen erhoben worden. Da das vegetative Nervensystem im Rahmen einer kontinuierlichen Interaktion zwischen den beiden Systemen einen entscheidenden Einfluss auf das endogene Opioidsystem ausübt, sind die Ergebnisse dieser Studien somit nicht zwangsläufig miteinander vergleichbar.

Folgende kardial relevante rezeptorvermittelte Effekte der endogenen Opioidpeptide sind beschrieben:

μ-Rezeptoren:

Zimlichman et al. konnten nachweisen, dass bei ausgewachsenen Ratten keine μ-Rezeptoren am Herzen vorhanden sind. Opiate oder Opioide können somit über μ-Rezeptoren keine negativ inotropen Wirkungen auf die Myokardzelle ausüben (Zimlichman et al., 1996). Ventura et al. wiesen an Myokardzellpräparaten einer Ratte mit Hilfe des spezifischen μ-Agonisten DAGO nach, dass keine spezifischen Bindungsstellen für den Rezeptor auf dem Myokard vorhanden sind (Ventura et al., 1989). Wittert et al. bestätigten diesen Sachverhalt anhand molekulargenetischer Untersuchungen bei Ratten (Wittert et al., 1995). Dieses Fehlen erklärt die Wirkungen von μ-Rezeptoragonisten auf das Herz-Kreislaufsystem. Nach Gabe von Endomorphin 1 und 2 als selektiven Liganden des μ-Rezeptors konnte eine Reduktion des Herzzeitvolumens, des peripheren Widerstandes und eine arterielle Hypotension beobachtet werden (Champion et al., 1997; Czaplá et al., 1998). Diese Wirkungen sind als zentral vermittelte Effekte zu verstehen. Durch μ-Rezeptoragonisten reduziert sich über sinkende Plasmakonzentrationen von Adrenalin und Noradrenalin der Sympathikotonus. Dadurch wird die Herzfrequenz, das Herzzeitvolumen und gleichzeitig der peripheren Widerstand gesenkt. Lishmanov stellte bei Ratten, bei denen ein Infarkt ausgelöst wurde, ebenfalls eine Sympathikolyse nach Applikation eines selektiven μ-Rezeptoragonisten fest. Hierbei wurden antiarrhythmische Wirkungen durch Erhöhung der ventrikulären Flimmerschwelle beobachtet (Lishmanov et al., 1999). Hanouz et al. konnten in einer in-vitro-Untersuchung an isolierten, menschlichen Kardiomyozyten des rechten Vorhofes nachweisen, dass die Opiatagonisten Remifentanil, Sufentanil und Fentanyl keine inotropen Effekte auslösen (Hanouz et al., 2001). Da diese Substanzen ihre Wirkung überwiegend über die μ-Rezeptoren vermitteln, kann der fehlende negativ inotrope Effekt als ein Fehlen von μ-Rezeptoren im atrialen Myokard gedeutet werden.

Durch die genannten Untersuchungen wird der permanente Einfluss des vegetativen Nervensystems auf das Herz-Kreislaufsystem deutlich. Um diese Einflussnahme genauer betrachten zu können sind in-vivo-Untersuchungen am möglichst intaktem Organismus, d.h. im chronisch instrumentierten Tiermodell, optimal.

#### δ-Rezeptoren:

Die Effekte der  $\mu$ -Agonisten sind zum größten Teil indirekt durch die sympathikolytischen Effekte zu erklären und nicht durch ihre Rezeptorwirkungen. Im Gegensatz dazu können durch  $\delta$ -Rezeptoren direkte Effekte vermittelt werden, da sie auf dem Myokard zu finden sind. Durch  $\delta$ 1-Agonisten wird die Toleranz von Geweben auf Hypoxien bei Mäusen verbessert (Mayfield et al., 1994). Diese gesteigerte Hypoxietoleranz konnte auch bei isolierten Kaninchenherzen nachgewiesen werden (Bolling et al., 2001). Schultz et al. gelang dies bei akut instrumentierten Ratten. Die Gabe eines spezifischen  $\delta$ -Rezeptoragonisten führte hier zu einer Verkleinerung der Infarktgröße nach Koronarokklusionen. Ebenfalls bei akut instrumentierten Ratten zeigten sie, dass das sogenannte „ischemic preconditioning“ durch  $\delta$ -Rezeptoren, aber nicht durch  $\mu$ - und  $\kappa$ -Rezeptoren vermittelt wird. Das „ischemic preconditioning“ ist ein Phänomen, bei dem vorausgegangene kurze Phasen myokardialer Ischämien und Reperfusion zu einem deutlich reduzierten Ausmaß der Schädigung bei einer nachfolgenden längeren Ischämie führen. Die Reduktion der Infarktgröße im präkonditionierten Myokard läßt sich aber nur nachweisen, wenn der zeitliche Abstand zwischen den kurzandauernden und dem definitiven Koronarverschluss wenige Stunden nicht überschreitet und die lange Phase der Okklusion nicht länger als 3 Stunden anhält. (Schultz et al., 1997; 1998).

#### κ-Rezeptoren:

Die über den  $\kappa$ -Rezeptor vermittelten Wirkungen auf das Myokard scheinen überwiegend schädlich zu sein. So zeigte sich, dass selektive Agonisten an diesem Rezeptortyp an isolierten Rattenherzen arrhythmogene Wirkungen

besitzen, bzw. dass durch eine selektive Blockade der  $\kappa$ -Rezeptoren antiarrhythmische Wirkungen induziert werden (Wong et al., 1990). Ebenfalls an isolierten Rattenherzen konnte nach Gabe eines  $\kappa$ -Agonisten und Induktion einer 35 Minuten dauernden Ischämie eine Vergrößerung des Infarktareals nachgewiesen werden (Aitchison et al., 2000). Lee et al. beobachteten nach Applikation des spezifischen  $\kappa$ -Agonisten U50,488H in einem Akutversuch bei Ratten, bei denen die linke Koronararterie unterbunden wurde, eine Potenzierung der aufgetretenen Arrhythmien, Bradykardien und Hypotension (Lee et al., 1992).  $\kappa$ -Rezeptor vermittelte, direkt negativ inotrope Wirkungen auf das Myokard sind daher sehr wahrscheinlich.

Der Zusammenhang zwischen Opioiden bzw. Opiaten und myokardialem Stunning ist bisher nur in wenigen Arbeiten untersucht worden. Kato et al. konnten an präparierten Rattenherzen eine Größenreduktion eines Myokardinfarktes nach Gabe des  $\mu$ -Rezeptoragonisten Fentanyl nachweisen, Stunning blieb in einem weiteren Versuch jedoch unverändert (Kato et Foex, 2000). Eine Erklärung für diese Ergebnisse wurde nicht gefunden, wobei erneut anzumerken ist, dass es sich hierbei um Untersuchungen an isolierten Herzen mit den schon genannten modellspezifischen Interpretationsschwächen handelt. Aussagen über die komplexen Interaktionen zwischen Herz, Kreislauf und den zentralen und humoralen Regulationsmechanismen sind nur in intakten, chronisch instrumentierten Tieren valide nachzuvollziehen. Nur durch die chronische Instrumentierung werden die Einflüsse, vor allem der entscheidende Einfluss des vegetativen Nervensystems, erfasst.

Weber et al. zeigten an chronisch instrumentierten Hunden, dass Naloxon myokardiales Stunning in der Reperfusionsphase günstig beeinflusst. So führte die Applikation von Naloxon vor Induktion einer reversiblen Ischämie zu einer gesteigerten linksventrikulären systolischen Funktion in der ischämischen und postischämischen Phase. Außerdem verbesserte sich die

präischämisch transmyokardiale Perfusionsverteilung über die Zunahme des subendokardialen Blutflusses (Weber et al., 2001).

Sakamoto et al. zeigten ebenfalls an wachen, chronisch instrumentierten, herzinsuffizienten Hunden, dass Naloxon den mittleren arteriellen Blutdruck, das Herzzeitvolumen und die linksventrikuläre Auswurfraction steigert. Allerdings konnten diese positiven Effekte nach Gabe des ausschließlich peripher wirkenden, nichtliquorgängigen Naloxonmethylobromids nicht nachgewiesen werden (Sakamoto et al., 1989).

### **1.3 Ziel der Untersuchung**

In der hier vorliegenden Arbeit soll nun im chronisch instrumentierten, wachen Hund untersucht werden, ob die von Weber et al. beschrieben günstigen Effekte des Naloxons auf myokardiales Stunning (Weber et al., 2001) überwiegend zentral oder peripher vermittelt sind.

Die Frage, die mit der folgenden Untersuchung beantwortet werden soll ist folgende:

Sind die Ergebnisse von Weber et al. unter sonst versuchsgleichen Bedingungen, nach Applikation des nichtliquorgängigen Naloxon-Methiodid wiederholbar?

Wenn nicht, sind vor allem zentral wirksame endogene Opioidpeptide für die Verschlechterung der linksventrikulären Funktion unter myokardialem Stunning verantwortlich, da die periphere Blockade der endogenen Opioidpeptide direkt am Myokard ebenfalls eine Verbesserung bewirken müsste.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Operative Instrumentierung

Die im Folgenden dargestellte Instrumentierung und die tierexperimentellen Untersuchungen sind durch die zuständige Bezirksregierung Münster genehmigt worden (*Aktenzeichen: 23.0835.1.0 (G 36/98)*). Für die Versuche wurden insgesamt zehn Hunde der Rasse „Foxhounds“ beiderlei Geschlechts im Alter von 11 bis 13 Monaten mit einem Körpergewicht zwischen 23 und 32 kg operativ instrumentiert. Bei jedem Hund wurde in gleicher Weise vorgegangen: nach Nahrungskarenz von mindestens zehn Stunden wurde das Tier zur Erleichterung der Narkoseeinleitung am Morgen der Instrumentierung mit einer intramuskulären Injektion von 15 mg Piritramid (Dipidolor<sup>®</sup>, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) und 5 mg pro kg Körpergewicht S-Ketamin (Ketanest<sup>®</sup> S, Parke-Davis GmbH, Berlin) prämediziert. Als die Wirkung dieser Medikamente ausreichend eingetreten war, wurde nach dem Legen einer peripheren Venenverweilkanüle (Insyte-W, Becton Dickinson Vascular Access, Utah, USA) in die Vena Saphena die Allgemeinanästhesie mit einer intravenösen Injektion von 5 mg pro kg Körpergewicht Propofol (Disoprivan<sup>®</sup> 1%, Glaxo Smith Kline GmbH) und 0,4 mg Fentanyl (Fentanyl<sup>®</sup>-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) eingeleitet.

Bei ausreichender Narkosetiefe wurde das Tier oral endotracheal intubiert und an einen Respirator (AV1, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck) zur Beatmung angeschlossen. Die Anästhesie konnte dann durch inhalative Gabe des volatilen Anästhetikums Isofluran (Forene<sup>®</sup>, Abbott GmbH, Wiesbaden) in einem Sauerstoff-/Luftgemisch mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration ( $FiO_2$ ) von 35% aufrecht erhalten werden. Die Beatmungsparameter wurden so eingestellt, dass ein alveolärer Kohlendioxidpartialdruck ( $paCO_2$ ) von 35-40 mmHg und ein alveolärer Sauerstoffpartialdruck ( $paO_2$ ) von 90-120 mmHg resultierte. Die Analgesie wurde durch intermittierende bedarfsadaptierte intravenöse Applikation von

Fentanyl (Fentanyl<sup>®</sup>-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) gewährleistet. Um eine Auskühlung des Tieres während der Operation zu verhindern, wurde das Tier auf dem Operationstisch auf einer elektrischen Heizmatte gelagert und die Körpertemperatur wurde zusätzlich mit einer rektalen Temperatursonde überwacht.

Intraoperativ wurde eine antibiotische Prophylaxe durch einmalige Gabe von 30 mg pro kg Körpergewicht Cefamandol (Mandokef<sup>®</sup>, Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg) durchgeführt. Blut- und Flüssigkeitsverluste über eröffnete Schleimhäute wurden über die ganze Dauer der Instrumentierung durch Infusion von isotoner Natriumchloridlösung (isotone Kochsalzlösung 0,9% Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) bzw. Ringer-Laktat-Lösung (Ringer Laktat Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) ersetzt.

Die Instrumentierung wurde jeweils nach folgendem Schema unter aseptischen Bedingungen durchgeführt: Zunächst wurde, nach Rasur und sterilem Abdecken, ein operativer Zugang durch eine Thorakotomie im fünften Interkostalraum links geschaffen. Nach Freilegung des Herzens und der Aorta erfolgte die Implantation eines 18 Gauge Tygon<sup>®</sup>-Katheters (Norton Performance Plastics, Arkon, Ohio, USA) über eine Stichinzision in die partiell tangential ausgeklemmte Aorta descendens zur invasiven Blutdruckmessung und späteren arteriellen Blutentnahme. Der Katheter wurde mit einer vorher angelegten Tabaksbeutelnaht fixiert. Anschließend wurde das Perikard eröffnet und, nach Durchstechung des linksventrikulären Myokards mit einer 20 Gauge Kanüle, im Bereich der Herzspitze ein Mikromanometer (Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgien) eingenäht. Hiermit wurde später, während der Versuchsdurchführung, der linksventrikuläre Druck (LVP) und die linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (LV dp/dt) gemessen.

Nach Präparation einer geeigneten Stelle aus dem epikardialen Fett- und Bindegewebe wurde, zur Messung des koronaren Blutflusses, eine mit 20 MHz gepulste Dopplersonde (Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA) um den Ramus interventricularis anterior der Arteria coronaria sinistra (= Left anterior descending artery, LAD) gelegt und fixiert. Proximal dieser



Sonde und vor dem Abgang des ersten Diagonalastes (Ramus diagonalis) wurde ein pneumatischer Ballonokkluder (dimed medical engineering SA, Antwerpen, Belgien) um die LAD gelegt, um kurze ischämische Episoden im nachgeschalteten Herzmuskelareal zu induzieren. Zur Messung der regionalen myokardialen Wanddicke wurden zwei mit 10 MHz gepulste Dopplerkristalle an das von der LAD perfundierte Areal des Myokards genäht. Hierbei wurde darauf geachtet, diese genau in den späteren ischämischen Myokardbezirk zu platzieren. Dies ist von Bedeutung, da es im Rahmen von Myokardischämien durch Zugkräfte des betroffenen Areals zur Ausbildung einer dysfunktionellen, aber normal perfundierten, 8 bis 9 mm breiten Übergangszone kommt, die eine günstigere Erholung von Stunning vortäuschen kann (Buda et al., 1986). Als letztes wurde, wie zuvor in die Aorta, in das ausgeklemmte linke Herzohr durch eine Stichinzision ein 18 Gauge Tygon<sup>®</sup>-Katheter implantiert und fixiert, um hierüber den linksatrialen Druck zu messen.

Alle Messsonden wurden unmittelbar nach Implantation an die Empfangsgeräte angeschlossen und so ihre Funktionstüchtigkeit überprüft. Außerdem wurde darauf geachtet, dass alle Sonden in der Herzhöhle lagen ohne Zug auszuüben, um akzidentell ausgelöste Ischämien zu verhindern. Durch die Tygon<sup>®</sup>-Katheter wurde intraoperativ in regelmäßigen Abständen Blut aspiriert und dann mit heparinisierter 0,9%-Natriumchloridlösung gespült, um eine Verstopfung der Katheter durch geronnenes Blut zu verhindern. Erst nach Sicherstellung einer einwandfreien Funktion wurde mit der Instrumentierung fortgefahren.

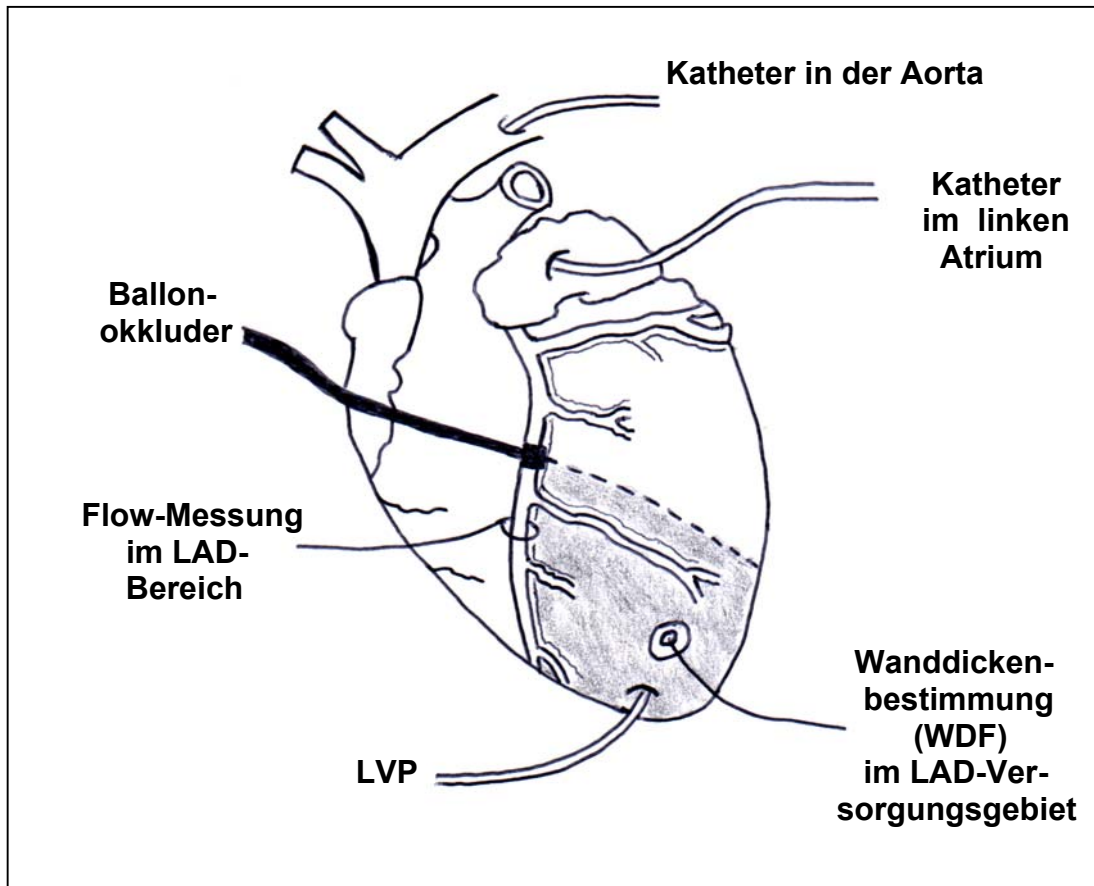
Die Leitungen aller Messsonden, des Ballonokkluders und der Tygon<sup>®</sup>-Katheter wurden gebündelt und durch den operativen Zugang herausgeleitet, zusätzlich wurde zur Ableitung des Wundsekrets eine Thoraxdrainage in die linke Thoraxhälfte eingebracht. Daraufhin wurde der Thorax geschlossen und die Leitungen subkutan bis zu einer Stelle zwischen den Schulterblättern getunnelt. Dort wurden sie dann nach außen geleitet und fixiert. Zur Unterstützung der postoperativen Schmerztherapie wurden Intercostalblöcke in Höhe der Intercostalräume 4 bis 6 mit Bupivacain 0,125% (Carbostesin<sup>®</sup>,

Astra GmbH, Wedel) durchgeführt. Abschließend wurde die Operationswunde schichtweise verschlossen und zusammen mit den Austrittsstellen der Sonden und Katheter mit Polyvidon-Iod-Salbe (Betaisodona<sup>®</sup>-Salbe, Mundipharma GmbH, Limburg (Lahn)) behandelt. Daraufhin wurde das Tier mit einer Textiljacke als Wundverband versorgt. Zuvor wurde jedoch noch einmal die Funktion des implantierten Materials überprüft.

Nach Beendigung des Eingriffs wurde die Zuführung des Inhalationsanästhetikums beendet, und der Hund, nach Sicherstellung einer ausreichenden Spontanatmung und Schutzreflexen, extubiert und in die Haltebox zurückgebracht. Es wurde eine postoperative Schmerztherapie durch bedarfsadaptierte intramuskuläre Injektion von Piritramid (Dipidor<sup>®</sup>, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) durchgeführt.

