

Aus der Chirurgischen Tierklinik  
Lehrstuhl für Allgemeine und Spezielle Chirurgie einschließlich Augenkrankheiten  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München  
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. vet. U. Matis)

Angefertigt in der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin  
des Universitätsklinikums Münster  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken)  
unter der Leitung von Prof. Dr. med. T. Weber

Entwicklung eines geeigneten Modells für die Untersuchungen der regionalen,  
postischämischen myokardialen Dysfunktion am wachen, chronisch  
instrumentierten Schwein mit dem Schwerpunkt:  
Effekte des vegetativen Nervensystems und die Wirkungen der endogenen  
Opioidpeptide

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Britta Siehoff  
aus  
Münster

München 2008

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Matis

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Ammer

Tag der Promotion: 8. Februar 2008

Meinen Eltern  
gewidmet

## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Literaturübersicht und Zielsetzung.....</b>	<b>3</b>
2.1 Definition des Begriffs myokardiales Stunning und allgemeine Grundlagen.....	3
2.2 Effekte von endogenen Opioidpeptiden, Opioidrezeptoragonisten und.....	5
-antagonisten auf das kardiovaskuläre System	
2.3 Tiermodelle zu dieser Thematik.....	8
2.3.1 Isolierte Herzen verschiedener Tierarten.....	9
2.3.2 Tierart Ratte.....	9
2.3.3 Tierart Kaninchen.....	9
2.3.4 Tierart Hund.....	10
2.4 Bislang existierende Modelle mit der Tierart Schwein.....	10
2.4.1 Versuche am isolierten Herzen.....	11
2.4.2 Versuche am akut oder chronisch instrumentierten Schwein.....	11
2.4.2.1 Rasse und Training.....	12
2.4.2.2 Pharmaka.....	13
2.4.2.3 Instrumentierung.....	14
2.4.2.4 Versuchsprotokoll.....	15
2.5 Zielsetzung der Arbeit und Fragestellung.....	17
<b>3 Material und Methoden.....</b>	<b>18</b>
3.1 Material.....	18
3.1.1 Tiere.....	18
3.1.2 Geräte.....	19
3.2 Methoden.....	23
3.2.1 Präoperative Phase.....	23
3.2.1.1 Erstuntersuchung.....	23
3.2.1.2 Training.....	23
3.2.2 Perioperative Phase.....	27
3.2.2.1 Erste Prämedikation.....	27
3.2.2.2 Zweite Prämedikation und Narkoseeinleitung.....	27
3.2.2.3 Aufrechterhaltung der Anästhesie.....	28
3.2.2.4 Instrumentierung.....	29
3.2.2.5 Narkoseausleitung.....	33

3.2.3 Postoperative Phase.....	34
3.2.3.1 Monitoring.....	34
3.2.3.2 Schmerztherapie.....	35
3.2.3.3 Wundpflege.....	35
3.2.3.4 Medikamentöse Therapie.....	36
3.2.3.5 Katheterpflege.....	36
3.2.4 Versuchsprotokoll.....	37
3.2.4.1 Ausschluss- und Abbruchkriterien.....	37
3.2.4.2 Versuchsablauf.....	37
3.2.5 Euthanasie.....	41
3.2.6 Datenerfassung.....	41
3.2.6.1 Hämodynamik.....	41
3.2.6.2 Perfusionsmessung.....	42
3.2.6.3 Laborchemie.....	43
3.2.6.4 Gewebeproben.....	44
<b>4 Ergebnisse.....</b>	<b>45</b>
4.1 Gruppeneinteilung.....	45
4.2 Ergebnis Gruppe 1.....	45
4.2.1 Präoperative Phase.....	45
4.2.2 Perioperative Phase.....	45
4.2.2.1 Anästhesie.....	45
4.2.2.2 Instrumentierung.....	46
4.2.3 Postoperative Phase.....	46
4.3 Ergebnis Gruppe 2.....	46
4.3.1 Präoperative Phase.....	46
4.3.2 Perioperative Phase.....	47
4.3.2.1 Anästhesie.....	47
4.3.2.2 Instrumentierung.....	47
4.3.3 Postoperative Phase.....	49
4.4 Ergebnis Gruppe 3.....	49
4.4.1 Präoperative Phase.....	49
4.4.2 Ausschluss.....	50
4.4.3 Perioperative Phase.....	50
4.4.3.1 Anästhesie.....	50

4.4.3.2 Instrumentierung.....	50
4.4.4 Postoperative Phase.....	57
4.4.5 Versuchsdurchführung Teil I.....	57
4.4.6 Versuchsdurchführung Teil II.....	58
<b>5 Diskussion.....</b>	<b>59</b>
5.1 Wahl der Tierart.....	59
5.2 Wahl der Rasse.....	62
5.3 Wahl der Pharmaka.....	64
5.3.1 Prämedikation.....	64
5.3.1.1 Medikation am Vorabend der Operation.....	64
5.3.1.2 Medikation am Operationstag.....	66
5.3.2 Narkoseinduktion.....	67
5.3.3 Muskelrelaxation.....	68
5.3.4 Volatiles Anästhetikum: Sevofluran.....	68
5.3.5 Analgesie.....	70
5.4 Art der Vorgehensweise.....	72
5.4.1 Präoperativ.....	72
5.4.2 Perioperativ.....	73
5.4.2.1 Myokardiale Wanddickenmessung.....	73
5.4.2.2 Invasive Blutdruckmessung.....	74
5.4.3 Postoperativ.....	75
5.5 Versuchsprotokoll.....	76
5.6 Schlussfolgerung und Ausblick.....	78
<b>6 Zusammenfassung.....</b>	<b>80</b>
<b>7 Summary.....</b>	<b>82</b>
<b>8 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>84</b>
<b>9 Danksagung.....</b>	<b>106</b>