Nach der Instrumentierung wurden die Hunde täglich neu verbunden. Dabei wurden die Austrittsstellen der Sonden und die Operationswunde gereinigt und desinfiziert und die Tygon<sup>®</sup>-Katheter mit heparinisierter 0,9%-Natriumchloridlösung gespült. In den ersten fünf postoperativen Tagen wurde bei allen Tieren eine tägliche antibiotische Prophylaxe mit 30 mg pro kg Körpergewicht Cefamandol (Mandokef<sup>®</sup>, Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg) durchgeführt. Gleichzeitig wurden die Tiere dabei an die Versuchsbedingungen gewöhnt, da die Verbandswechsel im Labor unter ähnlichen Bedingungen wie später der Versuch selbst stattfanden.

Die Fütterung und sonstige Pflege der Hunde lag in den Händen ausgebildeter Tierpfleger der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universität Münster. Dadurch war eine 24stündige Überwachung und medizinische Versorgung gewährleistet. Nach etwa zehn bis zwölf Tagen hatten sich die Hunde soweit erholt und an die Versuchsumgebung gewöhnt, dass die Experimente durchgeführt werden konnten.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der Instrumentierung bei Sicht auf das Herz nach linksseitiger Thorakotomie im 5. ICR und Eröffnung des Perikards.

LAD (RIVA): Ramus interventrikularis anterior; LVP: Mikromanometer im linken Ventrikel zur Bestimmung des linksventrikulären Druckes; Flow LAD: 10 MHz gepulste Dopplerkristalle zur Messung der koronaren Blutflußgeschwindigkeit; WDF: Wanddickenfraktions-Bestimmung des Ventrikelmyokards mittels 20 MHz gepulster Dopplerkristalle

## 2.2 Messmethoden

Die Auswahl der implantierten Instrumente erfolgte nach den Kriterien einer langen in-vivo-Haltbarkeit, stabilen Ausgangssignalen, geringem Gewicht und Biokompatibilität.

### Blutdruckmessung:

Die Messungen des aortalen und linksatrialen Drucks erfolgten über die implantierten Tygon<sup>®</sup>-Katheter, deren Enden mit abgeschliffenen Injektionsnadeln (20 Gauge) kanüliert und mit sterilen Einmaltransducern (Becton Dickinson Critical Care Systems, Utah, USA) verbunden werden konnten. Diese waren mit heparinisierter 0,9% Natriumchloridlösung (5000i.E./500ml, Liquemin<sup>®</sup> N, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) gefüllt, um eine Verstopfung der Katheter und der Transducer-Systeme durch Blutkoagel zu verhindern. Nach mehrfachem Spülen dieser Systeme und Abgleich gegen den atmosphärischen Druck konnten die oben genannten Druckwerte mit einem herkömmlichen System zur invasiven Blutdruckmessung erfasst werden. Auf diese Weise konnte eine kontinuierliche Messung und Aufzeichnung gewährleistet werden.

### Linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit:

Über einen mikromanometrischen Druckwandler (Smet et al., 1979) wurde kontinuierlich der linksventrikuläre Druck (LVP) gemessen. Dieses Mikromanometer wurde vor jedem Experiment in vivo und gegen den aortalen und linksatrialen Druck kalibriert. Die Erfassung der linksventrikulären Druckanstiegsgeschwindigkeit (LV dp/dt) erfolgte durch elektronische Differenzierung des LVP-Signals (Gould Inc., Cleveland, USA).

### Messung des koronaren Blutflusses:

Die Geschwindigkeit des koronaren Blutflusses (BFV LAD) wurde mit Hilfe eines mit 20 MHz gepulsten Dopplerflussskristall aufgezeichnet, welcher in einer Manschette eingearbeitet war, die distal der pneumatischen

Ballonokkluder um die LAD gelegt wurde. Diese Methode wurde 1978 von Hartley et al. entwickelt und beschrieben (Hartley et al., 1978). Es handelt sich hierbei nicht um eine direkte Messung. Dennoch erlaubt sie eine gute Korrelation zwischen der gemessenen Frequenzablenkung und dem koronaren Blutfluss. Der absolute koronare Blutfluss kann aber bedarfsweise durch Standardformeln errechnet werden. Diese Technik hat gegenüber der elektromagnetischen Blutflussmessung den Vorteil des geringeren Gewichts und eines stabilen intrinsischen Nullsignals. Zudem entfällt bei dieser Methode eine sonst notwendige Nullkalibrierung mit Koronarokklusion, welche einen erheblichen Störfaktor bei der anschließend durchgeführten Messung darstellen würde.

#### Messung der fraktionellen Wanddicke:

Die Bestimmung der regionalen kontraktiven Funktion ist komplex. Sie wird definiert als eine Funktion der lokalen Wandspannung und der dreidimensionalen Deformation des entsprechenden Myokardbezirks über die Zeit (Waldmann et al., 1985). In der Praxis werden eindimensionale Parameter wie myokardiale Segmentverkürzung oder die Wanddicke als Indikatoren der Kontraktilität verwendet. Beide Parameter stehen nach dem Gesetz der Erhaltung der Masse zueinander in Beziehung, d. h. wenn sich die Muskelfaser bei einer Kontraktion verkürzt, wird sie auch dicker. Die Messung der regionalen myokardialen Kontraktilität erfolgte in dieser Studie durch Messung der myokardialen Wanddicke mit den auf das Epikard genähten Dopplersonden. Sie basiert auf dem Prinzip des gepulsten Dopplers und wurde erstmals 1983 von Hartley angewandt und seitdem an vielen verschiedenen Spezies und unter verschiedenen Interventionen validiert (Hartley et al., 1983; Zhu et al., 1986).

Es handelt sich bei dem hier verwendeten Sondenmodell um einen mit 10 MHz gepulsten, gleichzeitig als Sender und Empfänger der entsandten Dopplersignale fungierenden, piezoelektrischen Kristall. Dieser integriert die Geschwindigkeit, mit der sich verschiedene Myokardschichten durch ein Probenvolumen in einem definierten Abstand von der epikardialen

Oberfläche bewegen (Hartley et al., 1983). Das Probenvolumen wird vor den Versuchen festgelegt. Das Signal wird dabei schrittweise in senkrechter Ausrichtung von der epikardialen Oberfläche in Richtung Endokard bewegt. Überschreitet das Signal die endokardiale Oberfläche und trifft auf das im Ventrikelcavum vorhandene Blut, ist die Signalqualität verändert und ein hochfrequenter Ton tritt auf. Das Probenvolumen wird dann einen Schritt ( $2\mu\text{s} = \text{ca. } 1,5 \text{ mm}$ ) Richtung Epikard zurückbewegt. Dieses Probenvolumen wird als transmurale Wanddicke angenommen. Die fraktionelle Wanddicke (WTF) ergibt sich dann aus folgender Formel:

$$\mathbf{WTF (\%)} = \mathbf{SE/R \times 100}$$

Erläuterung:

**SE** = Systolische Exkursion in mm

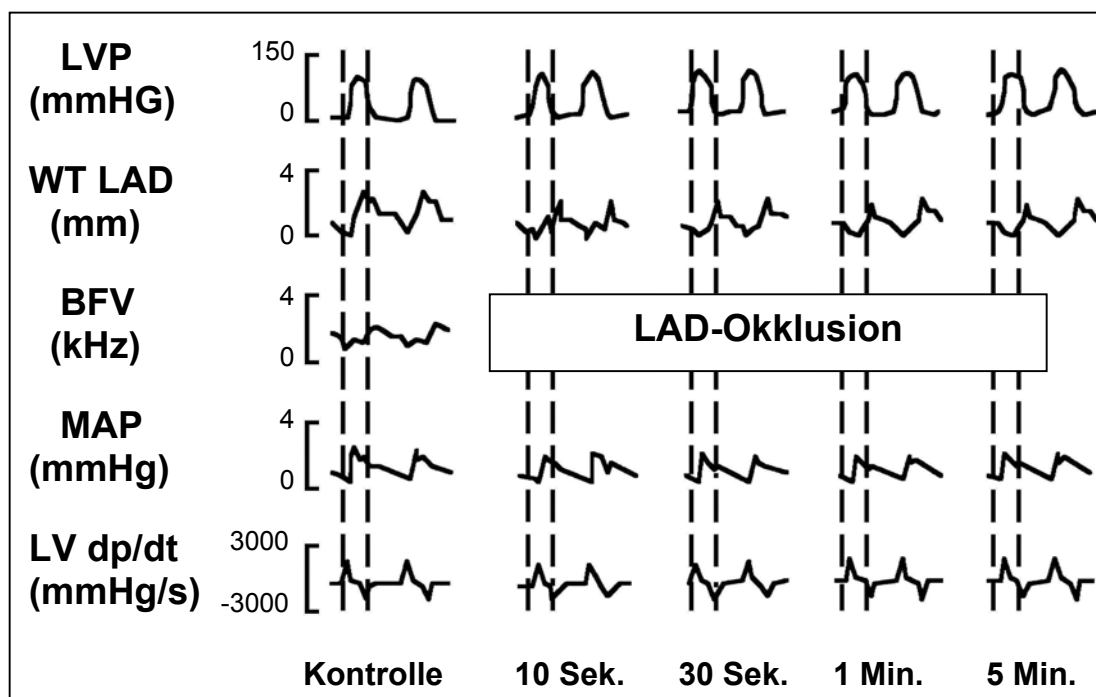
**R** = Tiefe des Probenvolumens in mm

Als Beginn der Systole wird der Beginn des schnellen Anstiegs des linksventrikulären Druckes und als Ende der Zeitpunkt 20 ms vor dem Tiefpunkt der LV dp/dt angenommen. Die Signale der Sonden wurden zur Bestimmung der fraktionellen Wanddicke mit Hilfe eines Computers aufgezeichnet und analysiert.

Zusammenfassend kann man sagen, dass der Vorteil dieser Methode im Vergleich zu anderen sonographischen Verfahren in der geringen Invasivität und in der einfacheren Handhabung liegt. Es entfällt eine umständliche und zusätzlich traumatisierende Positionierung eines zweiten, transmyokardial lokalisierten Empfängerkrystals. Ein weiterer Vorteil, besonders für eine chronische Instrumentierung, ist die technisch bedingte, über lange Zeit stabil bleibende Signaltransmission. Der Nachteil ist jedoch, dass ohne eine gleichzeitig durchgeführte M-Mode-Echokardiographie eine absolute Wanddicke nicht gemessen werden kann (Hartley et al., 1983).

### Erfassung der Parameter:

Alle zuvor genannten Parameter, also aortaler und linksatrialer Druck (MAP und LAP), linksventrikulärer Druck (LVP), Geschwindigkeit des koronaren Blutflusses (BFV LAD) und Wanddickenveränderung (WTF) wurden kontinuierlich gemessen und zu definierten Zeitpunkten simultan digital aufgezeichnet. LVP, BFV LAD und WTF wurden zusammen mit der LV dp/dt und der Herzfrequenz (HR) über ein sechs-Kanal-Dopplersystem (Baylor College of Medicine, Houston, USA) erfasst und aufgezeichnet.



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung einer typischen Registrierung der Hämodynamik und der kontraktiven Funktion im ischämischen Bereich vor Okklusion der LAD (Kontrolle) und während der Frühphase der Ischämie. Die senkrechten Striche deuten die Systolendauer an. In der Kontrolle ohne Ischämie zeigt die Wanddicke (WT LAD) einen typischen Aufstrich im Sinne einer Wanddickenzunahme. Dieses Verhalten ändert sich in der Okklusion innerhalb weniger Sekunden. Es kommt zu einer Abnahme der WT LAD im ischämischen Myokardareal während der Systole, die sich bis hin zu einer paradoxen systolischen Wandverdünnung steigert.

### Bestimmung der regionalen myokardialen Perfusion:

Zur Messung der regionalen myokardialen Perfusion wurden markierte Mikrosphären benutzt. Diese Technik wurde erstmals 1967 von Rudolph und Heymann (Rudolph und Heymann, 1967) zur Untersuchung der fetalen Zirkulation mit radioaktiv markierten Mikrosphären angewendet und basiert auf dem Prinzip einer Indikatorverdünnung (Heymann et al., 1977). Sie wurde 1969 von Domenech zur Bestimmung der regionalen myokardialen Perfusion bei Hunden validiert (Domenech et al., 1969). Der Einsatz von radioaktiven Substanzen ist mit vielen Schwierigkeiten verbunden. Um diese zu vermeiden, wurden bei den hier beschriebenen Versuchen gefärbte Mikrosphären, welche vergleichbar effektiv sind, eingesetzt (Kowallik et al., 1991).

Es handelt sich bei den Mikrosphären um unverformbare Polystyrene-Partikel mit einem Durchmesser von  $15\ \mu\text{m}$  ( $\pm 0,1\ \mu\text{m}$ ). Diese gelangen über den Tygon<sup>®</sup>-Katheter im linken Atrium in die arterielle Zirkulation und verteilen sich dort mit dem Blutfluss in die Organe. Wegen ihrer Größe bleiben sie bei der ersten Kreislaufpassage im Kapillargebiet gefangen. Die Menge der in einem Gewebe gefangenen Mikrosphären ist proportional zur regionalen Perfusion. In diesem Falle wurde bei jeder Bestimmung eine Menge von  $9 \times 10^6$  Mikrosphären (Dye-Trak<sup>®</sup>, Triton Technologies, San Diego, USA) einer Farbe in einem Volumen von 3 ml über den linksatrialen Katheter injiziert. Gleichzeitig wurde über den aortalen Katheter mit Hilfe einer Pumpe (Harvard Apparatus Pump 22, South Natick, Massachusetts, USA) eine Referenzprobe mit einem definierten Fluss von 10 ml pro Minute aspiriert und bis zur spektrophotometrischen Analyse aufbewahrt.

Nach Euthanasie der Tiere in Allgemeinanästhesie (siehe Instrumentierung) wurden bei der Sektion Proben aus dem LAD-perfundierten Bezirk des linken Ventrikels aus der unmittelbaren Nähe der Wanddickensonde entnommen. Dabei wurde darauf geachtet, dass ein Sicherheitsabstand zur Sonde eingehalten wurde, da nichtdurchblutetes Narbengewebe sonst die Analyse verfälschen könnte. Diese Proben wurden



weiter unterteilt in eine subepikardiale und subendokardiale Schicht. Nur Tiere ohne makroskopisch sichtbare Zeichen einer myokardialen Infarzierung wurden in die Studie einbezogen. Die Proben wurden aufbereitet und die Mikrosphären-konzentration spektrophotometrisch bestimmt (Wieland et al., 1993). Aus diesen Ergebnissen und der Mikrosphärenkonzentration aus der Referenzprobe konnte dann die regionale Perfusion nach folgender Formel berechnet werden (Hakkinen et al., 1995; Kowallik et al., 1991):

$$Q_S \text{ (ml} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}\text{)} = A_S \times (Q_T / A_T)$$

Erläuterung:

$Q_S$  = Blutfluss in der Organgewebsprobe

$A_S$  = Mikrosphärenkonzentration in der Organgewebsprobe

$Q_T$  = Blutfluss der Referenzprobe

$A_T$  = Mikrosphärenkonzentration in der Referenzprobe

### 2.3 Eingesetztes Pharmakon: Naloxon-Methiodid

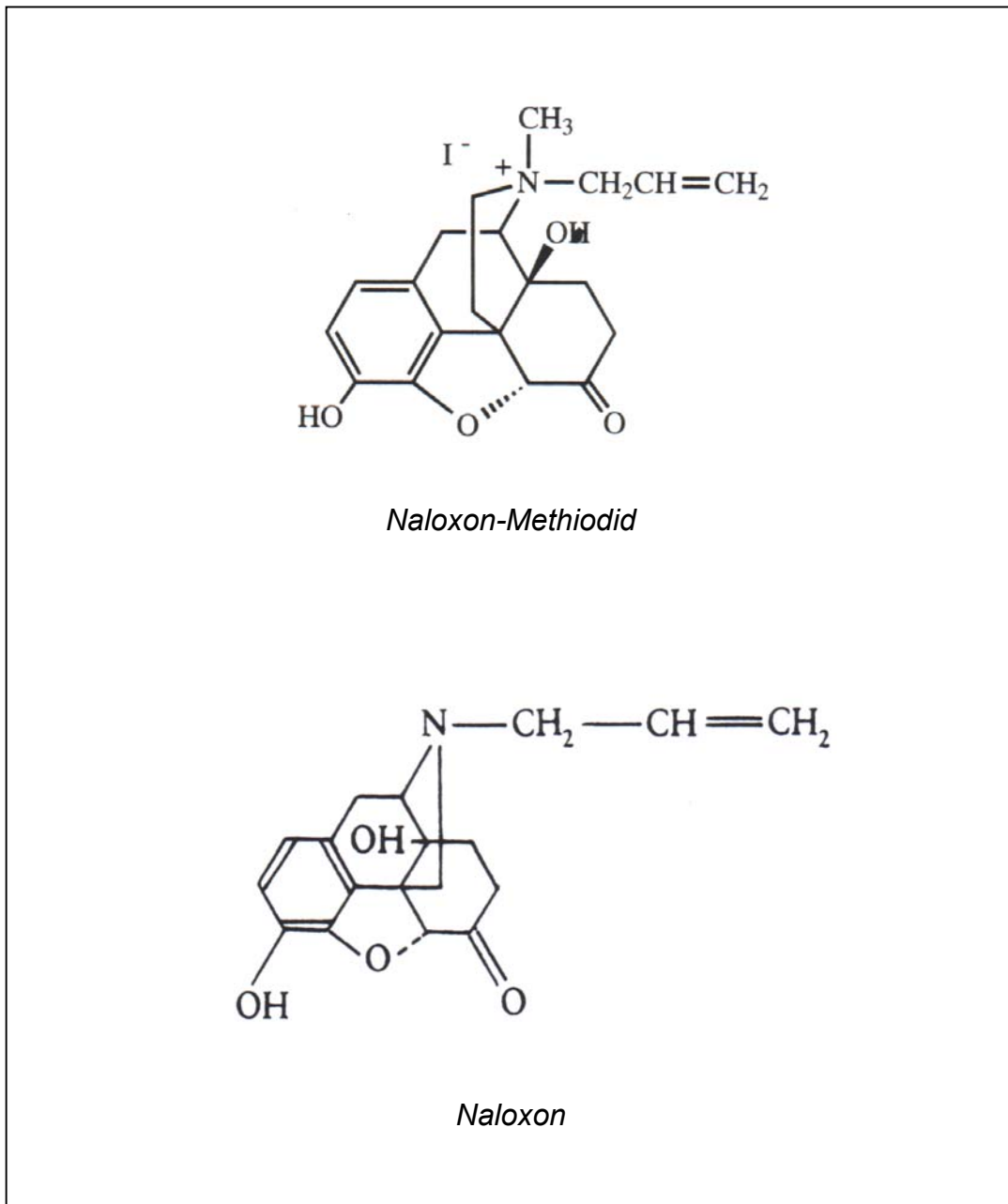
Opioidrezeptorantagonisten können an endogene Opioidrezeptoren binden und dadurch exogene Opiate, wie auch endogene Opioide kompetitiv aus ihrer Bindung am Rezeptor verdrängen. Somit besteht experimentell die Möglichkeit, durch exogene Opioidantagonisten die Wirkung der endogenen Opioide zu beeinflussen. Naloxon (Synonyme: N-Allyl-4,5 $\alpha$ -epoxy-3; 14-dihydroxy-6-morphinanon) ist ein klinisch relevanter, unspezifischer Opioidantagonist, der eine kompetitive Verdrängung von Opiaten und endogenen Opioiden an allen genannten Rezeptortypen bewirkt, wobei es die größte Affinität zum  $\mu$ -Rezeptor besitzt. In der Klinik wird Naloxon typischerweise zur Aufhebung der Nebenwirkung synthetischer Opiate eingesetzt.

Die in der hier vorliegenden Arbeit eingesetzte Substanz Naloxon-Methiodid (Synonyme: 5 $\alpha$ ,17R-4,5-epoxy-3; 14-dihydroxy-17-methyl-6-oxo-17-(2propenyl)-morphinanium iodide; N-Methylnaloxonium iodide) mit der Summenformel  $C_{20}H_{24}INO_4$  ist das quartäre Salz von Naloxon. Es wirkt ebenfalls als nichtselektiver Opioidantagonist an den gleichen Rezeptortypen wie Naloxon und ist ebenfalls wasserlöslich. Im Unterschied zu Naloxon besitzt Naloxon-Methiodid neben dem Iodid eine zusätzliche Methylgruppe. Die Substanz ist dadurch nichtliquorgängig und kann somit die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren. Die antagonistischen Effekte dieses Liganden wurden wiederholt in mehreren experimentellen Studien nachgewiesen (De Simoni et al., 1993; Milne et al., 1990; Sharma et al., 2000).