## Abkürzungen

A./ Aa.	Arteria/Arteriae
Abb.	Abbildung
AoP	aortic pressure, aortaler Druck
bzw.	beziehungsweise
D	Durchmesser
d.h.	das heißt
EKG	Elektrokardiogramm
EOP	endogene Opioidpeptide
ggf.	gegebenenfalls
h	Stunde
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LAD	left anterior descending artery
LVP	left ventricular pressure, linksventrikulärer Druck
M.	Muskulus
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
mg	Milligramm
MHS	Malignant Hyperthermia Syndrome
min	Minute
ml	Milliliter
N.	Nervus
PC	preconditioning
PEEP	positive endexpiratory pressure, positiver endexpiratorischer Druck
p.op.	post operationem
RCA	Ramus interventricularis subsinuosus der A. coronaria dextra
RCX	Ramus circumflexus der A. coronaria sinistra
RIVA	Ramus interventricularis anterior der A. coronaria sinistra (analog zum Ramus interventricularis paraconalis der A. coronaria sinistra beim Schwein)
V.	Vena
z.B.	zum Beispiel

## 1 Einleitung

Die chronische ischämische Herzerkrankung ist laut Statistischem Bundesamt nach wie vor die häufigste Todesursache in der Bundesrepublik Deutschland. Dabei können sich Perfusionsstörungen des Myokards in verschiedenen Formen darstellen. Zu nennen sind außer dem klassischen Myokardinfarkt zwei Arten von kontraktile Dysfunktionen. Die beiden Phänomene „hibernation“ und myokardiales Stunning sind potentiell reversible Störungen der Myokardfunktion, wobei bei der ersteren eine reduzierte Koronarperfusion während einer prolongierten Ischämiephase besteht. Als Schutzmechanismus werden proportional zur Hypoperfusion die kontraktile Funktion sowie der myokardiale Energiemetabolismus gesenkt. Diese Art der Dysfunktion verlangt meistens eine mechanische Intervention wie z.B. eine Katheterintervention oder Bypass-Operation. Beim myokardialen Stunning besteht die kontraktile Dysfunktion trotz normaler oder gar supranormaler Koronarperfusion fort und ist bisher nur einer symptomatischen Therapie zugänglich. Diese Therapie besteht in einer Katecholamingabe, welche auf den Organismus im weiteren Verlauf der Erkrankung ebenfalls potentiell schädigend wirken kann. Bei Stresseinwirkung auf den Organismus, wie z.B. einer Myokardischämie, werden vom Körper morphinähnliche Substanzen freigesetzt, die so genannten endogenen Opioidpeptide. Diese bewirken eine Kardiodepression, also negative Inotropie mit nachfolgender Hypotension sowie Bradykardie. Daher ist bei einer vorbestehenden Myokardschädigung der Einsatz von Katecholaminen erforderlich. Ein viel versprechender Ansatz zur Durchbrechung dieses Circulus vitiosus wäre, wenn sich eine Blockade bestimmter oder aller endogener Opioidpeptide positiv auf myokardiales Stunning auswirken würde.

Als Großtiermodell stand für Studien zu dieser Thematik am wachen, chronisch instrumentierten Tier bisher nur der Hund zur Verfügung. Das Schwein als Versuchstier hat jedoch entscheidende Vorteile. Vor allem ist die Anatomie des Schweineherzens der des Menschen sehr viel ähnlicher. Dies gilt im Besonderen für die sehr schwach ausgeprägte koronare Kollateralisierung. Zusätzlich begünstigen geringere Erwerbskosten und weniger aufwendigere Haltungsbedingungen den Einsatz des Schweins.



Ziel dieser Dissertation ist deshalb die Entwicklung eines neuen Tiermodells, welches sich möglichst nah an den Forderungen eines Idealmodells für derlei Studien orientiert:

- Anatomische, physiologische und pathophysiologische Nähe zum Menschen  
→ Guter Modellcharakter bei hoher Vergleichbarkeit mit dem Menschen
- Intaktes kardiovaskuläres System  
→ Ermöglichung der Betrachtung der gesamten Hämodynamik
- Intaktes vegetatives Nervensystem  
→ Gewährleistung aller natürlicher Interaktionen mit dem endogenen Opioidsystem
- Chronische Instrumentierung  
→ Elimination jeglicher Auswirkungen durch Anästhesie und operatives Trauma
- Versuch im Wachzustand  
→ Vermeidung einer Maskierung von Wirkungen auf die Opioidrezeptormodulation
- Verzicht auf jegliche Sedierung und Analgesie im Experiment  
→ Gewährleistung einer artefaktfreien Auswertung der Opioidrezeptormodulation
- Gleichzeitige Untersuchung unter physiologischen und pathologischen Bedingungen  
→ Vorteil von Verum und Kontrolle in ein und demselben Tier