Pharmakokinetisch zeichnet sich Naloxon-Methiodid nach oraler Applikation über den First-pass-Effekt durch eine geringe Bioverfügbarkeit aus. Daher scheint die parenterale Gabe sinnvoll. Die Substanz wird überwiegend hepatisch metabolisiert und glukuronidiert über die Niere ausgeschieden.

Die gewählte Dosis von 63 $\mu$ g pro kg Körpergewicht basiert auf bereits veröffentlichten Arbeiten, in denen Dosisfindungsstudien für die intravenöse

Gabe von Naloxon bei Hunden durchgeführt wurden (Huang et al., 1986; James et al., 1992; Wilhelm et al., 1995).



**Abbildung 3:** Strukturformel von Naloxon-Methiodid und Naloxon

## 2.4 Versuchsablauf

Die beschriebene operative Instrumentierung wurde bei zehn gesunden Foxhounds durchgeführt, wobei alle Tiere der beschriebenen postoperativen Behandlung und Pflege unterzogen wurden.

Voraussetzung für den Versuchsbeginn war eine vollständige Erholung der Tiere von dem operativen Eingriff. Als Indizparameter hierfür wurden neben einer Blutgasanalyse im Normbereich und einem normalen Aortendruck, eine Herzfrequenz von unter 90 bpm zum Versuchsbeginn herangezogen. Desweiteren mußte bei jedem Tier vor Versuchsbeginn ein lokaler oder systemischer Infekt ausgeschlossen werden.

Die nachfolgend beschriebenen Versuchsprotokolle sahen für jedes Tier zwei Versuche in randomisierter und alternierender Reihenfolge vor. Dies bedeutet, dass bei 5 Hunden je Gruppe die erste LAD-Okklusion mit Applikation des Opioidrezeptorantagonisten Naloxon-Methiodid und bei den anderen 5 Tieren ohne den zu untersuchenden Antagonisten erfolgte. Mögliche Effekte der ersten Ischämiephase auf die zweiten Versuche sollten so gleichmäßig auf beide Gruppen verteilt werden.

Da die Höhe der Vorlast im postischämischen Myokard die kontraktile Funktion erheblich beeinflussen kann, wurde bei den Versuchen auf eine standardisierte Flüssigkeitssubstitution mit dem Ziel der Normovolämie geachtet. Weiterhin wurde bei allen Versuchen Wert auf Normothermie bei den Tieren sowie auf eine gleichbleibende Umgebungstemperatur gelegt.

### Versuch 1 (Kontrolle):

Im Wachzustand werden bei den Hunden die Ausgangswerte als Baseline gemessen und durch Insufflation der Ballonokkluder einer 10-minütigen LAD-Ischämie ausgesetzt. Über die 20 MHz gepulste Dopplersonde wurde die Okklusion und die Wiedereröffnung der LAD überwacht.

Als nächstes erfolgte zu vorher festgelegten Zeitintervallen die Nachbeobachtung der Messparameter bis zur vollständigen Erholung der Wanddickenfraktion auf den Ausgangswert im LAD-Gebiet.

### Versuch 2 (Intervention):

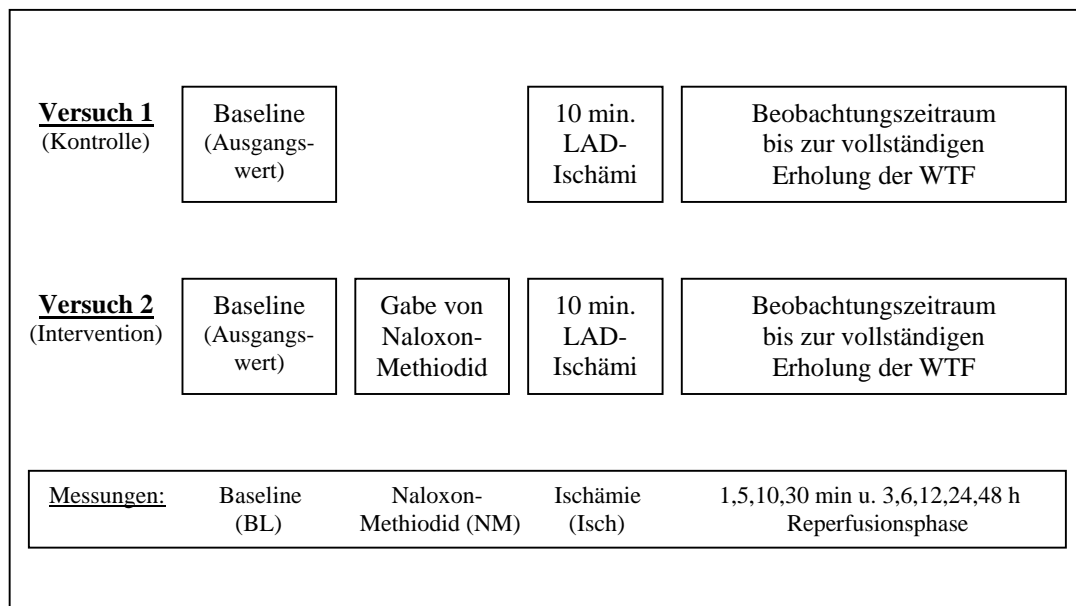
Ebenfalls im Wachzustand werden die Ausgangswerte als Baseline gemessen. Danach erfolgt eine intravenöse Bolusapplikation von 63 µg pro kg/KG Naloxon-Methiodid über den linksatrialen Katheter. Fünf Minuten nach Gabe des Opioidrezeptorantagonisten wird eine erneute Aufzeichnung der hämodynamischen Parameter und anschließend eine 10-minütige LAD-Okklusion durch Insufflation der Ballonokkluder durchgeführt. Es folgt eine Kontrolle der Okklusion und der späteren Wiedereröffnung der LAD durch Messung des Flowsignals mittels der 20 MHz gepulsten Dopplersonde.

Abschließend wird auch in dieser Versuchsreihe eine Nachbeobachtung zu den selben Zeitintervallen wie im Kontrollversuch bis zur vollständigen Erholung bzw. dem Erreichen der Ausgangswerte der Wanddickenfraktion im LAD-Gebiet vorgenommen.

Bei allen Tieren wurde die jeweils zweite ischämische Episode, entweder für den 1. oder den 2. Versuch, immer erst dann durchgeführt, wenn die Messwerte der Wanddickenfraktion wieder die zu Versuchsbeginn erhobenen Ausgangswerte erreicht hatten.

Bei den Versuchen wurde jedoch immer der Zeitpunkt der vollständigen Elimination des Naloxon-Methiodids abgewartet. Der minimale Zeitabstand zwischen den beiden Versuchen betrug 72 Stunden.

Für jedes Tier erfolgte der zweite Versuch nur dann, wenn die Ausgangswerte aller Parameter um weniger als 5 % von denen des vorhergehenden Versuches abwichen.



**Abbildung 4:** Versuchsablauf für Versuch 1 (= Kontrolle) und Versuch 2 (Naloxon-Methiodid) in schematischer Darstellung (Erläuterungen siehe Text)

Mit Hilfe der oben beschriebenen Messsonden wurden folgende Parameter erfaßt:

- Mittlerer systemarterieller Druck (MAP)
- Linksatriärer Druck (LAP)
- Linksventrikulärer Druck LVP)
- Erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit (LV dp/dt)
- Herzfrequenz (HR)
- Blutflußgeschwindigkeit der linken Koronararterie (BFV LAD)
- Fraktionelle myokardiale Wanddicke (WTF)

### Versuch 3 (Bestimmung der regionalen myokardialen Perfusion)

Um nach dem Tod des Tieres die regionale myokardiale Perfusion bestimmen zu können, wurden zu folgenden Zeitpunkten Mikrosphären einer definierten Farbe injiziert. Bei jeder Injektion wurde eine andere Farbe gewählt und dokumentiert:

- Ohne Naloxongabe und ohne Ischämie (Kontrolle)
- Ohne Naloxongabe und mit Ischämie (Kontrolle)
- Mit Naloxongabe und ohne Ischämie
- Mit Naloxongabe und während Ischämie

## 2.5 Datenerfassung und Statistik

Die oben aufgeführten kontinuierlichen Daten wurden im Echtzeitverfahren elektronisch verarbeitet. Die Hardware wurde durch ein Apple Power Macintosh 8500/120 (Apple Inc., Cupertino, USA) mit Erweiterung zur Online-Datenerfassung gestellt.

Als Software wurde Labview 4.0 (National Instruments Germany GmbH), München, Deutschland) eingesetzt. Die CD-Rom diente als dauerhaftes Speichermedium für die Daten. Außerdem wurden die übrigen Werte in regelmäßigen Intervallen abgelesen und gespeichert. Blutgasanalysen sind mit Hilfe eines Analysators (ABL 520, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) angefertigt und auf Datenerfassungsbögen dokumentiert worden. Die Auswertung der Daten erfolgte mit einem handelsüblichem Computersystem (Apple, Cupertino, USA) und mit handelsüblicher Software (Microsoft Excel, Statview)

Bei Vergleichen innerhalb des selben Tieres (also innerhalb einer Gruppe) wurde ein ANOVA für wiederholte Messungen gefolgt von einem geparteten t-test mit Bonferroni-Korrektur durchgeführt.

Bei Vergleichen zwischen verschiedenen Tieren ( also zwischen unterschiedlichen Gruppen) kam ein ungepaarter t-Test zur Anwendung.

Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt. Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  der zugehörigen Standardabweichung (SD) angegeben.



### 3. Ergebnisse

Die erhobenen Daten konnten in vollem Umfang ausgewertet werden. Keiner der zehn Hunde musste wegen Erkrankungen, Funktionsstörungen des implantierten Materials oder einer mangelhaften Induktion von myokardialer Stunning von der Analyse ausgeschlossen werden. Das Ausmaß der regionalen Ischämie und der induzierten regionalen kontraktile Dysfunktion war in jeder Versuchsreihe vergleichbar. Alle Messwerte in den Texten, Tabellen und Abbildungen sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (SD) dargestellt.

#### 3.1 Hämodynamik

Zu Beginn der Versuche (Baseline = BL), zum Zeitpunkt der Ischämie und zu definierten Zeitpunkten innerhalb der Reperfusionphase wurden hämodynamische Daten aufgezeichnet. Diese Aufzeichnungen wurden bis zur kompletten Erholung der fraktionellen Wanddicke (WTF) durchgeführt.

Zu den erfassten hämodynamischen Werten gehören der mittlere arterielle Blutdruck (MAP), der linksatriale Druck (LAP), die linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (LV dp/dt), die Herzfrequenz (HR) und die Blutflussgeschwindigkeit in der LAD (BFV LAD).

##### Mittlerer arterieller Blutdruck:

Während des gesamten Versuchsablaufes traten sowohl in der Kontroll- als auch in der Naloxon-Methiodid-Gruppe keine signifikanten Änderungen des arteriellen Mitteldrucks auf (siehe Tabellen 2, 3 und Abbildung 5).

##### Linksatrialer Druck:

Ein Anstieg des linksatrialen Drucks gegenüber dem Ausgangswert (BL) war während der Ischämie sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Naloxon-Methiodid-Gruppe zu messen. In der Reperfusionphase war zwischen den

Gruppen kein Unterschied festzustellen (siehe Tabellen 2, 3 und Abbildung 6).

Linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit:

Die Ischämie bewirkte in der Kontrollgruppe und in der Naloxon-Methiodid-Gruppe keine Veränderung von LV dp/dt im Vergleich zum jeweiligen Ausgangswert (Baseline=BL).

Für die LV dp/dt war in beiden Gruppen während der Ischämie und der gesamten Reperfusionphase keine signifikante Veränderung festzustellen. (siehe Tabellen 2, 3 und Abbildung 7).

Herzfrequenz:

Während der Ischämie und bis zum Messzeitpunkt 1 Minute nach Beginn der Reperfusion war ein Anstieg der Herzfrequenz gegenüber den Ausgangswerten sowohl in der Kontroll- als auch in der Naloxon-Methiodid-Gruppe nachzuweisen. Es bestand zwischen den beiden Gruppen kein Unterschied im Ausmaß dieses Anstieges (siehe Tabellen 2, 3 und Abbildung 8).

Blutflussgeschwindigkeit in der LAD:

Ein Anstieg der Blutflussgeschwindigkeit in der LAD (BFV LAD) war bis zum Messzeitpunkt 5 Minuten nach Beginn der Reperfusion in beiden Gruppen nachweisbar. Es bestand zwischen den Gruppen kein Unterschied im Ausmaß dieses Anstieges (siehe Tabellen 2, 3 und Abbildung 9).

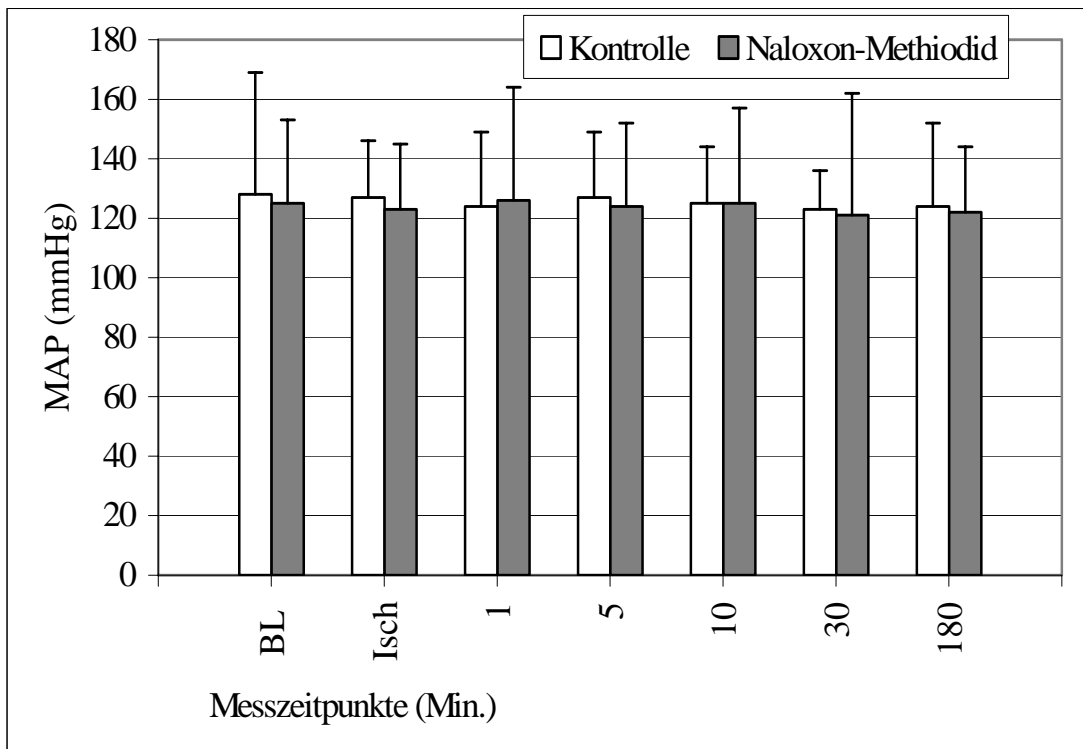
<u>Variable</u>	<u>Versuchsreihe</u>	<u>Baseline</u>	<u>Ischämie</u>	<u>Reperfusion</u>	
				1 Min.	5 Min.
<b>MAP</b> (mmHg)	<i>Kontrolle</i>	128 ± 41	127 ± 19	124 ± 25	127 ± 22
	Naloxon-Methiodid	125 ± 28	123 ± 22	126 ± 38	124 ± 28
<b>LAP</b> (mmHg)	<i>Kontrolle</i>	2,2 ± 4	7,4 ± 12*	2,3 ± 4	2,0 ± 5
	Naloxon-Methiodid	2,3 ± 5	7,2 ± 11*	2,2 ± 4	2,4 ± 6
<b>LV dp/dt</b> (mmHg/s)	<i>Kontrolle</i>	1255 ± 1027	907 ± 857	1131 ± 803	1199 ± 879
	Naloxon-Methiodid	1289 ± 1255	935 ± 917	1204 ± 617	1041 ± 813
<b>HR</b> (bpm)	<i>Kontrolle</i>	93 ± 21	114 ± 27*	116 ± 11*	95 ± 29
	Naloxon-Methiodid	90 ± 16	112 ± 23*	118 ± 22*	97 ± 30
<b>BFV LAD</b> (khz)	<i>Kontrolle</i>	6,3 ± 3,8	0*	12,5 ± 13*	10,3 ± 7,0*
	Naloxon-Methiodid	5,9 ± 5,1	0*	12,8 ± 10,1*	10,9 ± 6,0*

<u>Variable</u>	<u>Versuchsreihe</u>	<u>Reperfusion</u>		
		10 Min.	30 Min.	180 Min.
<b>MAP</b> (mmHg)	<i>Kontrolle</i>	125 ± 19	123 ± 13	124 ± 28
	Naloxon-Methiodid	125 ± 32	121 ± 41	122 ± 22
<b>LAP</b> (mmHg)	<i>Kontrolle</i>	2,1 ± 5	1,9 ± 6	2,1 ± 6
	Naloxon-Methiodid	1,9 ± 5	2,3 ± 5	2,4 ± 5
<b>LV dp/dt</b> (mmHg/s)	<i>Kontrolle</i>	1274 ± 648	1172 ± 566	1185 ± 730
	Naloxon-Methiodid	1175 ± 911	1297 ± 920	1226 ± 927
<b>HR</b> (bpm)	<i>Kontrolle</i>	97 ± 21	94 ± 27	96 ± 33
	Naloxon-Methiodid	96 ± 34	91 ± 25	95 ± 20
<b>BFV LAD</b> (khz)	<i>Kontrolle</i>	7,5 ± 15,2	7,2 ± 8,9	6,5 ± 4,1
	Naloxon-Methiodid	6,8 ± 10,8	7,1 ± 13,3	6,2 ± 8,9

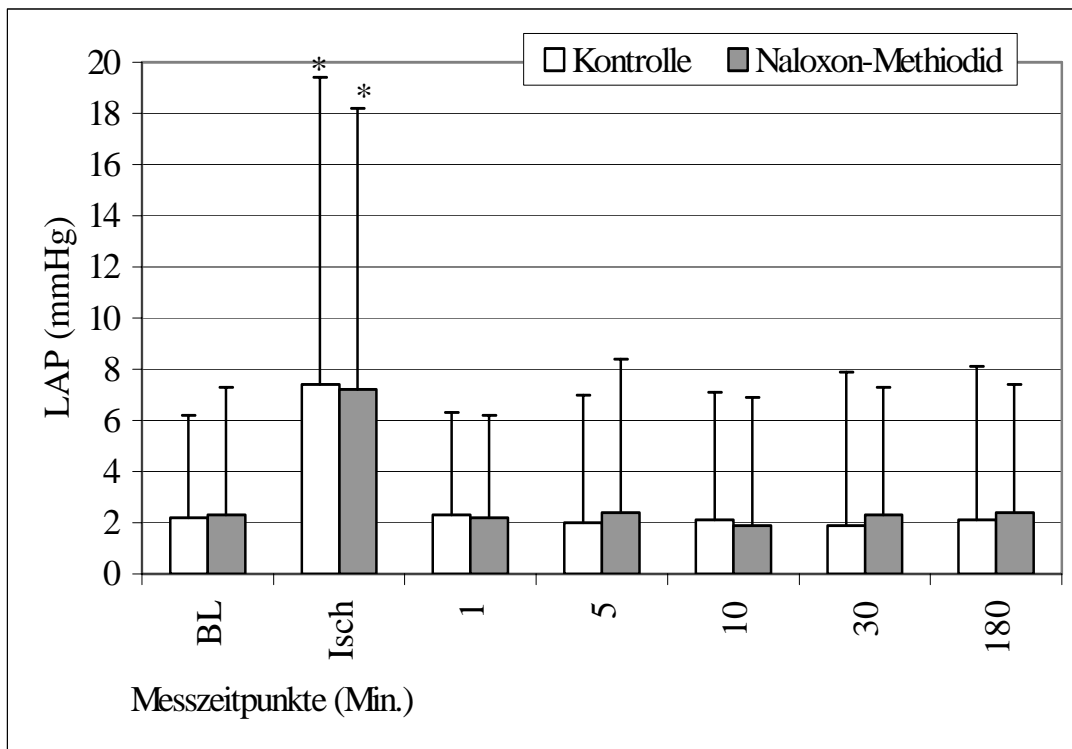
**Tabelle 2:** Übersicht über die hämodynamischen Werte ohne (Versuch 1 = Kontrolle) und mit (Versuch 2 = Naloxon-Methiodid) präischämischer Naloxon-Methiodid-Gabe unter Baselinebedingungen, in der Ischämie und in den ersten 180 Minuten nach Beginn der Reperfusion; \* = signifikant im Vergleich zur Ausgangsmessung (Baseline) (n=10)

<u>Variable</u>	<u>Versuchsreihe</u>	<u>Reperfusion</u>			
		360 Min.	720 Min.	1440 Min.	2280 Min.
<b>HR</b> (bpm)	<i>Kontrolle</i>	92 ± 38	94 ± 27	90 ± 23	91 ± 16
	Naloxon-Methiodid	90 ± 38	87 ± 22	91 ± 15	92 ± 15
<b>BFV LAD</b> (khz)	<i>Kontrolle</i>	6,6 ± 2,8	5,9 ± 4,1	5, 6 ± 8,5	5,7 ± 5,7
	Naloxon-Methiodid	6,2 ± 6,0	5,7 ± 5,4	5,5 * 2,5	6,0 ± 8,2

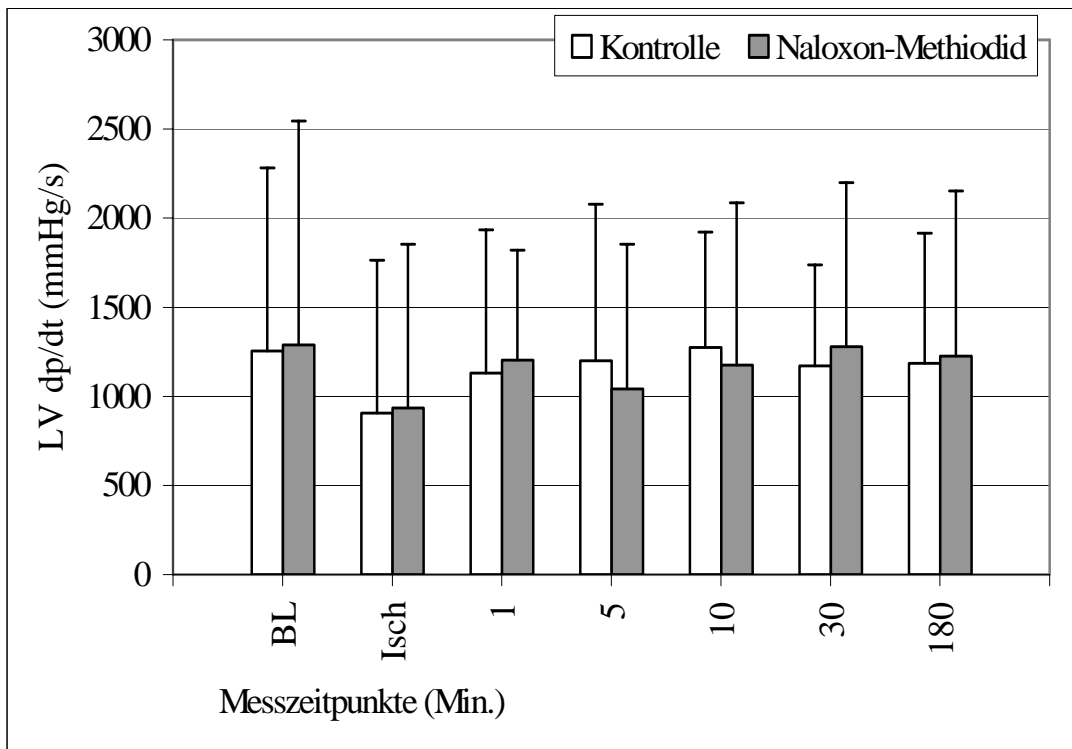
**Tabelle 3:** Übersicht über die hämodynamischen Werte ohne (Versuch 1 = Kontrolle) und mit (Versuch 2 = Naloxon-Methiodid) präischämischer Naloxon-Methiodid-Gabe zwischen 6 und 48 Stunden nach Beginn der Reperfusion (ab der 6. Stunde wurden nur noch Herzfrequenz und Blutfluss-geschwindigkeit der LAD bestimmt); \* = signifikant im Vergleich zur Ausgangsmessung (Baseline) (n=10)



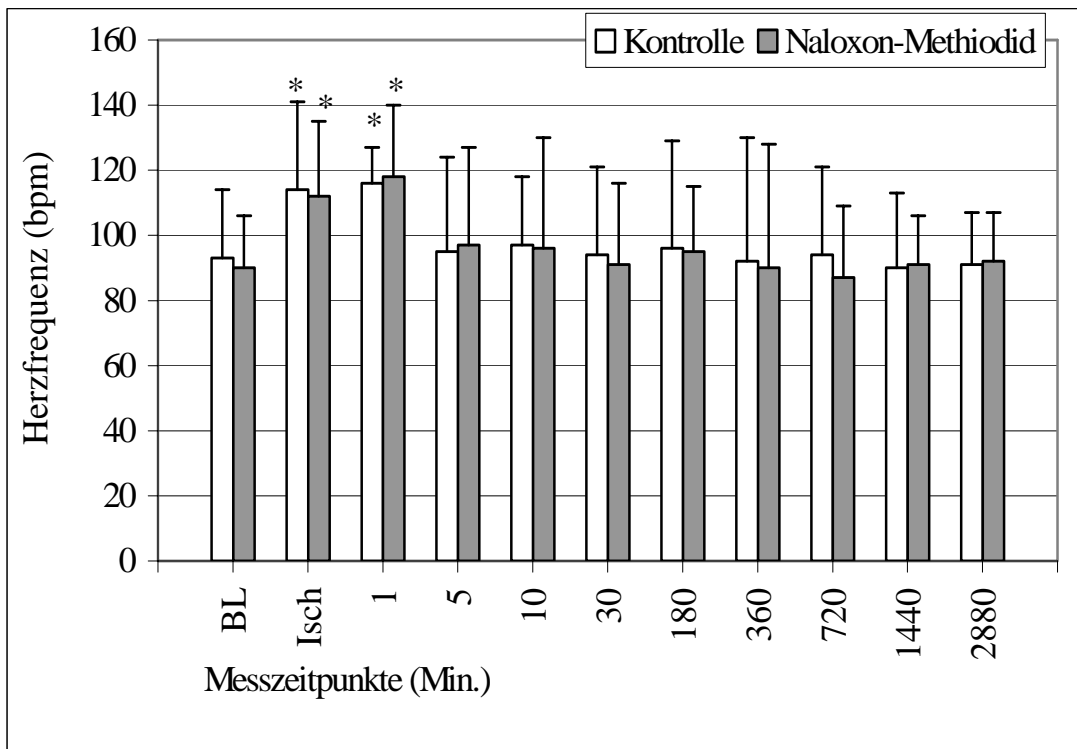
**Abbildung 5:** Verlauf des mittleren arteriellen Druckes (MAP) im Versuchsablauf für Versuch 1 (Kontrolle) und Versuch 2 (Naloxon-Methiodid) zu den jeweiligen Messzeitpunkten als Baseline (BL), während der Ischämie (Isch) und in der Reperfusionphase (n=10)



**Abbildung 6:** Verlauf des linksatrialen Druckes (LAP) im Versuchsablauf in beiden Versuchsreihen; \* = signifikant im Vergleich zur Ausgangsmessung (BL) (n=10)

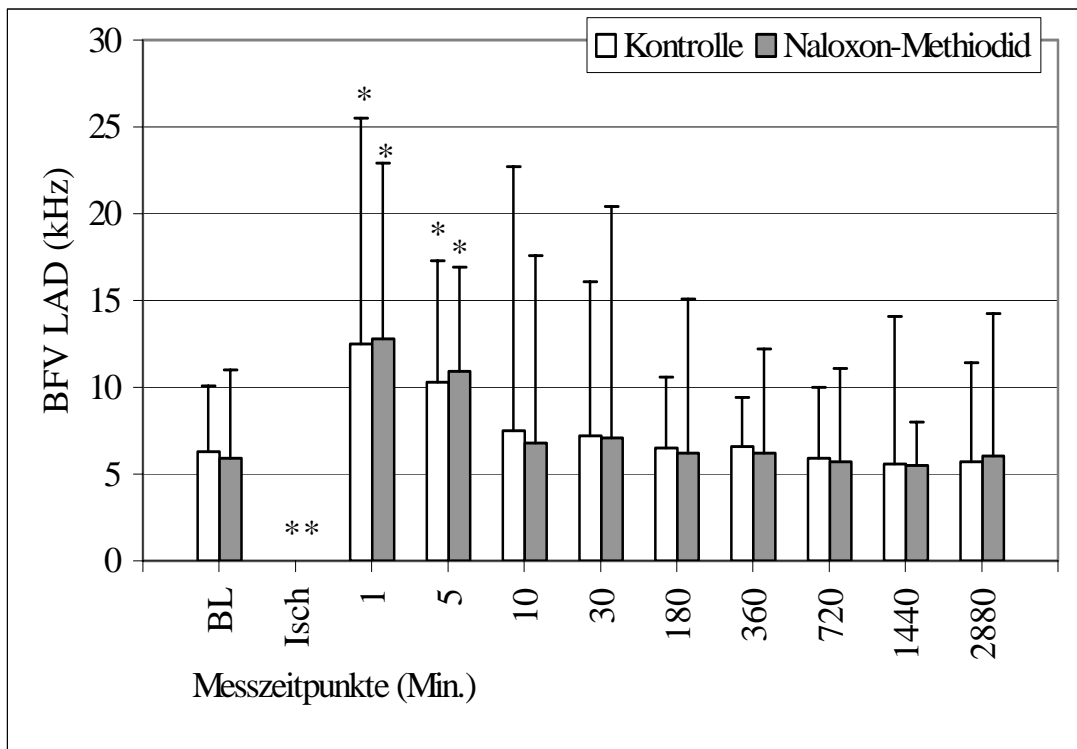


**Abbildung 7:** Verlauf der linksventrikulären Druckanstiegsgeschwindigkeit (LV dp/dt) im Versuchsablauf in beiden Versuchsreihen (n=10)



**Abbildung 8:** Verlauf der Herzfrequenz (HR) im Versuchsablauf in beiden Versuchsreihen; \* = signifikant im Vergleich zur Ausgangsmessung (BL) (n=10) )





**Abbildung 9:** Verlauf der Blutflussgeschwindigkeit (BFV LAD) im Versuchsablauf in beiden Versuchsreihen; \* = signifikant im Vergleich zur Ausgangsmessung (BL) (n=10)

### 3.2 Regionale Wanddickenveränderung

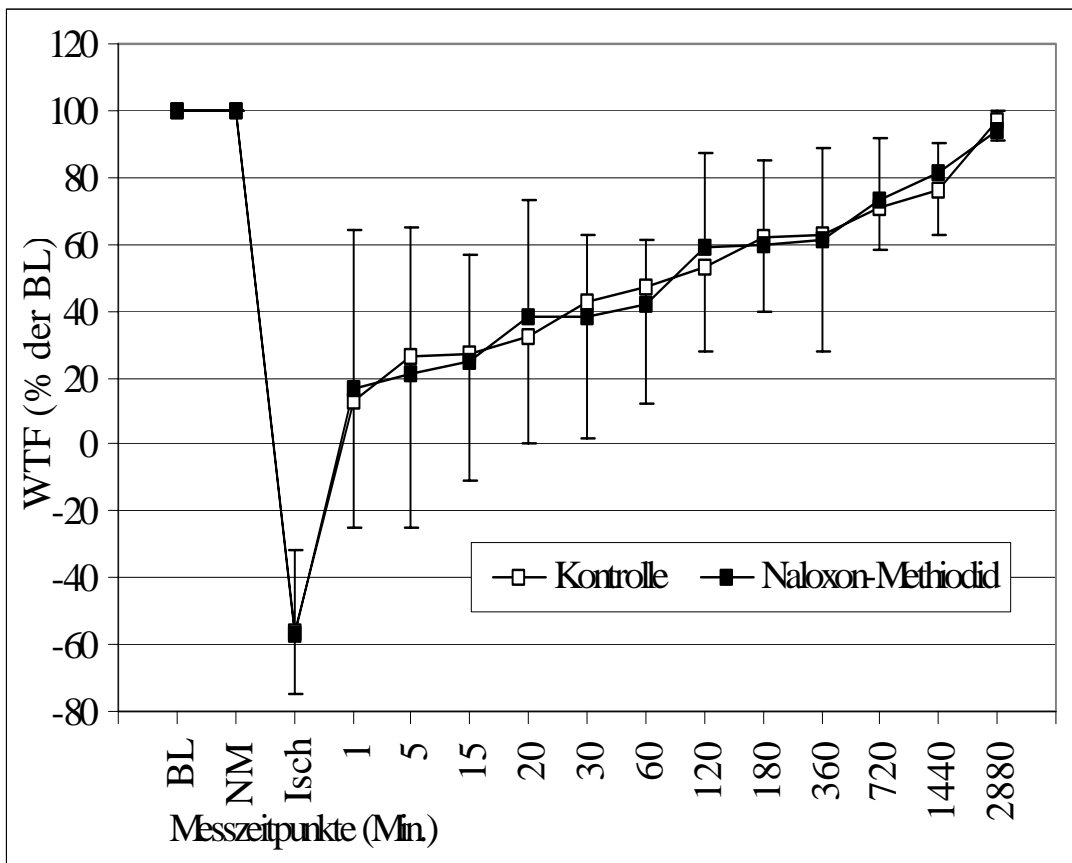
Die fraktionelle Wanddicke (WTF) wurde während der LAD-Ischämie in beiden Gruppen negativ. Sie sank während der Ischämie in der Kontrollgruppe auf  $-56 (\pm 19) \%$  und in der Naloxon-Methiodid-Gruppe auf  $-57 (\pm 25) \%$  ab; jeweils in Bezug auf den Ausgangswert (Baseline = BL). Die Reduktion der WTF während der Ischämie war also in beiden Gruppen gleich. In der Gruppe mit Naloxon-Methiodid-Vorbehandlung ließ sich im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Naloxon-Methiodid-Gabe keine schnellere Erholung der fraktionellen Wanddicke verzeichnen. Im Beobachtungszeitraum bis 72 Stunden nach Beginn der Reperfusion blieben die Werte in beiden Gruppen auf vergleichbar ansteigendem Niveau. Sowohl in der Naloxon-Methiodid-Gruppe als auch in der Kontrollgruppe wurden nach 72 Stunden Werte erreicht, die mit den Ausgangswerten (Baseline) vergleichbar waren (siehe Tabelle 4 und Abbildung 10).

	<u>Versuchsreihe</u>	<u>Baseline</u>	<u>NM-Gabe</u>	<u>Ischämie</u>	<u>Reperfusion</u>	
					1 Min.	5 Min.
<b>WTF in % des BL</b>	<i>Kontrolle</i>	100 ± 0	100 ± 0	- 56 ± 19	13 ± 38	26 ± 51
	Naloxon-Methiodid	100 ± 0	100 ± 0	-57 ± 25	17 ± 47	21 ± 44

	<u>Versuchsreihe</u>	<u>Reperfusion</u>				
		15 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.
<b>WTF in % des BL</b>	<i>Kontrolle</i>	27 ± 38	32 ± 32	43 ± 41	47 ± 35	53 ± 25
	Naloxon-Methiodid	25 ± 32	38 ± 35	38 ± 25	42 ± 19	59 ± 28

	<u>Versuchsreihe</u>	<u>Reperfusion</u>				
		180 Min.	360 Min.	720 Min.	1440 Min.	2880 Min.
<b>WTF in % des BL</b>	<i>Kontrolle</i>	62 ± 22	63 ± 35	71 ± 13	76 ± 13	97 ± 6
	Naloxon-Methiodid	60 ± 25	61 ± 28	73 ± 19	81 ± 9	94 ± 6

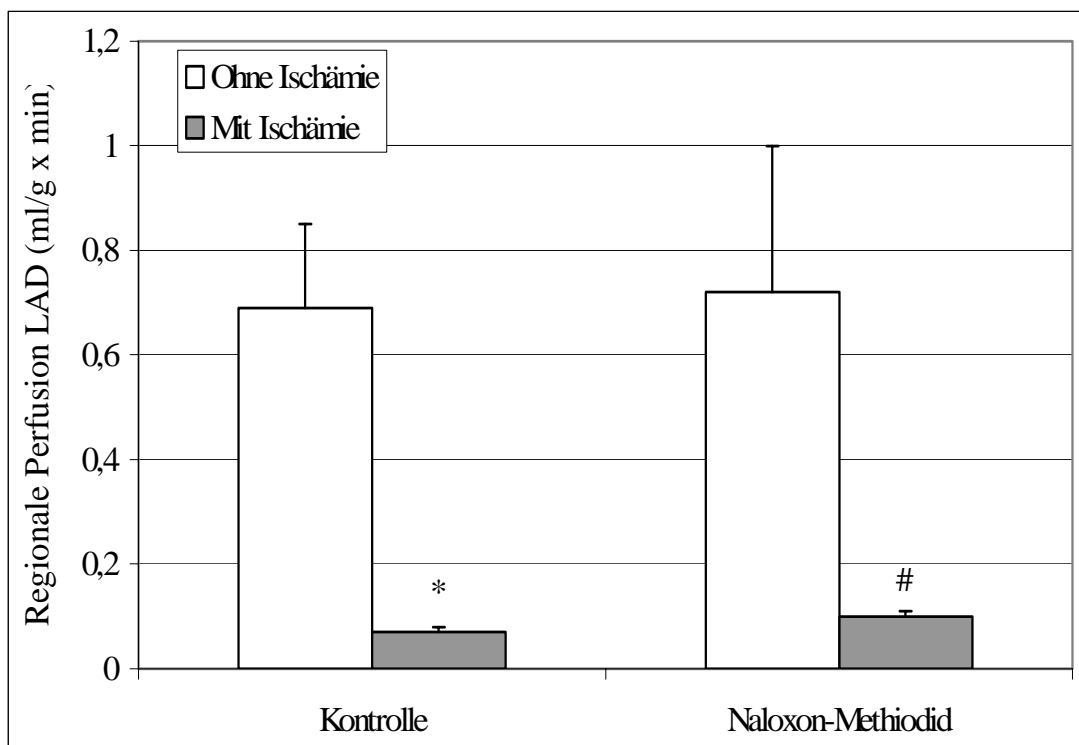
**Tabelle 4:** Übersicht über die Daten der fraktionellen myokardialen Wanddicke (WTF) im LAD-perfundierten Myokardareal in den Versuchsreihen ohne (Versuch 1= Kontrolle) und mit (Versuch 2= Naloxon-Methiodid) präischämischer Naloxon-Methiodid-Gabe, unter Baselinebedingungen, nach Gabe von Naloxon-Methiodid (NM-Gabe), während Ischämie und in der Reperusionsphase, angegeben in Prozent des Ausgangswertes (= Baseline, BL)



**Abbildung 10:** Verlauf der fraktionellen myokardialen Wanddicke (WTF) im LAD-perfundierten Myokardareal in den Versuchsreihen ohne (= Kontrolle) und mit (= Naloxon-Methiodid) präischämischer Naloxon-Methiodid-Gabe unter Baselinebedingungen (BL), nach Gabe von Naloxon-Methiodid (NM), während Ischämie (Isch) und in der Reperfusionsphase, angegeben in Prozent des Ausgangswertes (= Baseline, BL)

### 3.3 Regionaler myokardialer Blutfluss

Die regionale koronare Perfusion nahm während der Ischämie im Versorgungsbereich der LAD sowohl im Kontrollversuch als auch nach Intervention mit Naloxon-Methiodid ab. So sank der Blutfluss im subendokardialen Bereich im Kontrollexperiment ohne Naloxon-Methiodid-Vorbehandlung vom Ausgangswert (Baseline) 0,69 ( $\pm 0,16$ ) ml/g/min. auf 0,07 ( $\pm 0,01$ ) ml/g/min. Mit Naloxon-Methiodid Vorbehandlung erreichte der Blutfluss einen Ausgangswert von von 0,72 ( $\pm 0,28$ ) ml/g/min. Dieser Wert sank während der Ischämie auf 0,1 ( $\pm 0,01$ ) ml/g/min. (siehe Abbildung 11).