## 2 Literaturübersicht und Zielsetzung

### 2.1 Definition des Begriffs myokardiales Stunning und allgemeine Grundlagen

Der Ausdruck myokardiales Stunning beschreibt die reversible kontraktile Dysfunktion des Herzens nach vorübergehender myokardialer Ischämie, die trotz Wiederherstellung einer normalen oder gar supranormalen koronaren Perfusion über Stunden bis Tage andauern kann. Dieses Phänomen wurde erstmals 1975 beschrieben, als Heyndrickx und Mitarbeiter nach einer Ischämiephase bei Hunden eine kontraktile Dysfunktion beobachteten, die bei vitalem Myokard trotz Wiederherstellung eines normalen koronaren Blutflusses weiter bestand (Heyndrickx et al., 1975). Der Begriff „stunning“ wurde einige Jahre später von Braunwald und Kloner geprägt (Braunwald und Kloner, 1982). Der Ausdruck kann abgeleitet werden von dem englischen Verb „to stun“, was in das Deutsche übersetzt „betäuben“ bedeutet. Die wesentlichen Aspekte an der Definition sind: 1. Die Dysfunktion ist unabhängig von ihrer Dauer vollständig reversibel, d.h. es entstehen keine irreversiblen Zellschädigungen und 2. es besteht während der Dysfunktion eine normale koronare Perfusion.

Verschiedene Pathomechanismen, die an der Entstehung des myokardialen Stunnings beteiligt sind, werden diskutiert (Bolli und Marbán, 1999). Hierbei handelt es sich um einen multifaktoriellen Prozess, bei dem die im Folgenden aufgezählten Mechanismen mitwirken. Zum einen kommt es zu einem massiven Anstieg des intrazellulären Kalziums während Ischämie und Reperfusion. Weiterhin folgt eine direkte Schädigung der Zellen durch die direkt nach Reperfusion gebildeten freien Sauerstoffradikale. Als letztes entsteht eine Dysfunktion des sarkoplasmatischen Retikulums mit einer verminderten Ansprechbarkeit der Myofilamente auf Kalzium (Bolli, 1990). Zusätzlich zu der durch die freien Sauerstoffradikale hervorgerufenen Zellschädigung wird ein negativer Effekt von endogen gebildetem Stickstoffmonoxid postuliert (Huang et al., 2003). Eine wesentliche Rolle spielt in diesem Zusammenhang die kardiale Innervation bezüglich der Ausprägung des myokardialen Stunnings. Bei einer Schädigung der kardialen Innervation stellt sich der Verlauf sehr viel ausgeprägter dar (Huang et al., 2003).

Vom myokardialen Stunning abzugrenzen ist eine zweite Form der kontraktilen Dysfunktion am Herzen, dem so genannten „hibernating myocardium“ (Schulz und Heusch, 2000). Auch dieser Prozess am vitalen Myokard ist vollständig reversibel, jedoch ist die koronare Perfusion in Gegensatz zum Stunning während einer prolongierten Ischämiephase reduziert. Proportional zur myokardialen Hypoperfusion werden die kontraktile Funktion sowie der

myokardiale Energiemetabolismus gesenkt, um das Auftreten eines Infarkts zu verhindern (Rahimtoola, 1985; Schulz und Heusch, 2000). In diesem Zusammenhang erklärt sich der Ausdruck „hibernation“, was übersetzt „Winterschlaf“ heißt. Während dieses Phänomen durch die Wiederherstellung eines normalen koronaren Blutflusses beendet werden kann, entsteht das myokardiale Stunning nach Beendigung einer Ischämie bei normalem Blutfluss und normalem myokardialen Metabolismus und kann über Tage andauern.

Weiterhin abzugrenzen von myokardialen Stunning ist das so genannte „preconditioning“ (PC). Der Begriff „preconditioning“ beschreibt eine Verbesserung der Ischämietoleranz des Myokards, die durch diverse, der Ischämie vorausgehende Stimuli bewirkt werden kann. Es werden beim PC pharmakologische von nicht-pharmakologischen Formen unterschieden. Zu den nicht-pharmakologischen Stimuli zählt das so genannte „ischemic preconditioning“ (IPC), bei dem mehrere kurz dauernde Ischämie- und Reperusionsphasen einer längeren Ischämiephase vorangegangen sind. Pharmakologische Stimuli sind z.B. Endotoxine, Zytokine, freie Sauerstoffradikale, Adenosinrezeptoragonisten oder auch Opioidrezeptoragonisten (Bolli, 2000).