**Abbildung 11:** Vergleich der subendokardialen Perfusion im Bereich der LAD-Versorgung in beiden Versuchsreihen; \*: signifikant im Vergleich zur Kontrolle ohne Ischämie; #: signifikant im Vergleich zur Perfusion unter Naloxon-Methiodid ohne Ischämie (n=10)

## 4. Diskussion

### 4.1 Myokardiales Stunning

In der klinischen Medizin spielen die Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems und besonders die ischämischen Herzerkrankungen eine bedeutende Rolle. In den letzten Jahren konnte die Behandlung dieser Erkrankungen zunehmend verbessert werden. Neben der Identifikation von Risikofaktoren und einer Verbesserung der therapeutischen Möglichkeiten, wie zum Beispiel der Einsatz antianginös wirkender Substanzen, kommen dabei als invasive Verfahren die kardiologische interventionelle Therapie mit Hilfe des Herzkatheters und auch die koronarchirurgischen Bypass-Operationen zur Anwendung.

Das myokardiale Stunning wird in naher Zukunft einen immer größeren Stellenwert einnehmen. Dies liegt unter anderem in der zunehmenden Anzahl an älteren Patienten mit ischämischen Herzerkrankung begründet, bei denen nach jeder Intervention Reperfusionssphänomene am Myokard entstehen. Dabei ist es notwendig das Phänomen "myokardiales Stunning" klar zu definieren, um es somit von anderen postischämischen kontraktile Dysfunktionen abgrenzen zu können, die auf Faktoren wie zum Beispiel einer echten Myokardnekrose, einer persistierenden Ischämie wie sie beim "hibernating myocardium" besteht oder einer nichtischämischen Myokardverletzung beruhen.

Braunwald und Kloner definierten Stunning als "eine postischämische kontraktile Dysfunktion, die nach Wiederherstellung der Perfusion trotz fehlender irreversibler Zellschädigung und trotz eines normalen koronaren Blutflusses persistiert" (Braunwald et Kloner, 1982). Bei dieser Charakterisierung sind zwei Aspekte von zentraler Bedeutung: Erstens, die beschriebene Dysfunktion ist unabhängig von Schweregrad und Dauer vollständig reversibel und zweitens, nach Reperfusion bleibt trotz fehlender Einschränkung des koronaren Blutflusses diese Dysfunktion über einen gewissen Zeitraum bestehen. Es handelt sich also beim Stunning um einen

subletalen Myokardschaden, der deutlich von einem Myokardinfarkt abzugrenzen ist. Daten, die in Infarktmodellen gewonnen wurden, können deshalb nicht auf Stunningmodelle übertragen werden.

Seit der erstmaligen Beschreibung des myokardialen Stunning (Heyndrickx et al., 1975) sind zahlreiche Studien durchgeführt worden, um dieses Phänomen weiter zu charakterisieren. In diesen Studien ist deutlich geworden, dass „gestunntes“ Myokard als hypersensibles Myokard anzusehen ist. Dies bedeutet, dass Faktoren, die die kontraktile Funktion in normalem Myokard beeinflussen, einen größeren Effekt auf „gestunntes“ Myokard haben. Zu diesen Faktoren gehören u. a. die myokardiale Temperatur, die Größe des ischämischen Bereiches und hämodynamische Größen wie Herzfrequenz oder Vor- und Nachlast (Bolli et Marban., 1999; Vatner et Heyndricks 1995).

Den größten Einfluss auf den Schweregrad des myokardialen Stunning haben der Grad und die Dauer der vorhergehenden Ischämie, sowie die eventuell vorhandene Kollateralperfusion des ischämischen und dysfunktionellen Myokardareals. Obwohl es sich beim Stunning wohl um einen Reperfusionsschaden handelt, bei dem der Hauptteil der myokardialen Schädigung unmittelbar in den ersten Sekunden der Reperfusion stattfindet, ist die vorhergehende Ischämie die eigentliche Ursache. Die Ischämie initiiert das Geschehen und moduliert durch ihre Dauer das Ausmaß der auftretenden Störungen. Daraus folgt, dass jede Intervention, die den Schweregrad der Ischämie beeinflusst, auch den Schweregrad der daraus resultierenden myokardialen Dysfunktion verändert (Bolli et al., 1989, 1995; 1999).

Aufgrund der umfangreichen Anzahl der Studien seit der erstmaligen Beschreibung des myokardialen Stunning sind viele Hypothesen aufgestellt worden, um das Geschehen zu erklären. In Tabelle 5 ist eine kurze Übersicht über die aufgestellten Hypothesen zu sehen.

<b><u>Sehr wahrscheinliche Mechanismen:</u></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Oxyradikal-Hypothese (Entstehung reaktiver Sauerstoffradikale)</li> <li>• Kalzium-Hypothese: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Zelluläre Kalziumüberladung</li> <li>- Verringerte Ansprechbarkeit der Myofilamente auf Kalzium</li> </ul> </li> </ul>
<b><u>Weniger wahrscheinliche Mechanismen:</u></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Entkopplung von Exzitation und Kontraktion durch Dysfunktion des sarkoplasmatischen Retikulum</li> </ul>
<b><u>Weitere diskutierte Theorien:</u></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insuffiziente Energieproduktion der Mitochondrien</li> <li>• Störung des Energieverbrauchs der Myofibrillen</li> <li>• Störung der sympathikoadrenergen Ansprechbarkeit</li> <li>• Störung der myokardialen Perfusion</li> <li>• Beschädigung der extrazellulären Kollagenmatrix</li> <li>• Störung der Erregbarkeit</li> </ul>

***Tabelle 5: Mögliche Mechanismen des myokardialen Stunning (nach Bolli und Marban, 1999)***

Zwei dieser Theorien gelten als sehr wahrscheinliche Ursachen bezüglich der Pathogenese des myokardialen Stunning: Die sogenannte „Oxyradikal-Hypothese“ und die „Kalzium-Hypothese“. Es ist jedoch noch einmal anzumerken, dass diese Hypothesen sich gegenseitig nicht ausschließen. Vielmehr handelt es sich hier sehr wahrscheinlich um verschiedene Facetten des gleichen pathophysiologischen Prozesses (Bolli et Marban 1999). Im Folgenden sollen diese beiden Theorien kurz dargestellt werden.



### Die Oxyradikal-Hypothese

Reaktive und kurzlebige Sauerstoffradikale, wie beispielsweise das Superoxidanion ( $O_2^-$ ), das Hydroxylradikal ( $HO^\cdot$ ) und Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ), werden in der Ischämie und besonders in den ersten Minuten der Reperfusion schlagartig gebildet und können in zufälliger Weise mit zellulären Strukturen reagieren und diese unvorhersehbar schädigen (Bolli et Marban, 1999; Kloner et Jennings, 2001). Sekili et al. wiesen bei chronisch instrumentierten Hunden eine herausgehobene Rolle des Hydroxylradikals ( $HO^\cdot$ ) nach (Sekili et al., 1993).

Die ersten Hinweise auf die Rolle reaktiver Sauerstoffradikale im Rahmen des myokardialen Stunning ergaben sich aus der Beobachtung, dass nach Gabe von antioxidativ wirksamen Substanzen wie Superoxiddismutase (SOD) oder Katalase eine deutlich schnellere Erholung der ventrikulären Funktion in der Reperfusion zu verzeichnen war (Myers et al., 1985; Przyklenk et Kloner 1986). Ein direkter Nachweis der gesteigerten Produktion dieser Radikale gelang Bolli et al. am chronisch instrumentierten Hund. Es zeigte sich darüber hinaus, dass die Menge der entstehenden freien Sauerstoffradikale proportional zur Schwere der vorangegangenen Ischämie ist (Bolli et al 1988). Dieser Zusammenhang wurde auch für den Menschen nachgewiesen (Ferrari, 1990). Ebenso wurde nachgewiesen, dass der Hauptteil der gebildeten Radikale in den ersten fünf Minuten der Reperfusion entsteht. Ein positiver therapeutischer Effekt antioxidativ wirksamer Substanzen ist daher besonders in diesem Zeitraum zu erwarten (Bolli et al., 1989; Sekili et al., 1993).

### Die Kalzium-Hypothese

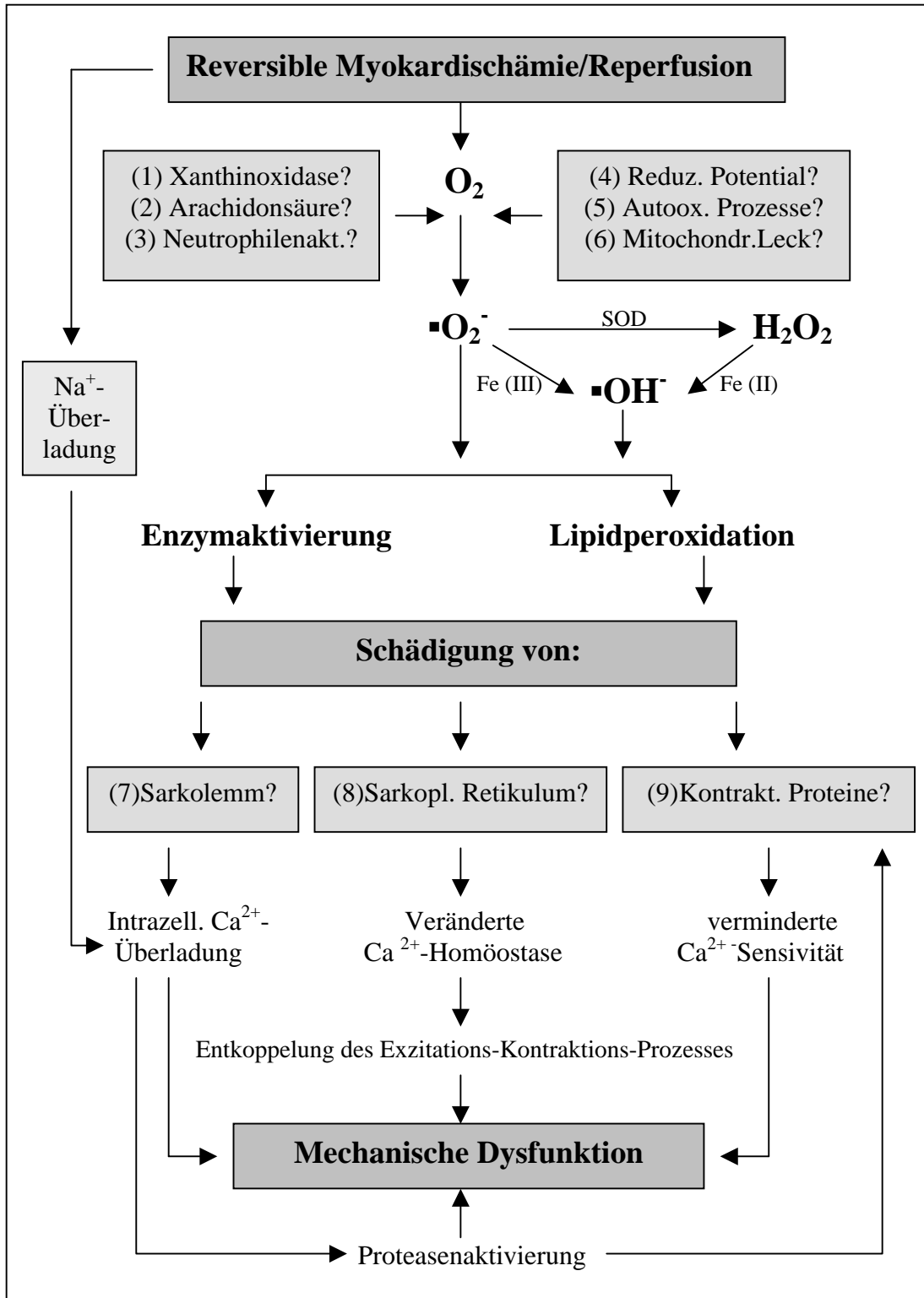
Aufgrund der biologischen Funktion bei der Kontraktion von Muskelzellen ist bei der Erforschung der Ursachen des Stunning eine genaue Betrachtung der Rolle des Kalzium ( $Ca^{2+}$ ) vorgenommen worden. Die hierbei entstandene sogenannte Kalzium-Hypothese umfasst drei verschiedene Mechanismen: eine verringerte Ansprechbarkeit der kontraktilen Proteine auf Kalzium,

zelluläre Kalziumüberladung und eine Entkopplung von Exzitation und Kontraktion durch Dysfunktion des sarkoplasmatischen Retikulum.

Im Rahmen der Untersuchungen stellte sich heraus, dass die Exzitation während myokardialen Stunning nicht beeinträchtigt ist; auch wurde kein verringerter intrazellulärer Kalziumspiegel, sondern eher eine zelluläre Kalziumüberladung gemessen. Daraus schloss man, dass die Ursache der myokardialen Dysfunktion eher im Bereich des kontraktiven Apparats zu finden ist. Auch die Tatsache, dass das postischämische Myokard auf inotrope Stimulation reagiert, bestätigt dies (Becker et al., 1986; Bolli et Marban, 1999; Ito et al., 1987).

Die intrazelluläre Kalziumüberladung steht im Zusammenhang mit einer erhöhten Aktivität von durch Kalzium aktivierten Proteasen. In-vitro-Studien zeigten eine besondere Aktivität dieser Proteasen zu den kontraktiven Proteinen Troponin I und Troponin T (Di Lisa et al., 1995). Exposition dieser Proteasen, den Calpainen, zu kardialen Myofilamenten erzeugte eine kardiale Dysfunktion, ähnlich dem Stunning (Gao et al., 1996). An dieser Zusammenstellung ist zu sehen, dass die Kalzium-Hypothese einzelne, sehr plausible Hinweise auf die Pathogenese des Stunning gibt. Eine ausreichende in-vivo-Testung der einzelnen Mechanismen liegt jedoch noch nicht vor.

Als Schlussfolgerung bleibt, dass die Pathogenese des myokardialen Stunning nicht sicher geklärt ist. Die Oxyradikal- und die Kalzium-Hypothese sind Faktoren, die zu dieser postischämischen kontraktiven Dysfunktion beitragen. Die einzelnen Interaktionen zwischen den Hypothesen müssen noch weiter untersucht werden und ihre Rolle im Hinblick auf das Stunning geklärt werden.



**Abbildung 12:** Zusammenfassende Darstellung der möglichen pathogenetischen und pathophysiologischen Grundlagen des myokardialen Stunning

Erläuterungen zum Schaubild:

Durch eine transitorisch reversible Ischämie und die nachfolgende Reperfusion wird eine gesteigerte Bildung reaktiver oxidativer Substanzen (Superoxidanion ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), Hydroxylradikal ( $\cdot\text{OH}$ )) induziert. Folgende Mechanismen kommen für die gesteigerte Oxyradikalproduktion in Frage:

- (1) Erhöhung der Xanthinoxidaseaktivität
- (2) Aktivierung der Arachidonsäurekaskade
- (3) Aktivierung von Neutrophilen
- (4) Akkumulation von reduzierenden Substanzen während der Hypoxie
- (5) Autooxidation von Katecholaminen und anderen Substanzen
- (6) Veränderung des intramitochondrialen Elektronentransportsystems mit erhöhter Sauerstoffreduktion

Die Superoxiddismutase (SOD) katalysiert die Bildung von Wasserstoffperoxid aus Sauerstoffradikalen. ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) und ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) reagieren mit Hilfe von katalytischem Eisen in einer Haber-Weiss-Reaktion zum Hydroxylradikal ( $\cdot\text{OH}$ ). Freie Radikale denaturieren Proteine mit der Folge von Enzyminaktivierungen und peroxidieren mehrfach gesättigte Fettsäuren in Zellmembranen. Resultat dieser Reaktionen ist zwar nicht der Zelltod, jedoch kommt es zur Störung der Membranpermeabilität und Dysfunktion wichtiger Zellorganellen (Hearse, 1991).

Die postulierten Zellorganellen der Schädigung sind:

- (7) das Sarkolemm mit der Folge des Verlustes der selektiven Permeabilität, sowie einer verminderten Aktivität der kalziumabhängigen ATPase mit konsekutiver Beeinträchtigung des Kalziumtransportes aus der Zelle (Kaneko et al., 1989)
- (8) das Sarkoplasmatische Retikulum mit der Folge einer Störung der Kalziumsequestration (Rowe et al., 1983)
- (9) die kontraktiellen Filamente mit der Folge geringerer Kalziumsensitivität.

*Gleichzeitig kann es nach Ischämie und Reperfusion zu einer zellulären Natriumüberladung durch Hemmung der sarkolemmalen Natrium-Kalium-ATPase (verursacht durch ATP-Mangel), sowie durch Azidose mit gesteigertem Natrium-Wasserstoffionen-Austausch kommen (Kim et al., 1987). Die Natriumüberladung verstärkt über gesteigerten Natrium-Kalzium-Austausch zusätzlich die bestehende Kalziumüberladung (Reeves et al., 1986; Kusuoka et al., 1993). Die Steigerung des intrazellulären Kalziums führt zur Aktivierung degenerativer Enzyme, wie Proteinkinasen, Phospholipasen und den besonders hervorzuhebenden kalzium-aktivierten Proteasen. Diese bewirken eine Proteolyse von Elementen des kontraktiven Apparates, wie etwa von Troponin I und  $\alpha$ -Aktinin, und die weitere Schädigung der genannten Zellorganellen (Gao et al., 1997). Die Steigerung des zytosolischen Kalziums mündet in einer Entkopplung von Exzitation und Kontraktion (Gao et al., 1996). Zusätzlich steigert die Kalziumüberladung durch vermehrte Konversion der Xanthindehydrogenase zu Xanthinoxidase selbst die Produktion freier Sauerstoffradikale.*

*Durch den oxidativen Stress wird die Ansprechbarkeit der Myofilamente auf Kalzium einerseits indirekt durch den intramyozytären Kalziumüberschuss herabgesetzt, andererseits direkt durch Modifikation kontraktiver Proteine, z.B durch Oxidierung ihrer Thiolgruppe beeinflusst (Suzuki et al., 1991).*

*Zusammenfassend sieht dieses Erklärungsmodell die Ursache des myokardialen Stunning also in einem Myofilamentschaden, der sowohl durch oxidativen Stress, als auch durch die intrazelluläre Kalziumüberladung begründet wird.*

*Die typische langsame aber auch vollständige Erholung beim myokardialen Stunning könnte auf einer Resynthese kontraktiver Proteine und/oder einer Reparatur des oxidativen Schadens beruhen (Kusuoka und Marban 1992).*

## **4.2 Das Versuchsmodell**

Das klassische Modell, an dem Stunning erstmalig am chronisch instrumentierten Hund beschrieben wurde, stammt von Heyndrickx et al. (Heyndrickx et al., 1975) und ist auch heute noch gültig (Bolli und Marban, 1999). Beim Hund entsteht demnach keine Myokardnekrose, wenn die ischämische Episode kürzer als 15 (bis evtl. 20) Minuten andauert (Jennings et al., 1983). In der Reperusionsphase kommt es regelhaft zu einer prolongierten Beeinträchtigung der kontraktiven myokardialen Funktion (Weiner et al., 1976; Heyndrickx et al., 1978), die im wachen Hund nach einer 15 minütigen Koronarokklusion durchschnittlich 24 Stunden andauert (Bolli et al., 1988).

Zusammenfassend kann myokardiales Stunning nach Braunwald und Kloner definiert werden, als eine kontraktile Dysfunktion, die nach Aufhebung der Ischämie andauert aber nach einem bestimmten Zeitintervall immer einen reversiblen Prozess darstellt (Braunwald und Kloner, 1982). In der hier vorliegenden Untersuchung wurde myokardiales Stunning im LAD-perfundierten Myokardareal durch eine 10 minütige LAD-Okklusion ausgelöst, um sicher zu gehen, dass auf keinen Fall zusätzlich eine Myokardnekrose induziert wird.

Myokardiales Stunning kann unter verschiedenen experimentellen Bedingungen untersucht werden. Es wurden im Laufe der Jahre zahlreiche Modifikationen des experimentellen Versuchsablaufes, sowie unterschiedliche Spezies verwendet (Bolli und Marban, 1999). Die jeweils für ein spezielles Setting getroffenen Aussagen können allerdings nicht generalisiert auf alle unterschiedlichen Versuchsansätze in gleichem Umfang übertragen werden, da die Versuchsbedingungen, wie beispielsweise die Dauer der Ischämie, zum Teil sehr von einander abweichen.

In den bisher in der medizinischen Forschung durchgeführten Studien variierten die Zeitdauer und Anzahl der koronaren Okklusionen. Es zeigte sich dabei, dass die Dauer der myokardialen Dysfunktion vor allem von der Zeitdauer der koronaren Okklusion abhängig ist und weniger von dem experimentellen Setting (Preuss et al., 1987). Jennings et al. fanden heraus, dass nach einer Ischämiedauer von 20 Minuten eine bis zu mehrere Stunden

andauernde myokardiale Dysfunktion zu beobachten ist. Nach einer Ischämiedauer zwischen 20 Minuten und drei Stunden kommt es zu subendokardialer Infarzierung bei noch vitalem subepikardialen Myokard. Im Extremfall kann die Erholung dieser subepikardialen Dysfunktion dann bis zu einigen Wochen dauern. Dabei ist es schwierig, den Einfluss verschiedener Therapieinterventionen einzuschätzen, da in der betroffenen Myokardregion eine Mischung aus infarziertem Subendokard und „gestunntem“ Subepikard mit variablem und nicht vorhersehbarem Anteil beider Gebiete vorliegt. Weitere Einflüsse entstehen in der weiteren Beobachtungszeit durch die einsetzende Narbenbildung (Jennings und Reimer, 1983). Da bei manchen Tieren auch schon nach 15-minütiger Koronarischämie mit einer Myokardnekrose zu rechnen ist und eine zehnmünütige Koronarischämie im Hund reproduzierbar ein reversible myokardiale Dysfunktion erzeugt, ohne eine Myokardnekrose zu bewirken, wurde diese Zeit für die Experimente in der vorliegenden Arbeit gewählt.

Neben dem in der vorliegenden Arbeit angewendeten Modell der chronisch Instrumentierung mit Hunden, existieren daneben viel häufiger zur Anwendung kommende Akutmodelle mit isolierten Herzen oder Herzmuskelzellen. Im Folgenden werden die Unterschiede der einzelnen Versuchsmodelle kurz erörtert und die Vor- und Nachteile näher diskutiert.

#### In-vitro-Untersuchungen:

Viele in-vitro-Untersuchungen zur Myokardperfusion und -funktion werden an Herzmuskelzellen oder isolierten und künstlich perfundierten Herzen in einer meist modifizierten Langendorff-Perfusionsapparatur durchgeführt. Es fehlen bei diesem Versuchsmodell die Auswirkungen der Interaktion des Herzens mit dem Kreislauf und den zentralen und humoralen Regulationsmechanismen. Diese sind überaus wichtig, da sie direkten Einfluss auf die Entstehung und Dauer des Stunning haben. Myokardiales Stunning ist ein Phänomen, das bei Patienten, bei denen das vegetative Nervensystem noch vorhanden ist, eine wichtige Rolle spielt. Isolierte Zellen

oder Organe erleichtern somit nicht die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen. Dies muss bei einer kritischen Auseinandersetzung mit dem jeweiligen Versuchsmodell beachtet werden. Ein intakter Organismus, auch von unterschiedlichen Spezies, eignet sich noch am besten zur Untersuchung solch komplexer Phänomene. Darüber hinaus muss damit gerechnet werden, dass bestimmte Faktoren wie beispielsweise die myokardiale Temperatur oder die Zusammensetzung der Perfusionslösung, die das Blut ersetzen soll, das Messergebnis beeinflussen (Bolli, 1990; Bolli und Marban, 1999).

#### In-vivo-Untersuchungen am akuten Tiermodell:

Wie bereits erwähnt können in den in-vitro-Untersuchungen die physiologische Parameter unter kontrollierten Bedingungen direkt gemessen werden, allerdings erlauben die Messergebnisse häufig keine Aussagen über die komplexen Interaktionen zwischen Herz, systemischer- und pulmonaler Blutzirkulation sowie zentralen und humoralen Reaktionsmechanismen (Merin, 1988). Die Interaktionen der einzelnen Bestandteile des gesamten Organismus werden daher besser in in-vivo-Experimenten erfasst und entsprechen eher einer klinischen Situation.

Das sogenannte "akute" Tiermodell sieht eine Implantation der benötigten hämodynamischen Meßsonden sowie die Versuchsdurchführung am geöffneten Thorax vor. Zwar sind im Vergleich zum "chronisch" instrumentierten Tiermodell diese Experimente personell und auch zeitlich gesehen weniger aufwändig, haben aber den entscheidenden Nachteil, dass die Auswirkungen der Narkose, der perioperative Hypothermie und des akuten chirurgischen Traumas auf das Herz- und Kreislaufsystem nicht ausgeschaltet werden können. Diese methodischen Probleme machen es schwierig, evtl. sogar unmöglich, die gemachten Beobachtungen bezüglich des myokardialen Stunning eindeutig der experimentellen Intervention zuzuordnen (Doursout und Chelly, 1988; Priebe, 1988; Triana et al., 1991).

#### In-vivo-Untersuchungen am chronischen Tiermodell:

Das in der vorliegenden Untersuchung angewendete Verfahren des



chronisch instrumentierten und wachen Hundes ist ein bereits etabliertes Modell für myokardiales Stunning. Während beim akuten Tierexperiment die genannten Stressoren die Ergebnisse bezüglich einer Übertragung auf eine klinische Situation verfälschen, sieht das chronische Modell eine ausreichende Zeitspanne zwischen operativer Instrumentierung und experimenteller Messung vor. Hier werden die Messungen dann an wachen und von dem chirurgischen Eingriff erholten Tieren durchgeführt. In den Messergebnissen wird so die physiologische Beeinflussung des Herzkreislaufsystems durch zentrale und humorale Regulationsmechanismen erfasst. Der Vergleich von biochemischen und hämodynamischen Daten zwischen narkotisierten, traumatisierten Hunden und wachen Hunde weist deutliche Unterschiede auf (Triana et al., 1991). Daher scheint das chronische Modell eher der pathophysiologischen Situation des Menschen zu entsprechen (Sekili et al., 1993).

Ein weiterer Vorteil, auch im Hinblick auf den Tierschutz, ergibt sich aus der Möglichkeit serielle Experimente mit dem chronisch instrumentierten Hundemodell durchführen zu können. Für die vorliegende Untersuchung bedeutet dies, dass nach der operativen Erholungsphase die Tiere über mehrere Wochen in hervorragendem klinischen Zustand gehalten werden können. So ist es möglich, dass jedes Tier als seine eigene Kontrollgruppe fungieren kann, wenn zwischen den Versuchen ein ausreichend langer Zeitintervall liegt. Dadurch gelingt es, die sonst statistisch relevante Gruppenvariabilität zu minimieren. Außerdem kann dadurch die Anzahl der erforderlichen Versuchstiere gegenüber dem akuten Tiermodell erheblich reduziert werden. Dennoch sollten nicht mehr als zwei regionale Ischämien pro Tier induziert werden, da es sonst zu einer ausgeprägten Ausbildung von koronaren Kollateralen kommt, die den Schweregrad und die Dauer des myokardialen Stunning während der Reperfusion beeinflussen würden (Bolli 1990; Bolli et al., 1988, 1995). Unabhängig davon könnte die Entstehung eines präkonditionierenden Effektes die Ergebnisse beeinflussen (Cohen et al., 1990; Bolli et al., 1995).

Die Nachteile der chronischen Instrumentierung liegen zum einen im

irreversiblen Informationsverlust bei Ausfall der implantierten Messsonden und Kathetern, zum anderen in dem hohen zeitlichen und personellen Aufwand, z.B. für die Pflege der Tiere begründet.

In der hier vorliegenden Untersuchung wurden die Versuche an chronisch instrumentierten, wachen Foxhounds durchgeführt, da sich diese Spezies besonders gut bewährt hat. Schon allein aufgrund der umfangreichen Instrumentierung ist man auf ein Großtiermodell angewiesen. Funktionelle Untersuchungen sind gerade beim Hund valide zu erheben, weil bei dieser Tierart, im Gegensatz zum Beispiel zum Schwein, eine ausgeprägte ischämieinduzierte Tachykardie fehlt. Außerdem eignen sich diese Tiere besonders, da sie nach der postoperativen Erholungsphase extrem gut für die nachfolgenden Untersuchungen trainiert werden können. So wurden die Tiere für diese Studie täglich für einige Zeit in den bei den Messungen verwendeten Käfigen untergebracht und an das Messsystem angeschlossen. Damit wird erreicht, daß die Tiere nach einer Gewöhnungsphase während der eigentlichen Versuchsdurchgänge ohne Einfluss von Sedativa ruhig liegen. Die Qualität der erhobenen Daten erhöht sich dadurch deutlich, weil Anästhetika und Sedativa Einfluss auf das kardiovaskuläre System nehmen (Vatner et al., 1971).

Erfahrungsgemäß muß bei chronisch instrumentierten Hunden dieser Art mit einer Ausfallquote von bis zu 10 Prozent durch technische Defekte, sowie durch die Zerstörung von Leitungen durch die wachen Tiere und durch postoperative Infektionen gerechnet werden. Eine Poweranalyse zeigt, daß eine Anzahl von 10 auswertbaren Tieren erforderlich ist, um statistisch aussagekräftige Daten zu erhalten. In dieser Untersuchung wurden deshalb pro Versuchsreihe zehn Hunde instrumentiert, wobei anzumerken ist, dass jedes Tier in allen Versuchsreihen valide und auswertbare Messergebnisse lieferte.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass das Modell der chronisch instrumentierten Hunde an der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. van Aken) seit August 1995 etabliert ist. Dieses Setting hat sich zur Untersuchung des

myokardialen Stunning bereits vielfach bewährt und bietet als in-vivo-Modell den Vorteil einer Beobachtung der Interaktionen zwischen Herz, Kreislauf und den zentralen und humoralen Regulationsmechanismen. Es entspricht somit am ehesten der klinischen Situation. Allerdings müssen erst noch weitere klinische Studien am Menschen bestätigen, ob die Beobachtungen, die im Rahmen der Grundlagenforschung gemacht werden, auch auf den Menschen übertragbar sind.

#### **4.3 Einfluss von Naloxon-Methiodid auf myokardiales Stunning**

In der vorliegenden Arbeit konnte der Nachweis erbracht werden, dass die intravenöse, präischämische Gabe von nichtliquorgängigem Naloxon-Methiodid keinen Einfluss auf die Dauer und den Schweregrad von myokardialen Stunning im wachen, chronisch instrumentierten Hund hat.

In einer Studie die Weber et al. ebenfalls an chronisch instrumentierten Hunden durchführte, wurde die Wirkung von liquorgängigem Naloxon auf myokardiales Stunning untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die präischämische Gabe von Naloxon zu einer Reduktion des Schweregrades von myokardialem Stunning in der Reperfusionsphase und damit auch zu einer Verbesserung der ischämischen und postischämischen linksventrikulären Funktion beiträgt (Weber et al., 2001).

Naloxon und Naloxon-Methiodid sind beides unspezifische Opioidrezeptorantagonisten, die an allen bisher bekannten Opioidrezeptortypen wirken. Beide Wirkstoffe heben durch einen kompetitiven Antagonismus die Wirkungen zugeführter Opiate, sowie der EOP vollständig auf. Im Unterschied zu Naloxon-Methiodid, kann Naloxon aufgrund seiner liquorgängigkeit neben den peripheren auch die zentralen Opioidrezeptoren antagonisieren. In der vorliegenden Untersuchung zeigte Naloxon-Methiodid, welches nur peripher wirkt, keinerlei Effekte auf myokardiales Stunning. Die beschriebenen protektiven Effekt von Naloxon sind daher vor allem zentral vermittelt.

Im Folgenden sollen die Wirkung der EOP und deren Regulationsmechanismen anhand der aktuellen Datenlage diskutiert werden.

#### **4.3.1 Einflüsse des endogenen Opioidsystems auf Myokardischämien**

EOP sind die endogenen Liganden der Opioidrezeptoren, von denen verschiedene Subtypen definiert wurden. Im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen wurde eine erhöhte Aktivität der EOP nachgewiesen, beispielsweise bei ischämischen Herzerkrankungen (Chen et al., 1995; Oldroyd et al., 1992; Paradis et al., 1992; Parlapiano et al., 1998), manifester

Herzinsuffizienz (Imai et al., 1994) und verschiedenen Schockformen (Holaday, 1983; Holaday et al., 1978, 1981). Zusätzlich wurden in mehreren Studien negativ inotrope Wirkungen der EOP auf das Myokard nachgewiesen (Ventura et al., 1992; Xiao et al., 1997).

In der hier vorgelegten Untersuchung wurden die EOP-Plasmaspiegel nicht bestimmt. Es gibt bislang auch keine Untersuchung in der die Plasmakonzentrationen der EOP unter myokardialem Stunning bestimmt wurden. Allerdings wurden in den oben genannten Arbeiten erhöhte EOP-Plasmakonzentrationen unter einer Myokardischämie nachgewiesen. Die beschriebenen Effekte der EOP stammen in der überwiegenden Anzahl durch den Einsatz von Opioidrezeptorblockern, so dass die meisten Wirkungen der einzelnen EOP letztendlich indirekt nachgewiesen wurden. Eine Aktivierung des endogenen Opioidsystems im Rahmen myokardialer Ischämien und wahrscheinlich auch in der postischämischen Phase ist daher zumindest sehr wahrscheinlich, da sonst die Wirkungen der Opioidrezeptorblocker nicht zu erklären wären. Der genaue Pathomechanismus ist derzeit jedoch noch weitestgehend unklar. Allerdings liegt die Vermutung nahe, dass diese Aktivierung eine Art Stressreaktion des Organismus darstellt.

Da Naloxon die Wirkung der endogenen Opioidpeptide aufhebt, werden somit auch die negativ inotropen Effekte der EOP antagonisiert. Naloxon hatte in der von Weber et al. durchgeführten Versuchsreihe unter Ausgangs- oder Ruhebedingungen keine Auswirkungen auf die myokardiale Funktion. Vielmehr trat ein Unterschied zwischen den Gruppen mit, bzw. ohne Naloxonvorbehandlung erst nach Induktion der Myokardischämie auf (Weber et al., 2001 b). Anhand dieser Beobachtung erscheint eine nicht durch Opioidrezeptoren vermittelte Eigenwirkung von Naloxon, die in einigen Studien beschrieben wurde (Asai et al., 1999; Sagy et al., 1987) unwahrscheinlich, zumindest im chronisch instrumentierten wachen Hund. Aber auch in anderen Studien wurde gezeigt, dass Naloxon in normaler Dosierung bei normotensiven und hypertensiven Patienten zu keiner Veränderung der Herzfrequenz, des arteriellen Blutdruckes und der

Plasmaspiegel von Katecholaminen führte (Estilo und Cottrell, 1982). In einer weiteren Studie ist darüber hinaus eine Eigenwirkung von Naloxon auf das Herz-Kreislaufsystem bei Gesunden erst bei extrem hohen Dosen nachgewiesen worden, die nicht mit den hier verwendeten Dosierungen vergleichbar sind. Naloxon bewirkte in dieser extrem hohen Dosierung eine Art Entzugssyndrom, was in der Regel nur Patienten nach chronischer Opiatzufuhr entwickeln (Cohen et al., 1982). Ob die beschriebenen Effekte durch eine zentrale Eigenwirkung von Naloxon oder durch antagonistische Effekte basal ausgeschütteter EOP verursacht wurden, ist daher nicht eindeutig zu klären. Letztendlich ist bei den verwendeten relativ niedrigen Dosierungen, aufgrund der aktuellen Datenlage, eine intrinsische Wirkung sehr unwahrscheinlich.

Welche EOP genau diese negativen inotropen Effekte vermitteln ist allerdings noch unklar. In einigen Studien konnte der Nachweis erbracht werden, dass über den  $\delta$ -Rezeptor protektive (Schultz et al., 1997) und über den  $\kappa$ -Rezeptor negativ inotrope Wirkungen auf das ischämische Myokard vermittelt werden (Aitchison et al., 2000; Lee et al., 1992). Hieraus ergibt sich eine Therapiemöglichkeit für das myokardiale Stunning, denn selektive Blockade der  $\kappa$ -Rezeptoren, gegebenenfalls mit einer zusätzlichen  $\delta$ -Rezeptorstimulation kombiniert, könnte einen positiven Effekt auf die Pumpfunktion nicht nur im Tierexperiment, sondern auch beim Menschen bewirken. Es wurden bisher im Tierversuch keine  $\mu$ -Rezeptoren im Myokard nachgewiesen (Wittert et al., 1995; Zimlichman et al., 1996). In einer neueren Arbeit an isolierten humanen, atrialen Kariomyozyten wurden ebenfalls keine  $\mu$ -Rezeptor nachgewiesen (Hanouz et al., 2001). Da dieser Rezeptortyp bei Einsatz spezifischer Agonisten bzw. Antagonisten weitestgehend unbesetzt bleibt, ist eine effektive Schmerzbekämpfung weiterhin problemlos möglich. Die klinisch angewendeten Opiate sind hauptsächlich  $\mu$ -Rezeptoragonisten. Sie werden demnach nicht durch  $\kappa$ -Rezeptorblockade in ihrer Wirkung beeinflusst. Die genauere Aufschlüsselung der einzelnen

rezeptorvermittelten Wirkungen im Rahmen eines möglichen therapeutischen Einsatzes im Menschen bleibt allerdings zukünftigen Studien vorbehalten.

#### **4.3.2 Periphere und zentrale Einflüsse endogener Opioidpeptide auf das Myokard ohne Ischämie**

In den bisher vorliegenden Untersuchungen konnten Opioidrezeptoren sowohl zentral, als auch peripher in den einzelnen Organen nachgewiesen werden. Welche Wirkungen in der jeweiligen klinischen Situation überwiegen ist allerdings bisher nur unzureichend bei den verschiedenen Spezies entschlüsselt worden.

Endogene Opioide und ihre spezifischen Rezeptoren finden sich zentral u.a. in der Hypophyse, dem Hypothalamus selbst, dem zentralen Höhlengrau, dem Nucleus amygdalae, den Raphekernen, dem limbischen System, dem ventralen und dorsalen Horn des Rückenmarks und in den sympathischen Ganglien. Opioidrezeptoren konnten in der Peripherie unter anderem in den Nebennieren, dem Herz und dem Gastrointestinaltrakt nachgewiesen werden.

Um abschließend weitere Aussagen darüber machen zu können, ob es sich bei den untersuchten Effekten des EOP-Systems um zentral- oder periphervermittelte Prozesse handelt, sollen nun nachfolgend die Ergebnisse der bereits vorhandenen experimentellen Studien genauer betrachtet werden, die an intakten Tiermodellen (4.3.2.1), an isolierten Organpräparaten (4.3.2.2) oder an isolierten Kardiomyozyten (4.3.2.3) erhoben wurden.

##### **4.3.2.1 Untersuchungen an intakten Tiermodellen**

Deutliche Hinweise für eine zentralvermittelte Wirkung der EOP lassen sich sowohl aus Untersuchungen an intakten Tieren als auch anhand klinischer Studien ableiten. In unmittelbarer Nähe zu den zentralen Kontrollzentren des

kardiovaskulären Systems befinden sich die Opioidrezeptoren des Hirnstammes und des Hypothalamus. In Stresssituationen werden  $\beta$ -Endorphine und ACTH aus der Hypophyse freigesetzt (Guillemin et al., 1977; Weber et al., 1978). Bei hypovolämischen Ratten konnte durch intracerebroventrikuläre Naloxoninjektion eine starke Anhebung des arteriellen Blutdrucks erreicht werden. Wurden die Ratten zuvor hypophysektomiert, blieb dieser Blutdruckanstieg aus, was die Bedeutung der hypophysären Endorphine für die kardiovaskuläre Regulation unterstreicht (Holaday et al., 1981).

Sakamoto konnte eine zentralvermittelte regulierende Wirkung des EOP-Systems auf die Hämodynamik bei experimentell erzeugter Rechtsherzinsuffizienz am Hund nachweisen. Nach Gabe des liquorgängigen Naloxon wurde ein Anstieg des MAP, des kardialen Auswurfvolumens, der LV dp/dt (d.h. die linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit pro Zeit), der Plasmakatecholaminspiegel und des regionalen Blutflusses im Myokard, sowie eine Erhöhung der Sensivität des Baroreflexes beobachtet.

Diese Effekte ließen sich nach Applikation von Naloxon-Methobromid, das ebenfalls wie das in der hier vorliegenden Arbeit angewandte Naloxon-Methiodid nicht liquorgängig ist und somit keine zentralen Rezeptoren antagonisieren kann, nicht auslösen (Sakamoto et al., 1989). Es konnte ebenfalls an herzinsuffizienten Hunden gezeigt werden, dass eine Blockade von Katecholaminrezeptoren den positiven Effekt von Opiatantagonisten verhindern kann (Liang et al., 1987). Daraus wurde abgeleitet, dass das aktivierte EOP-System den Effekten des aktivierten Sympathikus modulierend entgegenwirkt.