In der Klinik kann die Diagnose myokardiales Stunning nur mit Einschränkung gestellt werden, da die diagnostischen Möglichkeiten begrenzt sind (Bolli, 1998). Mithilfe der Echokardiographie sowie der kardialen Magnetresonanztomographie (Kernspintomographie, MRT) können zwar viele kardiale Funktionen exakt bestimmt werden, in der Regel können jedoch keine Aussagen über genauen Beginn und Ende der Ischämiephase getroffen werden. Auch sind profunde Angaben über den Grad der Perfusionsstörung während der Ischämiephase nicht möglich. Dadurch wird eine Abgrenzung von stummer Ischämie, subendokardialen Infarkt oder „hibernation“ erschwert (Bolli, 1992). Trotzdem spricht vieles dafür, dass myokardiales Stunning bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung zur Morbidität und Mortalität beiträgt (Bolli, 1992). Es kann vor allem auftreten bei instabiler Angina pectoris, belastungsinduzierter Myokardischämie und nach akutem Myokardinfarkt mit früher Reperfusion (Bolli, 1998). Auch bei der Therapie akuter ischämischer Syndrome spielt Stunning eine große Rolle. Zu nennen sind hier die thrombolytische Therapie, die so genannte Herzkatheterintervention oder auch perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA) und die koronare Bypass-Chirurgie (Bolli, 1998). Zusätzlich ist das Vorkommen spontaner Reperfusion möglich durch Lyse koronarer Thromben oder Aufhebung koronarer Spasmen. Myokardiales Stunning kann, insbesondere bei Risikopatienten mit schon eingeschränkter kontraktile Reserve, zu einer ausgeprägten hämodynamischen Instabilität führen, aus der weiterhin ein kardiogener Schock resultieren kann (Ballantyne et al., 1987). Eine korrekte

Diagnose ist dabei wesentlich für die Auswahl der passenden Therapie (Bolli, 1998). Bisläng ist die postischämische myokardiale Dysfunktion nur symptomatisch therapierbar, während Erkrankungen mit eingeschränkter Myokardperfusion ein mechanisches Eingreifen erfordern.

## **2.2 Effekte von endogenen Opioidpeptiden, Opioidrezeptoragonisten und -antagonisten auf das kardiovaskuläre System**

Endogene Opioidpeptide (EOP) sind körpereigene Substanzen, die die natürlichen Liganden der Opioidrezeptoren darstellen. Sie sind unter anderem mitbeteiligt an der Regulation der Schmerzempfindlichkeit, des Kreislaufs, der Darmmotilität sowie der Sekretion von Hormonen und stehen in enger Verbindung zum vegetativen Nervensystem (Starke und Palm, 1992; Barron, 1999). Eine entwicklungsgeschichtlich wichtige Funktion haben sie beim Überlebenskampf durch die Blockade des so genannten „protektiven Systems“. Dieses protektive System bewirkt Reaktionen wie Angst, Schmerz, Hypertension, Hyperventilation, Tachykardie oder Harndrang, die grundsätzlich überlebenswichtig und notwendig sind. Dadurch ist z.B. ein Fluchttier erst in der Lage, Gefahr – durch Angst – zu erkennen und dieser schnell genug – durch Hyperventilation und Tachykardie – zu entkommen, durch die über ein gesteigertes Herzzeit- und Atemminutenvolumen dem Organismus mehr Sauerstoff zur Verfügung gestellt wird. In bestimmten Belastungssituationen sind jedoch die eigentlichen protektiven Mechanismen hinderlich, wie z.B. während Kampfhandlungen, in denen Angst oder Schmerzen eine Behinderung bedeuten würden. In diesen Fällen werden natürlicher Weise EOP freigesetzt (Jurna, 1992). Diese können in der heutigen Zeit jedoch auch zu negativen Auswirkungen auf den Organismus führen, da der Mensch sein Verhalten im Laufe der Zeit geändert hat. Vom frühen urzeitlichen Menschen mit viel Bewegung, vergleichsweise gesunder, naturbelassener Ernährung hat sich der moderne menschliche Organismus weit entfernt. Bedingt durch Bewegungsmangel und ein Nahrungsüberangebot werden im Rahmen des so genannten metabolischen Syndroms degenerative, arteriosklerotische Erkrankungen immer häufiger, oder besser formuliert: fast die Regel. Demzufolge kann eine kardiodepressive Wirkung der EOP, durch negativ-inotrope Wirkung mit nachfolgender Hypotension und Zentralisation am schon vorgeschädigten, prä-ischämischen Myokard im Rahmen einer Belastungssituation zu fatalen Folgen führen (Wu et al., 1993; Chen et al., 1995). EOP werden in einer derartigen Situation nach Beginn einer myokardialen Ischämie vermehrt freigesetzt und sind mitbeteiligt an der Entstehung des Myokardinfarkts (Chen et al., 1995). Sie verstärken weiterhin die nach Ischämie auftretenden Symptome wie Arrhythmie

und Bradykardie, welche unter Umständen zum kardiogenen Schock führen können (Wong und Lee, 1987; Wu et al., 1993). Bestätigt werden diese Effekte durch Untersuchungen mit dem unselektiven Opioidrezeptorantagonisten Naloxon. Es wurde nachgewiesen, dass die Applikation von Naloxon die Abnahme der myokardialen Kontraktilität nach einer Ischämie und anschließenden Reperfusion deutlich vermindert. Ebenso wird das Auftreten von Arrhythmien reduziert (Fagbemi et al., 1982; Zhan et al., 1985).