Dieser zentrale Einfluss konnte weiterhin beim hämorrhagischen Schock und beim sepsisähnlichen Endotoxinschock nachgewiesen werden (Holaday et al., 1983, 1980; Janssen, 1983). Die Hypophyse, bzw. das zentrale Nervensystem, spielt dabei eine Schlüsselrolle, da die ventrikulozisternale Gabe von Naloxon zu einer deutlichen Verbesserung der Schocksymptomatik führte, und zwar in Dosierungen, die bei



peripherenvenöser Applikation keine Effekte auslösen konnte (Janssen et al., 1980; Sandor et al., 1987).

#### **4.3.2.2 Untersuchungen an isolierten Organpräparaten**

Für einen peripher vermittelten Vorgang, als direkten Effekt endogener Opiode auf das Herz, sprechen sowohl der Nachweis von kardialen Opioidrezeptoren als auch kardialer EOP im Myokardmuskelpräparat (Barron et al., 1992; Dumont et al., 1988). Der myokardiale EOP-Gehalt variiert zwischen Artrium und Ventrikel, sowie zwischen den unterschiedlichen Spezies. Die Aktivität der EOP unterliegt verschiedenen physiologischen und pathophysiologischen Regulationsvorgängen, wie beispielsweise einer durch den Alterungsprozess bedingten Erhöhung kardialer Enkephalin- und Proenkephalin-Konzentrationen, sowie veränderten Konzentrationen bei arterieller Hypertension, bei Kardiomyopathien und beim Myokardinfarkt (Paradis et al., 1992; Barron, 1999).

Es gibt außerdem Untersuchungen in denen die EOP-Rezeptoren an isolierten Organpräparationen antagonisiert wurden. So konnte beispielsweise am isolierten Herz-Lunge-Präparat durch die Applikation des Opioidrezeptorantagonisten Naloxon eine gesteigerte myokardiale Antwort auf  $\beta$ -adrenerge Stimulation induziert werden (Caffrey et al., 1986).

Da diese Untersuchungen aber alle ausschließlich an einzelnen peripheren Organen durchgeführt wurden, lassen sich allenfalls Rückschlüsse auf den Rezeptor- und Ligandenstatus in dem jeweiligen Organpräparat ziehen. Aussagen über klinisch relevante, interagierende Regelkreise im Gesamtorganismus können aber aufgrund der fehlenden Berücksichtigung von humoralen Regulationsvorgängen oder zentraler Steuerungsvorgängen nicht getroffen werden.

#### **4.3.2.3 Untersuchungen an isolierten Kardiomyozyten**

Mehrere experimentelle Untersuchungen an isolierten Kardiomyozyten lieferten Hinweise auf eine durch Opioidpeptide, wie beispielsweise

Leucinenkephalin, peripher vermittelte Kardiodepression. (Ventura et al., 1992; Xiao et al., 1997).

Der wesentliche Erklärungsansatz für peripher vermittelte Opioideffekte besteht möglicherweise darin, dass Kardiomyozyten durch die EOP-Synthese ihre eigene neuronale Regulation über ein neuroendokrines Feedbacksystem steuern. In isolierten Herzmuskelzellen konnte nach adrenerger Stimulation eine gesteigerte cAMP-Konzentration, bei gleichzeitiger Stimulation der EOP-Produktion, durch Neurotransmitter nachgewiesen werden (Springhorn et al., 1992). Gleichzeitig werden EOP und  $\beta$ -adrenerge Substanzen wie Noradrenalin bei Sympathikusstimulation aus terminalen Nervenendigungen im Myokard freigesetzt. Man nimmt an, dass Opiode durch ihre Bindung an präsynaptische inhibitorische Opioidrezeptoren adrenerger oder vagaler Nervenendigungen eine weitere Neurotransmitterfreisetzung hemmen. Andererseits gibt es eine G-Protein gekoppelte inhibitorische Signalübertragung zwischen  $\delta$ -Opioidrezeptor und  $\beta_1$ -adrenergem Rezeptor, die durch Naloxon antagonisiert werden kann (Pepe et al., 1997; Xiao et al., 1997). Diese Erkenntnisse geben Hinweise darauf, dass auf kardialer Ebene unter physiologischen Bedingungen durch die EOP ein protektiver negativer Feedbackmechanismus besteht (Barron, 1999). Weitere Untersuchungen zeigten nach adrenerger Stimulation eine Zunahme der Anzahl und der Affinität kardialer Opioidrezeptoren (Ventura et al., 1989).

Zu den hier aufgeführten Untersuchungen ist einschränkend zu bemerken, dass die komplexen Interaktionen zwischen Herz, pulmonalvaskulärem und systemischem Kreislauf, sowie dem ZNS wiederum nicht berücksichtigt werden. Das vegetativen Nervensystem, sowie die zentralen hypothalamischen und hypophysären Neuronensystemen interagieren allerdings bei jeder Reaktion des Organismus auf eine regionale myokardiale Ischämie miteinander. Desweiteren können Studien an isolierten Präparaten zwar Hinweise für eine direkte, periphervermittelte Regulation des endogenen Opioidsystems liefern, sie können damit aber zentralvermittelte

Vorgänge nicht sicher ausschließen oder gar im Zusammenhang darstellen. Um dies einer genaueren Analyse unterziehen zu können, ist daher eine Untersuchung an chronisch instrumentierten und möglichst wachen Spezies zu bevorzugen, wie sie in der hier vorliegenden Arbeit durchgeführt wurde. Die Ergebnisse der in 4.3.2.1 beschriebenen experimentellen Untersuchungen, und die Ergebnisse der hier vorgestellten Arbeit, bei der die Applikation des ausschließlich peripher wirkenden Naloxon-Methiodid zu keiner signifikanten Änderung der hämodynamischen Messwerte und der WFT führten, unterstützen die Hypothese, dass die zentralen Effekte des endogenen Opioidsystems überwiegen.

#### 4.4 Zusammenfassung

In der hier vorliegenden Untersuchung an chronisch instrumentierten, wachen Hunden konnte gezeigt werden, dass die intravenöse Gabe des nichtliquorgängigen, ausschließlich peripher wirkenden Naloxon-Methiodid keinen Einfluss auf den Schweregrad des myokardialen Stunning bewirkt, d.h. weder während der Ischämie noch in der Reperfusionsphase war eine Veränderung der hämodynamischen Messwerte, der linksventrikulären Funktion (abzuleiten aus LV dp/dt) und der regionalen Myokardfunktion zu verzeichnen. Vergleicht man diese Ergebnisse mit der Untersuchung von Weber et al. (Weber et al., 2001) in der Naloxon die Erholung von myokardialen Stunning deutlich beschleunigte, so lassen sich in Bezug auf das endogene Opioidsystem folgende Thesen aufstellen:

- Das rein peripher wirksame Naloxon-Methiodid hat keinen Einfluss auf die Hämodynamik und die linksventrikuläre systolische und diastolische Funktion des Hundemyokards unter Ruhebedingungen.
- Naloxon-Methiodid hat ebenfalls keinen Einfluss auf die Hämodynamik und die linksventrikuläre systolische und diastolische Funktion unter regionaler Myokardischämie, im Gegensatz zu früheren Ergebnissen mit Naloxon.
- Naloxon-Methiodid hat außerdem, wiederum im Gegensatz zu Naloxon, keinen Einfluss auf die postischämische kontraktile Dysfunktion und die linksventrikuläre systolische und diastolische postischämische Funktion, d.h. das myokardiale Stunning bleibt unbeeinflusst.

Da das nichtliquorgängige Naloxon-methiodid in niedriger präischämischer Bolusgabe von 63µg/kg, im Gegensatz zu Naloxon, keinen Effekt auf das ischämische und postischämische Myokard hat, ist davon auszugehen dass die beschriebenen protektiven Effekte von Naloxon durch einen zentral-vermittelten Mechanismus bewirkt werden.

#### 4.5 Schlussfolgerung und Ausblick

Myokardiales Stunning als eine Form der postischämischen myokardialen Dysfunktion, neben Hibernation oder der infarktbedingten myokardialen kontraktile Dysfunktion, spielt eine wichtige Rolle nicht nur in der perioperativen Phase kardialer Risikopatienten oder bei kardiochirurgischen Eingriffen. Auch rein internistische Patienten mit kardialem Risikoprofil entwickeln myokardiales Stunning, insbesondere bei kardiologischen interventionellen Therapiemaßnahmen, wie beispielsweise bei der steigenden Zahl an Herzkatheterintervention mit und ohne Stentimplantation. Myokardiales Stunning ist für die betroffenen Patienten eine bedeutsame Einflussgröße bezüglich ihrer Morbidität und Mortalität. Von entscheidender Bedeutung werden in Zukunft weitere wissenschaftliche Untersuchungen sein, die zur Klärung des Pathomechanismus des Phänomens Stunning selbst und der Einflüsse körpereigener endogener Opioidpeptide beitragen, da diese Substanzen offensichtlich die Ausprägung dieser Kontraktilitätsstörung modulieren (Bolli et Marban, 1999). Möglicherweise lassen sich durch die gezielte Blockade einzelner Opioidrezeptorsubtypen neue Ansätze für die Prävention und die Therapie von myokardialem Stunning und damit gleichermaßen der Folgen ischämischer Herzerkrankungen etablieren. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass die unerwünschten Effekte auf das Myokard aufgrund der aktuellen Datenlage nicht durch  $\mu$ -Opioidrezeptoren vermittelt werden, wie im chronisch instrumentierten, rechtsherzinsuffizienten Hund nachgewiesen werden konnte. Die analgetische Wirkung der im Rahmen von Anästhesie, Intensiv- und Notfallmedizin eingesetzten Opioide werden vorwiegend über diesen  $\mu$ -Opioidrezeptor vermittelt. Dies ermöglicht eine gezielte Therapie mit  $\mu$ -Opioidrezeptoragonisten und bedeutet, dass diese bereits bewährte Therapieform unbeeinflusst bleibt und trotzdem andere potentiell schädliche endogene Opioidpeptide durch die Blockade anderer Rezeptortypen nicht geblockt werden können.

In zukünftigen Untersuchungen muss allerdings eine weitere Differenzierung der rezeptorvermittelten Wirkmechanismen der EOP auf die jeweiligen Organe und Organsysteme entschlüsselt und die Übertragbarkeit tierexperimenteller Daten auf den Menschen überprüft werden. Dies ist die Voraussetzung, um eine gezielte Therapie mit spezifischen Opioidrezeptor - Ago- und Antagonisten beim Patienten etablieren zu können.

## Literaturverzeichnis

1. Aitchison KA, Baxter GF, Awan MM, Smith RM, Yellon DM, Opie LH (2000) Opposing effects on infarction of delta and kappa opioid receptor activation in the isolated rat heart: implications for ischemic preconditioning. *Basic Res Cardiol* 95:1-10
2. Akins CW, Pohost GM, Desanctis RW, Block PC (1980) Selection of angina-free patients with severe left ventricular dysfunction for myocardial revascularization. *Am J Cardiol* 46:695-700
3. Ambrosio G, Betocchi S, Pace L, Losi MA, Perrone-Filardi P, Sorichelli A, Piscione F, Taube J, Squame F, Salvatore M, Weiss JL, Chiariello M (1996) Prolonged impairment of regional contractile function after resolution of exercise-induced angina. Evidence of myocardial stunning in patients with coronary artery disease. *Circulation* 94:2455-64
4. Asai T, Power I (1999) Naloxone inhibits gastric emptying in the rat. *Anesth Analg* 88:204-8
5. Barron BA, Gu H, Gaugl JF, Caffrey JL (1992) Screening for opioids in dog heart. *J Mol Cell Card* 24: 67-77
6. Barron BA (1999) Opioid peptides and the heart. *Cardiovasc Res* 43:13-6
7. Becker LC, Levine JH, DiPaula AF, Guarnieri T, Aversano T (1986) Reversal of dysfunction in postischemic stunned myocardium by epinephrine and postextrasystolic potentiation. *J Am Coll Cardiol* 7:580-9

8. Bolli R (1990) Mechanism of myocardial stunning. *Circulation* 82:723-38
9. Bolli R (1992) Myocardial Stunning in Man. *Circulation* 86:1671-91
10. Bolli R (1995) Common methodological problems and artifacts associated with studies of myocardial stunning in vivo. *Basic Res Cardiol* 90:257-60
11. Bolli R (1998) Why myocardial stunning is clinically important. *Basic Res Cardiol* 93:169-72
12. Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS, Aruoma OI, Halliwell B, Lai EK, McCay PB (1989) Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion. Evidence that myocardial stunning' is a manifestation of reperfusion injury. *Circ Res* 65:607-22
13. Bolli R, Marban E (1999) Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiol Rev* 79:609-34
14. Bolli R, Patel BS, Jeroudi MO, Lai EK, McCay PB (1988) Demonstration of free radical generation in stunned myocardium of intact dogs with the use of the spin trap  $\alpha$ -Phenyl N-Tert-Butyl Nitron. *J Clin Invest* 82:476-85
15. Bolli R, Zhu WX, Thornby JI, O'Neill PG (1988) Time course and determinants of recovery of function after reversible ischemia in conscious dogs. *Am J Physiol* 254:H102-14



16. Bolli R, Zughaib M, Li XY, Tang XL, Sun JZ, Triana JF, McCay PB (1995) Recurrent ischemia in the canine heart causes recurrent bursts of free radical production that have a cumulative effect on contractile function: A pathophysiological basis for chronic myocardial stunning. *J Clin Invest* 96:1066-84
17. Bolling SF, Badhwar V, Schwartz CF, Oeltgen PR, Kilgore K, Su TP (2001) Opioids confer myocardial tolerance to ischemia: Interaction of delta opioid agonists and antagonists. *J Thorac Cardiovasc Surg* 122:476-81
18. Braunwald E, Kloner RA (1982) The Stunned Myocardium: Prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 66:1146-9
19. Buda AJ, Zotz RJ, Gallagher KP (1986) Characterization of the functional border zone around regionally ischemic myocardium using circumferential flow-function maps. *J Am Coll Cardiol* 8:150-8
20. Caffrey JL, Gaugl JF, Jones CE (1985) Local endogenous opiate activity in dog myocardium: receptor blockade with naloxone. *Am J Physiol* 248:H382-8
21. Caffrey JL, Wollbridge CB, Gaugl JF (1986) Naloxone enhances the myocardial responses to isoproterenol in the dog isolated heart-lung. *Am J Physiol* 250: H749-H754
22. Champion HC, Zadina JE, Kastin AJ, Hackler L, Ge LJ, Kadowitz PJ (1997) Endomorphin 1 and 2, endogenous ligands for the  $\mu$ -opioid receptor, decrease cardiac output, and total peripheral resistance in the rat. *Peptides* 18:1393-7

23. Chen YT, Lin CJ, Lee AY (1995) Plasma levels of endogenous opioid peptides in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Heart J* 36:421-7
24. Chen YT, Lin CJ, Lee AY, Chen JS, Hwang D (1995) Stereospecific blocking effects of naloxone against hemodynamic compromise and ventricular dysfunction due to myocardial ischemia and reperfusion. *Int J Cardiol* 50:125-9
25. Cohen MR, Cohen RM, Pickar D, Murphy DL, Bunney WE Jr (1982) Physiological effects of high dose naloxone administration to normal adults. *Life Sci* 30:2025-31
26. Cohen MV, Downey JM (1990) Myocardial stunning in dogs: Preconditioning effect and influence of coronary collateral flow. *Am Heart J* 120:282-91
27. Czaplak MA, Champion HC, Zadina JE, Kastin AJ, Hackler L, Ge LJ, Kadowitz PJ (1998) Endomorphin 1 and 2, endogenous  $\mu$ -opioid agonists, decrease systemic arterial pressure in the rat. *Life Sci* 62:PL175-9
28. De Simonie MG, De Luigi A, Gemma L, Sironi M, Manfredi A, Ghezzi P (1993) Modulation of systemic interleukin-6 induction by central interleukin-1. *Am J Physiol* 265: 739-742
29. Dhawan BN, Cesselin F, Raghubir R, Reisine T, Bradley PB, Portoghese PS, Hamon M (1996) International Union of Pharmacology. XII. Classification of Opioid Receptors. *Pharmacol Rev* 48:567-92

30. Di Lisa F, De Tullio R, Salamino F, Barbato R, Melloni E, Siliprandi N, Schiaffino S, Pontremoli S (1995) Specific degradation of troponin T and I by  $\mu$ -calpain and its modulation by substrate phosphorylation. *Biochem J* 308:57-61
31. Domenech RJ, Hoffman JI, Noble MI, Saunders KB, Henson JR, Subijanto S (1969) Total and regional coronary blood flow measured by radioactive microspheres in conscious and anesthetized dogs. *Circ Res* 25:581-96
32. Doursout MF, Chelly JE (1988) Effects of basal anaesthesia on cardiac function. *Br J Anaesth* 60:119S-122S
33. Dumont M, Lemaire S (1988) Increased content of immunoreactive Leu-enkephalin and alteration of  $\delta$ -opioid receptor in hearts of spontaneously hypertensive rats. *Neurosci Lett* 94: 114-118
34. Estilo AE, Cottrell JE (1982) Hemodynamic and catecholamine changes after administration of naloxone. *Anesth Analg* 61:349-53
35. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL (1998) *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 14th edition, McGraw-Hill
36. Ferrari R (1990) The role of free radicals in ischaemic myocardium. *Br J Clin Pract* 44:301-5
37. Flameng W, Suy R, Schwarz F, Borgers M, Piessens J, Thone F, Van Ermen H, De Geest H (1981) Ultrastructural correlates of left ventricular contraction abnormalities in patients with chronic ischemic heart disease: Determinants of reversible segmental asynergy postrevascularization surgery. *Am Heart J* 102:846-57

38. Gao WD, Liu Y, Mellgren R, Marban E (1996) Intrinsic myofilament alterations underlying the decreased contractility of stunned myocardium. A consequence of  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent proteolysis? *Circ Res* 78:455-65
39. Gao WD, Atar D, Liu Y, Perez NG, Murphy AM, Marban E (1997) Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned myocardium. *Circ Res* 80: 393-399
40. Guillemin R, Vargo T, Rossier J, Minick S, Ling N, River C, Vale W, Bloom F (1977)  $\beta$ -Endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland. *Science* 197: 1367-1369
41. Hakkinen JP, Miller MW, Smith AH, Knight DR (1995) Measurement of organ blood flow with coloured microspheres in the rat. *Cardiovasc Res* 29:74-9
42. Hanouz JL, Yvon A, Guesne G, Eustratiades C, Babatasi G, Rouet R, Ducouret P, Khayat A, Bricard H, Gerald JL (2001) The in vivo effects of remifentanil, sufentanil, fentanyl and afentanil on isolated human right atria. *Anesth Analg* 93: 543-549
43. Hartley CJ, Hanley HG, Lewis RM, Cole JS (1978) Synchronized pulsed doppler blood flow and ultrasonic dimension measurement in conscious dogs. *Ultrasound Med Biol* 4:99-110
44. Hartley CJ, Latson LA, Michael LH, Seidel CL, Lewis RM, Entman ML (1983) Doppler measurement of myocardial thickening with a single epicardial transducer. *Am J Physiol* 245, H1066-72
45. Hearse DJ (1991) Stunning a radical review. *Cardiovasc Drugs Ther* 5: 853-876

46. Heymann MA, Payne BD, Hoffman JI, Rudolph AM (1977) Blood flow measurement with radionuklide-labeled particles. *Prog Cardiovasc Dis* 20:55-79
47. Heyndrickx GR, Baig H, Nellens P, Leusen I, Fishbein MC, Vatner SF (1978) Depression of regional blood flow and wall thickening after brief coronary occlusions. *Am J Physiol* 234:H653-9
48. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF (1975) Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 56:978-85
49. Holaday JW (1983) Cardiovascular consequences of endogenous opiate antagonism. *Biochem Pharmacol* 32:573-83
50. Holaday JW, Faden AI (1978) Naloxone reversal of endotoxin hypotension suggests role of endorphins in shock. *Nature* 275:450-1
51. Holaday JW, Faden AI (1980) Naloxone acts at central opiate receptors to reverse hypotension, hypothermia and hypoventilation in spinal shock. *Brain Res* 189:295-9
52. Holaday JW, O'Hara M, Faden AI (1981) Hypophysectomy alters cardiorespiratory variables: central effects of pituitary endorphins in shock. *Am J Physiol* 241:H479-85
53. Huang XD, Lee AYS, Wong TM, Zhn CY, Zhao YY (1986) Naloxone inhibits arrhythmias induced by coronary artery occlusion and reperfusion in anesthetized dogs. *Br J Pharmacol* 87:475-7

54. Imai N, Kashiki M, Woolf PD, Liang CS (1994) Comparison of cardiovascular effects of  $\mu$ - and  $\delta$ -opioid receptor antagonists in dogs with congestive heart failure. *Am J Physiol* 267:H912-7
55. Ito BR, Tate H, Kobayashi M, Schaper W (1987) Reversibly injured, postischemic canine myocardium retains normal contractile reserve. *Circ Res* 61:834-46
56. James MK, Vuong A, Grizzle MK, Schuster SV, Shaffer JE (1992) Hemodynamic effects of GI 87084B, an ultra-short acting mu-opioid Analgesic, in Anesthetized Dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 263:84-91
57. Janssen HF, Lutherer LO (1980) Ventriculocisternal administration of naloxon protects against severe hypotension during endotoxin shock. *Brain Res* 194: 608-12
58. Janssen HF (1983) Studies on a central site of action for naloxone in endotoxin shock. *Adv Shock Res* 10: 73-81
59. Jennings RB, Reimer KA (1983) Factors involved in salvaging ischemic myocardium: effect of reperfusion of arterial blood. *Circulation* 68:125-36
60. Kaneko M, Beamish RE, Dhalla NS (1989) Depression of heart sarcolemmal  $Ca^{2+}$ -pump activity by oxygen free radicals. *Am J Physiol* 256: H368-H374
61. Kato R, Foex P (2000) Fentanyl reduces infarction but not stunning via  $\delta$ -opioid receptors and protein kinase C in rats. *Br J Anaesth* 84:608-14

62. Kim MS, Akera T (1987) O<sub>2</sub> free radicals: cause of ischemia-reperfusion injury to cardiac Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase. *Am J Physiol* 252: H252-H257
63. Kloner RA, Jennings RB (2001) Consequences of brief ischemia: Stunning, Preconditioning, and their clinical implications, part 1. *Circulation* 104:2981-9
64. Kowallik P, Schulz R, Guth BD, Schade A, Paffhausen W, Gross R, Heusch G (1991) Measurement of regional myocardial blood flow with multiple colored microspheres. *Circulation* 83:974-82
65. Kusuoka H, Marban K (1992) Cellular mechanisms of myocardial stunning. *Annu Rev Physiol* 54: 243-56
66. Kusuoka H, Camilion de Hurato MC, Marban E (1993) Role of sodium/calcium exchange in the mechanism of myocardial stunning: protective effect of reperfusion with high sodium solution. *J Am Coll Cardiol* 21: 240-48
67. Lee AY, Chen YT, Kan MN, P'eng FK, Chai CY, Kuo JS (1992) Consequences of opiate agonist and antagonist in myocardial ischaemia suggest a role of endogenous opioid peptides in ischaemic heart disease. *Cardiovasc Res* 26:392-5
68. Liang CS, Imai N, Stone CK, Wolf PD, Kawashima S, Tuttle RR (1987) The role of endogenous opioids in congestive heart failure: effects of nalmeferene on systemic and regional hemodynamics in dogs. *Circulation* 75: 443-451

69. Lishmanov YB, Maslov LN, Naryzhnaya NV, Tam SW (1999) Ligands for opioid and  $\sigma$ -receptors improve cardiac electrical stability in rat models of post-infarction cardiosclerosis and stress. *Life Sci* 65:PL13-7
70. Mayfield KP, D'Alecy LG (1994) Delta-1 opioid agonist acutely increases hypoxic tolerance. *J Pharmacol Exp Ther* 268:683-8
71. Merin RG (1988) The isolated heart preparation. *Br J Anaesth* 60: 28 S
72. Meunier JC, Mollereau C, Toll L, Suaudeau C, Moisand C, Alvinerie P, Butour JL, Guillemot JC, Ferrara P, Monsarrat B, Mazarguil H, Vassart G, Parmentier M, Costentin J (1995) Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1-receptor. *Nature* 377:532-5
73. Milne RJ, Coddington JM, Gamble GD (1990) Quaternary naloxone blocks morphine analgesia in spinal but not intact rats. *Neurosci Lett* 114: 259-64
74. Mutschler E (2001) *Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 8. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
75. Myers ML, Bolli R, Lekich RF, Hartley CJ, Roberts R (1985) Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free-radical scavengers after reversible regional ischemia. *Circulation* 72:915-21
76. Nixon JV, Brown CN, Smitherman TC (1982) Identification of transient and persistent segmental wall motion abnormalities in patients with unstable angina by two-dimensional echocardiography. *Circulation* 65:1497-502



77. Oldroyd KG, Harvey K, Gray CE, Beastall GH, Cobbe SM (1992)  $\beta$  Endorphin release in patients after spontaneous and provoked acute myocardial ischaemia. *Br Heart J* 67:230-5
78. Oldroyd KG, Gray CE, Carter R, Harvey K, Borland W, Beastall G, Cobbe SM (1995) Activation and inhibition of the endogenous opioid system in human heart failure. *Br Heart J* 73:41-8
79. Paradis P, Dumont M, Belchiard P, Rouleau JL, Lemaire S, Brakier-Gingras L (1992) Increased preproenkephalin a gene expression in the rat heart after induction of a myocardial infarction. *Biochem Cell Biol* 70:593-8
80. Parlapiano C, Negri M, Tonnarini G, Borgia MC, Martuscelli E, Nigri A, Campana E, Giovaniello T, Pantone P (1998) Coronary sinus plasma beta endorphin levels in cardioischemic patients undergoing PTCA. *J Med* 29:339-42
81. Pepe S, Xiao RP, Hohl C, Altschuld R, Lakatta EG (1997) "Cross talk" between opioid peptide and adrenergic receptor signaling in isolated rat heart. *Circulation* 95: 2122-29
82. Preuss KC, Gross GJ, Brooks HL, Wartier DC (1987) Time course of recovery of "stunned" myocardium following variable periods of ischemia in conscious and anesthetized dogs. *Am Heart J* 114:696-703
83. Priebe HJ (1988) The acute open-chest model. *Br J Anaesth* 60:38S-41S

84. Przyklenk K, Kloner RA (1986) Superoxide dismutase plus catalase improve contractile function in the canine model of the "stunned myocardium". *Circ Res* 58:148-56
85. Rahimtoola SH (1985) A perspective on the three large multicenter randomized clinical trials of coronary bypass surgery for chronic stable angina. *Circulation* 72:V123-35
86. Rahimtoola SH (1989) The hibernating myocardium. *Am Heart J* 117:211-21
87. Reeves JP, Bailey CA, Hale CC (1986) Redox modification of sodium-calcium exchange activity in cardiac sarcolemmal vesicles. *J Biol Chem* 261: 4948-55
88. Rowe GT, Manson NH, Caplan M, Hess ML (1983) Hydrogen peroxide and hydroxyl mediation of activated leukocyte depression of cardiac sarcoplasmic reticulum. Participation of the cyclooxygenase pathway. *Circ Res* 53: 584-91
89. Rudolph AM, Heymann MA (1967) The Circulation of the Fetus in Utero. Methods for studying distribution of blood flow, cardiac output and organ blood flow. *Circ Res* 21:163-84
90. Sagy M, Shavit G, Oron Y, Vidne BA, Gitter S, Sarne Y (1987) Nonopiate effect of naloxone on cardiac muscle contractility. *J Cardiovasc Pharmacol* 9:682-5
91. Sakamoto S, Stone CK, Woolf PD, Liang CS (1989) Opiate receptor antagonism in right-sided congestive heart failure. Naloxone exerts salutary hemodynamic effects through its actions on the central nervous system. *Circ Res* 65:103-14

92. Sandor P, de Jong W, Wiegant V, de Wied D (1987) central opioid mechanisms and cardiovascular control in hemorrhagic hypotension. *Am J Physiol* 253: H507-511
93. Schultz JJ, Hsu AK, Gross GJ (1997) Ischemic preconditioning and morphine-induced cardioprotection involve the delta ( $\delta$ )-opioid receptor in the intact rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 29:2187-95
94. Schultz JJ, Hsu AK, Gross GJ (1998) Ischemic preconditioning in the intact rat heart is mediated by  $\delta$ 1- but not  $\mu$ - or  $\kappa$ -opioid Rreceptors. *Circulation* 97:1282-9
95. Sekili S, McCay PB, Li XY, Zughuib M, Sun JZ, Tang L, Thornby JI, Bolli R (1993) Direct evidence that the hydroxyl radical plays a pathogenetic role in myocardial stunning in the conscious dog and demonstration that stunning can be markedly attenuated without subsequent adverse effects. *Circ Res* 73:705-23
96. Sharma AC, Sam AD, Alden KJ, Moore SL, Law WR, Ferguson JL (2000) Central versus peripheral mediation of naloxons perfusion's effects in endotoxic rats. *Shock* 14: 441-6
97. Shanes JG, Kondos GT, Levitsky S, Pavel D, Subramanian R, Brundage BH (1985) Coronary artery obstruction: A potentially reversible cause of dilated cardiomyopathy. *Am Heart J* 110:173-8
98. Sheps DS, Hinderliter A, Bragdon EE, Adams KF, Herbst MC, Koch G (1988) Endorphins and pain perception in silent myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 61:3F-6F

99. Smet F, D'Aubioul J, van Gerven W, Xhonneux R, Reneman RS (1979) A chronically implantable catheter-tip micromanometer (JSI 0400) that can be calibrated after implantation. *Cardiovasc Res* 13:601-5
100. Springhorn JP, Claycomb WC (1992) Translation of heart preproenkephalin mRNA and secretion of enkephalin peptides from cultured cardiac myocytes. *Am J Physiol* 263: H1560-H1566
101. Statistisches Bundesamt (2002) Statistisches Jahrbuch für die Bundesrepublik Deutschland. Metzler-Poeschel Verlag, Stuttgart
102. Suzuki S, Kaneko M, Chapman DC, Dhalla NS (1991) Alterationen in cardiac contractile proteins due oxygen free radicals. *Biochim Biophys Acta* 1074: 95-100
103. Triana JF, Li XY, Jamaluddin U, Thornby JI, Bolli R (1991) Postischemic myocardial stunning. Identification of major differences between the open-chest and the conscious dog and evaluation of the oxygen radical hypothesis in the conscious dog. *Circ Res* 69:731-47
104. Vatner SF, Franklin D, Braunwald E (1971) Effekts of anesthesia and sleep on circulatory response to carotid sinus nerve stimulation. *Am J Physiol* 220: 1249-1255
105. Vatner SF, Heyndrickx GR (1995) Ubiquity of myocardial stunning. *Basic Res Cardiol* 90:253-6
106. Ventura C, Bastagli L, Bernardi P, Caldarera CM, Guarnieri C (1989) Opioid receptors in rat cardiac sarcolemma: effect of phenylephrine and isoproterenol. *Biochim Biophys Acta* 987:69-74

107. Ventura C, Spurgeon H, Lakatta EG, Guarnieri C, Capogrossi MC (1992)  $\kappa$  and  $\delta$  opioid receptor stimulation affects cardiac myocyte function and  $\text{Ca}^{2+}$ -release from an intracellular pool in myocytes and neurons. *Circ Res* 70:66-81
108. Waldmann LK, Fung YC, Covell JW (1985) Transmural myocardial deformation in the canine left ventricle. Normal in vivo three-dimensional finite strains. *Circ Res* 57:152-63
109. Weber E, Voight KH, Martin R (1978) Concomitant storage of ACTH and endorphin like immunoreactivity in the secretory granules of anterior pituitary corticotrophs. *Brain Res* 157: 385-390
110. Weber TP, Stypmann J, Meißner A, Große-Hartlage M, Van Aken H, Rolf N (2001) Naloxone improves functional recovery of myocardial stunning in conscious dogs through its action on the central nervous system. *Br J Anaesth* 86:545-9
111. Weiner JM, Apstein CS, Arthur JA, Pirzada FA, Hood WB (1976) Persistence of myocardial injury following brief periods of coronary occlusion. *Cardiovasc Res* 10: 678-86
112. Wieland W, Wouters PF, Van Aken H, Flameng W (1993) Measurement of organ blood flow with coloured microspheres: A first time-saving improvement using automated spectrophotometry. *Comput Cardiol* 1993:691-4
113. Wilhelm JA, Veng-Petersen P, Zakszenski TB, Osfchin E, Waters JL (1995) Duration of opioid antagonism by nalmefene and naloxone in the dog. A nonparametric pharmacodynamic comparison based on generalized crossvalidated spline estimation. *Int J Clin Pharmacol Ther* 33: 540-45

114. Wittert G, Hope P, Pyle D (1995) Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat. *Biochem Biophys Res Comm* 218:877-81
115. Wong TM, Lee AYS, Tai KK (1990) Effects of drugs interacting with opioid receptors during normal perfusion or ischemia and reperfusion in the isolated rat heart - an attempt to identify cardiac opioid receptor subtype(s) involved in arrhythmogenesis. *J Mol Cell Cardiol* 22:1167-75
116. Wu JP, Chen YT, Lee AY (1993) Opioids in myocardial ischaemia: potentiating effects of dynorphin on ischaemic arrhythmia, bradycardia and cardiogenic shock following coronary artery occlusion in the rat. *Eur Heart J* 14:1273-7
117. Xiao RP, Pepe S, Spurgeon HA, Capogrossi MC, Lakatta EG (1997) Opioid peptide receptor stimulation reverses  $\beta$ -adrenergic effects in rat heart cells. *Am J Physiol* 272:H797-805
118. Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ (1997) A potent and selective endogenous agonist for the  $\mu$ -opiate receptor. *Nature* 386:499-502
119. Zhu WX, Myers ML, Hartley CJ, Roberts R, Bolli R (1986) Validation of a single crystal for measurement of transmural and epicardial thickening. *Am J Physiol* 251:H1045-55
120. Zimlichman R, Gefel D, Eliahou H, Matas Z, Rosen B, Gass S, Ela C, Eilam Y, Vogel Z, Barg J (1996) Expression of opioid receptors during heart ontogeny in normotensive and hypertensive rats. *Circulation* 93:1020-5

## **Lebenslauf**

### **Persönliche Daten:**

Name: Frank Strothmann  
 Geburtsdatum/ -ort: 8. Mai 1970 in Halle (Westfalen)  
 Eltern: Heinrich und Erika Strothmann, geb. Diekmann  
 Geschwister: Ralf und Klaus Strothmann  
 Familienstand: ledig  
 Konfession: evangelisch  
 Wohnort: Kurneyst. 17, 48161 Münster

### **Schulbildung:**

1976-1980 Grundschule Brockhagen  
 1980-1986 Hauptschule Steinhagen  
 1993-1995 Westfalenkolleg Bielefeld (Institut des zweiten Bildungsweges zur Erlangung der Hochschulreife)  
 21.12.1995 Abitur

### **Ausbildung/Beruf:**

1986-1996 Ausbildung zum Gas- und Wasserinstallateur und Anstellung als Geselle bei Firma Prange in Steinhagen (dazwischen Ableistung des Zivildienstes und Erlangung der Hochschulreife in Bielefeld)

### **Zivildienst:**

01/91-03/92 Zivildienst in den Städtischen Kliniken Bielefeld-Rosenhöhe auf einer internistischen Station mit Einsatz im Pflegebereich

### **Studium:**

10/96-05/03 Studium der Humanmedizin an der WWU-Münster

**Examen:**

08.09. 1998	Ärztliche Vorprüfung
31.08. 1999	Erstes Staatsexamen
26.03. 2002	Zweites Staatsexamen
22.05. 2003	Drittes Staatsexamen

**Praktisches Jahr:**

04/02-03/03	an den Unikliniken Münster, 1.Tertial: Allgemeine Innere Medizin, 2.Tertial: Allgemein- und Unfall-Chirurgie, 3. Tertial: Anästhesie und Intensivmedizin
-------------	--

**Famulaturen:**

1999-2001	Allgemein- und Unfallchirurgie (Gütersloh, Gladbeck), Anästhesie (UK-Münster), sowie Auslandsfamulatur in Tartu / Estland an der Universitäts-Klinik für Pädiatrie
-----------	--

**Nebentätigkeiten:**

05/01-03/03	neben dem Studium Nachtwachentätigkeit auf internistischer und viszeralchirurgischer Station im Herz-Jesu Krankenhaus Münster-Hiltrup
-------------	---

**Approbation:**

05.06. 2003	Berufserlaubnis zur vorübergehenden Ausübung des ärztlichen Berufs als Arzt im Praktikum (AiP)
-------------	--

**Jetzige Tätigkeit:**

seit 08/2003	Anstellung als Arzt im Praktikum in der Klinik für Innere Medizin im Marienhospital Osnabrück unter der Leitung von Prof. Dr. med. M.K. Müller
--------------	--

Münster, 24.11.03



## Danksagungen

*Am Anfang steht die Aufgabe, die vor einem liegt,  
am Ende die Erkenntnis, wie wichtig es ist,  
nie zu vergessen, dass es da Menschen gibt  
für deren wertvolle Hilfe du dankbar bist.*

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Hugo van Aken für die freundliche Überlassung dieser Promotionsarbeit und seine großzügige Unterstützung bedanken.

Meinem Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. med. T.P. Weber bin ich aufgrund seines außergewöhnlichen Engagements für die hervorragende Betreuung, die wertvollen Ratschläge und die konstruktive Unterstützung während der Durchführung dieser experimentellen Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Außerdem möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung für die Betreuung und Pflege der Tiere, sowie bei den übrigen Mitarbeitern der Forschungsgruppe "Chronisch Instrumentierte Hunde", insbesondere bei Hartmut Roseman und Heike Strotmann, für die enge und unkomplizierte Zusammenarbeit herzlich bedanken.

Mein ganz besonderer Dank soll meinen Eltern und meinen beiden Brüdern gelten, die mich während des Studiums und während der Promotion in jeder Hinsicht und zu jeder Zeit voll und ganz unterstützt haben.



## Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster · 48128 Münster

### Gegen Empfangsbekanntnis!

Herrn

Dr. med. Thomas Weber

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie

und operative Intensivmedizin der

Westf. Wilhelms-Universität Münster

Albert-Schweitzer-Straße 33

48149 Münster

Dienstgebäude  
Domplatz 1-3  
Telefon: (0251) 411-0  
Durchwahl: 2110  
Zimmer: 431  
Frau Möllers

Aktenzeichen  
23.0835.1.0 (G 36/98)

6. November 1998

Betr.: Tierschutz;

hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 05.08.1998, hier eingegangen am  
25.08.1998, sowie Ihre Ergänzungen vom 30.10.1998

### G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d :

Sehr geehrter Herr Dr. Weber,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) i.d.F. der Bekanntmachung vom 25. Mai 1998 (BGBl. I S. 1105) wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

*Die medikamentöse Beeinflussung der Perfusion und Funktion von normalem, ischämischen und postischämischen Myokard bei chronisch-instrumentierten Hunden.*

Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300

e-mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de ● X-400: C=de, A=dbp, P=dvs-nrw, O=bezreg-muenster, S=poststelle ● Telefax (0251) 411-2525

Konten der Regierungshauptkasse Münster:

Landeszentralbank Niederlassung Münster BLZ: 400 000 00 Konto: 40 001 520

Westdeutsche Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61 820

Öffentliche Verkehrsmittel - Buslinien 1 . 5 . 6 . 17 bis Haltestelle Prinzipalmarkt und 2 . 10 . 11 . 14 . 21 . 64 bis Domplatz

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr  
Dr. med. Thomas Weber  
Klinik und Poliklinik für  
Anästhesiologie und  
operative Intensivmedizin  
Albert-Schweitzer-Str. 33  
48149 Münster

Herr  
PD Dr. med. Norbert Rolf  
Klinik und Poliklinik für  
Anästhesiologie und  
operative Intensivmedizin  
Albert-Schweitzer-Str. 33  
48149 Münster

*Diese Genehmigung gilt bis zum 31.05.2000.*

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

40 Hunde.

**Auflagen:**

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

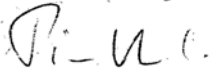
**Rechtsbehelfsbelehrung:**

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der o.g. Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag



(Dr. Piontkowski)