Die Vorstufen der EOP, die Propeptide, werden im Zentralnervensystem (ZNS), in der Hypophyse, in der Darmwand sowie im Nebennierenmark gespeichert und bei Bedarf sezerniert. Bislang werden drei Propeptide unterschieden, aus denen die EOP infolge von Spaltung durch Endoproteasen entstehen: 1. das Proopiomelanocortin, aus dem als Hauptvertreter das  $\beta$ -Endorphin entsteht, 2. das Proenkephalin, aus dem als maßgebliche Peptide Methionin- und Leukin-Enkephalin entstehen und 3. das Prodynorphin, aus dem als charakteristischer Vertreter das Dynorphin entsteht. Proopiomelanocortin wird im ZNS und der Hypophyse gespeichert, während Prodynorphin und Proenkephalin außer im ZNS auch in Darmwandneuronen zu finden sind. Das Proenkephalin kommt zusätzlich in Zellen des Nebennierenmarks vor (Starke und Palm, 1992). Die durch proteolytische Spaltung entstandenen aktiven Peptide wirken über verschiedene Rezeptoren, welche in unterschiedlicher Konzentration im zentralen Nervensystem und in peripheren Organen vertreten sind.

Die folgenden Rezeptortypen sind beschrieben:  $\delta$ -,  $\kappa$ - und  $\mu$ -Rezeptoren, sowie der Nociceptinrezeptor. Diese Rezeptortypen beinhalten jeweils eine Anzahl von Subtypen. So existieren bis zum heutigen Tag  $\mu_1$ -,  $\mu_2$ -,  $\delta_1$ -,  $\delta_2$ - sowie  $\kappa_1$ -,  $\kappa_2$ - und  $\kappa_3$ -Rezeptorsubtypen. Davon wird der  $\kappa_1$ -Subtyp nochmals in  $\kappa_{1a}$ - und  $\kappa_{1b}$ -Einheiten unterteilt (Pasternak und Wood, 1986; Clark et al., 1989; Jiang et al., 1991).

Nach Bindung eines EOP an den entsprechenden Rezeptor wirken so genannte G-Proteine, das sind membrangebundene Proteine, als Vermittler der Signale von der Zelloberfläche in das Zellinnere. Dabei geben sie die extrazelluläre Information als Hemmung der Adenylatzyklase weiter, welche wiederum die Aktivität bestimmter Ionenkanäle beeinflusst und dadurch die entsprechenden Stoffwechselfvorgänge in Gang setzt.

Eine verstärkte Freisetzung der EOP findet auch in kardiovaskulären Stress- und Belastungssituationen statt. So konnten Chen und Mitarbeiter bereits 1995 bei Patienten mit myokardialem Infarkt eine erhöhte  $\beta$ -Endorphinkonzentration nachweisen (Chen et al., 1995). Auch die Arbeitsgruppe um Paradis beschrieb eine erhöhte Enkephalinkonzentration im Blut nach Auslösen eines Infarkts bei Ratten (Paradis et al., 1992). Wu und Mitarbeiter (1993)

zeigten weiterhin, dass die Ausschüttung von Dynorphin während einer myokardialen Ischämie im Folgenden zu Arrhythmien, Hypotension und Bradykardie führte. Diese Effekte konnten durch den unselektiven Antagonisten Naloxon abgeschwächt werden. Dies verdeutlicht eine Beteiligung der EOP an den beschriebenen Reaktionen (Wu et al., 1993).

Zusätzlich sind die kardiovaskulären Effekte bedingt durch die Interaktion mit dem vegetativen Nervensystem, da durch EOP die Ausschüttung von Katecholaminen im Sinne eines Regelkreises gehemmt wird (Paradis et al., 1992; Barron, 1999). Das kann sich einerseits negativ auf ein bereits vorgeschädigtes Myokard auswirken, da Hypotension und Bradykardie nachfolgend zum kardiogenen Schock führen können. Andererseits stellt diese Interaktion auch eine Schutzfunktion des Körpers dar, da dadurch unter anderem der Sauerstoffverbrauch vermindert und die ventrikuläre Flimmerschwelle erhöht wird (Paradis et al., 1992).

Durch den Einsatz von Opioidrezeptoragonisten bzw. -antagonisten wird nicht nur die Schmerzempfindlichkeit sondern auch das kardiovaskuläre System beeinflusst (Barron, 1999). Am humanen Myokard sind sowohl  $\mu$ - als auch  $\kappa$ - und  $\delta$ -Opioidrezeptoren nachgewiesen worden (Villemagne et al., 2002; Peart und Gross, 2004). Dabei gibt es kontroverse Studien über die Effekte der verschiedenen Substanzen. Es wird von einigen Autoren angenommen, dass über  $\mu$ -Rezeptoragonisten keine Kardioprotektion stattfindet (Ross et al., 1998; Schultz et al., 1998; Benedict et al., 1999). Andere Studien konnten zeigen, dass Fentanyl, welches als synthetischer  $\mu$ -Agonist annähernd ausschließlich an  $\mu$ -Rezeptoren bindet, eine Kardioprotektion bewirkt (Kato und Foex, 2000) sowie einen positiven Einfluss auf die postischämische mechanische Funktion ausübt (Kato et al., 2000). Bei diesen Studien an isolierten Rattenherzen wurde Fentanyl allerdings sehr hoch dosiert eingesetzt, was im klinischen Gebrauch unüblich wäre.

Der Einfluss von  $\kappa$ -Rezeptoragonisten wird ebenso kontrovers diskutiert. Eine Arbeit beschreibt einen proarrhythmogenen Effekt nach Applikation eines  $\kappa$ -Rezeptoragonisten bei Schweinen (Coles et al., 2003). Peart und Gross sowie die Arbeitsgruppe um Wang konnten wiederum eine kardioprotektive Wirkung von  $\kappa$ -selektiven Rezeptoragonisten an isolierten Mäuse- bzw. Rattenherzen in Form von schnellerer Erholung von myokardialen Stunning bzw. Verringerung von Arrhythmien und Infarktverhalten nachweisen (Wang et al., 2001; Peart und Gross, 2004). Allerdings waren diese Effekte konzentrationsabhängig, denn nur bei Applikation von mindestens 1  $\mu\text{M/l}$  des  $\kappa$ -selektiven Agonisten U50,488 wurde eine Kardioprotektion erzielt. Valtchanova-Matchouganska und Ojewole (2002) konnten darlegen, dass  $\kappa$ -selektive Rezeptoragonisten die Infarktgröße nach myokardialer Ischämie sowie das

Auftreten von Arrhythmien und Extrasystolen bei Ratten vermindern. Auch die Mortalitätsrate nach dem Auftreten des myokardialen Infarkts war deutlich niedriger (Valtchanova-Matchouganska und Ojewole, 2002). Pyle und Mitarbeiter demonstrierten an isolierten Rattenherzen einen positiv inotropen Effekt von  $\kappa$ -Rezeptoragonisten in Form von erhöhter Ansprechbarkeit der Myofilamente auf Kalzium (Pyle et al., 2001).

Auch den  $\delta$ -selektiven Rezeptoragonisten wird von vielen Autoren ein protektiver Effekt zugeschrieben. Sie sollen unter anderem einen „ischemic preconditioning“-ähnlichen Effekt bewirken (Schultz et al., 1998; Peart et al., 2003). Peart und Kollegen vermuten jedoch, dass der  $\delta$ -Opioidrezeptor nur am Mechanismus der Kardioprotektion beteiligt ist (Peart et al., 2003). Schultz und Mitarbeiter machen die Wirkung der selektiven  $\delta_1$ -Opioidrezeptoragonisten alleine für einen „ischemic preconditioning“-Effekt verantwortlich (Schultz et al., 1998). Mehrere Arbeitsgruppen konnten nachweisen, dass  $\delta$ -Opioidrezeptoragonisten das Infarktvorkommen nach myokardialer Ischämie reduzieren (Kato und Foex, 2000; Wang et al., 2001; Sigg et al., 2002; Gross et al., 2005). Wenige Untersuchungen befassen sich mit dem Einfluss von  $\delta$ -Rezeptoragonisten auf myokardiales Stunning. Dabei wird nach deren Applikation eine schnellere Erholung von myokardialem Stunning beschrieben (Peart und Gross, 2004; Benedict et al., 1999).

Verschiedene Studien zeigen eine Verbesserung der Hämodynamik und postischämischen mechanischen Funktion bei einer unselektiven Blockade von Opioidrezeptoren. Durch den Einsatz des unselektiven Opioidrezeptorantagonisten Naloxon konnten die vorher genannten Effekte erzielt werden (Sakamoto et al., 1989; Wu et al., 1993; Weber et al., 2001; Große Hartlage, 2002; Weber et al., 2002). Dabei scheinen diese interessanterweise nicht peripher sondern durch das zentrale Nervensystem vermittelt zu sein, da nur Naloxon die positiven Resultate bewirkt, nicht aber Naloxonmethiodid, welches die Blut-Hirn-Schranke nicht penetrieren kann (Sakamoto et al., 1989; Weber et al., 2001).

### **2.3 Tiermodelle zu dieser Thematik**

Zur Durchführung von Studien zum Einfluss von EOP bzw. Opioidrezeptoragonisten und -antagonisten während oder nach myokardialer Ischämie und ihren Auswirkungen existieren verschiedene Tiermodelle. Als Tierarten wurden vor allem Ratten, Hunde und auch Schweine gewählt. Bislang existierende Modelle mit der Tierart Schwein werden unter Punkt 2.4 gesondert betrachtet.

### **2.3.1 Isolierte Herzen verschiedener Tierarten**

Kato und Kollegen beschrieben in zwei Arbeiten die positiven Auswirkungen von Fentanyl auf die postischämische myokardiale Funktion bei isolierten Rattenherzen nach Langendorff (Kato et al., 2000; Kato und Foex, 2000). Dieses Modell wurde ebenfalls von Wang und seinem Team zur Untersuchung der Bedeutung von  $\delta$ - und  $\kappa$ -Opioidrezeptoren auf das „ischemic preconditioning“ verwendet (Wang et al., 2001). Peart und Gross erläuterten die Bedeutung von  $\delta$ - und  $\kappa$ -Opioidrezeptoragonisten für myokardiales Stunning und verwendeten hierbei isolierte Mäuseherzen nach Langendorff (Peart und Gross, 2004). An isolierten Meerschweinchenherzen wurde der positive Effekt eines neu entwickelten Opioidanalgetikums auf myokardiales Stunning untersucht (Wu et al., 2002).

### **2.3.2 Tierart Ratte**

Paradis und Mitarbeiter untersuchten 1992 bei Ratten die Enkephalinkonzentration nach Induktion eines myokardialen Infarkts (Paradis et al., 1992). Die Tiere wurden bis zu 24 Stunden post operationem beobachtet, wobei in diesem Zeitraum die Mortalitätsrate bei 50 % lag. Die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen wurden bei anästhesierten Ratten am offenen Thorax durchgeführt. Die Arbeitsgruppe um Wu beschäftigte sich mit der Rolle der EOP bei myokardialer Ischämie (Wu et al., 1993). Schultz und seine Forschungsgruppe zeigten, dass  $\delta_1$ -Rezeptoren eine entscheidende Bedeutung bei der Kardioprotektion spielen (Schultz et al., 1998). Den kardioprotektiven Effekt eines  $\delta$ -Opioidrezeptoragonisten wiesen Gross und Mitarbeiter ebenfalls im Akutversuch mit Ratten nach (Gross et al., 2005).

### **2.3.3 Tierart Kaninchen**

Die Forschungsgruppe um Kodani verwendete Kaninchen für ihre Studien über den Einfluss eines  $\delta$ -Rezeptoragonisten beim „ischemic preconditioning“ und beim folgenden Auftreten bzw. Ausbleiben von myokardialen Stunning (Kodani et al., 2002). Die Tiere wurden chronisch instrumentiert, erhielten eine postoperative Erholungszeit von 14 Tagen und wurden im Versuch weder sediert noch analgetisch versorgt.



### **2.3.4 Tierart Hund**

In akuten Versuchen mit der Tierart Hund konnte die Gruppe um Peart (2003) einen „ischemic preconditioning“-ähnlichen und somit kardioprotektiven Effekt nach Stimulation des  $\delta$ -Opioidrezeptors belegen. Das Versuchsprotokoll umfasste eine 60-minütige Okklusion des RIVA mit nachfolgender dreistündiger Reperfusionphase (Peart et al., 2003). In ähnlicher Versuchsanordnung untersuchten Schwartz und seine Kollegen (1997) die Auswirkungen des Opioidanalgetikums Butorphanol bei myokardialer Ischämie. Gleichfalls erfolgten die Studien unter Anästhesie am offenen Thorax. Die Hunde wurden nach 60-minütiger Ischämie- und dreistündiger Reperfusionphase euthanasiert (Schwartz et al., 1997). Eine weitere Gruppe verglich die Effekte des Opioidanalgetikums Fentanyl mit denen des Anästhetikums Propofol auf myokardiales Stunning, wobei kein signifikanter Unterschied festgestellt wurde (Ross et al., 1998). Hier war ein akuter Versuch mit zehnminütiger Okklusion und wiederum dreistündiger Reperfusionphase vorgesehen.

Das Modell des chronisch instrumentierten Hundes wurde von Weber und Mitarbeitern verwendet, um die positiven Auswirkungen des unselektiven Opioidrezeptorantagonisten Naloxon auf myokardiales Stunning bzw. auf die Ausschüttung des atrialen natriuretischen Peptids (ANP) während myokardialer Ischämie und folgender Dysfunktion aufzuzeigen (Weber et al., 2001; Weber et al., 2002). Die Versuche begannen sieben bis zehn Tage post operationem, wobei jedes Tier zwei Ischämiephasen unter unterschiedlichen Bedingungen mit einer mindestens 72-stündigen Erholungsphase dazwischen durchlief.

### **2.4 Bislang existierende Modelle mit der Tierart Schwein**

Verschiedene Arbeitsgruppen arbeiten mit Modellen der Tierart Schwein zur Thematik „myokardiale Ischämie“ (z.B. Park et al., 1996; Depre et al., 2001; Stevens et al., 2004). Begründet wird diese Wahl vor allem mit der anatomischen Ähnlichkeit des Schweineherzens zu dem des Menschen (z.B. Swindle et al., 1986; Näslund et al., 1992; Schulz et al., 2001; Sigg et al., 2002). Dabei werden unterschiedliche Methoden zum Beispiel im Hinblick auf Anästhesie, Instrumentierung oder Versuchsprotokoll beschrieben. Im Folgenden sollen die wesentlichen Aspekte dargestellt werden. Zunächst werden die Studien betrachtet, die sich mit dem Einfluss von EOP bzw. Opiodrezeptoragonisten und -antagonisten auf myokardiales Stunning bzw. „ischemic preconditioning“ befassen.

### **2.4.1 Versuche am isolierten Herzen**

In einer Studie von Sigg und Kollegen (2001) wurde der Einfluss von Opioidrezeptoragonisten auf myokardiales Stunning an isolierten Schweineherzen untersucht, in der sie eine verbesserte postischämische myokardiale Funktion nach Vorbehandlung mit Morphin und einem  $\delta$ -Rezeptoragonisten nachwiesen. Nach Kardioplegie am anästhesierten Tier wurde das Herz explantiert, worauf eine 75-minütige Hypothermiephase folgte. In einer Langendorff-Aparatur erfolgte die Wiederherstellung eines Sinusrhythmus durch Defibrillation sowie die Reperfusion über weitere 75 Minuten (Sigg et al., 2001).

### **2.4.2 Versuche am akut oder chronisch instrumentierten Schwein**

Lediglich in drei weiteren Arbeiten wird auf die oben genannte Thematik eingegangen. Dabei wurde ausnahmslos an akut instrumentierten Schweinen geforscht. Bei ihren Studien über den Einfluss von EOP auf „ischemic preconditioning“ und „hibernation“ verwendeten Schulz und Mitarbeiter (2001) das Minipig als Versuchstier. Dabei handelte es sich um ein Versuchsmodell mit extrakorporaler Zirkulation (Schulz et al., 2001). Die Arbeitsgruppe um Coles (2003) führte ihre Forschungen am akuten Tiermodell mit einer 45-minütigen Ischämie, gefolgt von einer 180-minütigen Reperfusionsphase durch. Hierbei wurde die These überprüft, ob  $\kappa$ -Opioidrezeptoragonisten einen kardioprotektiven Effekt bewirken könnten (Coles et al., 2003). Bei gleicher Versuchsanordnung konnte diese Arbeitsgruppe keine Abschwächung des myokardialen Stunning nach Applikation eines  $\delta$ -Opioidrezeptoragonisten feststellen (Sigg et al., 2002).

Weitere Autoren befassen sich mit dem Thema myokardiales Stunning an anästhesierten Schweinen mit offenem Thorax. So sollen z.B. ein bestimmter Extrakt aus Ginkgo biloba das myokardiale Stunning abschwächen (Rioufol et al., 2003) oder die Hemmung des Natrium-Wasserstoff-Austausches bzw. die Sensibilisierung der Myokardzellen auf Kalzium sich positiv auf die postischämische myokardiale Dysfunktion auswirken (de Zeeuw et al., 2000; Stevens et al., 2004).

Es existieren auch Versuche mit chronisch instrumentierten Schweinen im Hinblick auf Fragestellungen zur Entstehung oder Beeinflussung von myokardialen Stunning. Gleichwohl entwickelte keine der Arbeitsgruppen einen Zusammenhang zu Opioidrezeptoragonisten oder -antagonisten. Bei den meisten Untersuchungen wurden die Tiere während des eigentlichen Versuchs mit Analgetika versorgt, sediert oder gar narkotisiert. Fallavollita und Canty

überprüften an Tieren in Allgemeinanästhesie die Hypothese, ob chronisches Stunning zu „hibernation“ führen kann (Fallavollita und Canty, 1999). Huang und Mitarbeiter bewiesen bei ihren Untersuchungen an sedierten Schweinen, dass sich myokardiales Stunning sehr viel ausgeprägter bei einer Schädigung der kardialen Innervation darstellt (Huang et al., 2003). Eine weitere Forschungsgruppe befasste sich mit dem zeitlichen Zusammenhang zwischen „preconditioning“ und Stunning. Alle Tiere waren während der Experimente sediert (Sun et al., 1995; Tang et al., 1996; Qiu et al., 1997).

Arbeiten zur Thematik des myokardialen Stunnings an Schweinen, die nicht anästhesiert oder sediert sind, liegen nur wenige vor. Hammond und Mitarbeiter beleuchteten Veränderungen bei der Signalübertragung der Zellen während einer chronischen postischämischen Dysfunktion (Hammond et al., 1993). Shen und Vatner beobachteten ebenfalls den Verlauf bei chronischer, progressiver Koronarstenose (Shen und Vatner, 1995). Die Arbeitsgruppe um Park zeigte, dass eine Blockade der Kalziumkanäle sich positiv auf den Verlauf des myokardialen Stunnings auswirkt (Park et al., 1996). Ebenso wurde an wachen Tieren die durch myokardiales Stunning ausgelöste Aktivierung eines Genprogramms aufgezeigt, das für das Überleben der Zellen im ischämischen Myokard zuständig ist (Depre et al., 2001).

Nachstehend wird insbesondere auf die Vorgehensweise bei Versuchen mit chronisch instrumentierten Schweinen eingegangen.

### **2.4.2.1 Rasse und Training**

In den meisten Arbeiten wurde auf die Gründe der Rassenauswahl nicht detailliert eingegangen. In einigen Studien wurden Minipigs verwendet (Hammond et al., 1993; Shen und Vatner, 1995; Louis et al., 2000). Andere Autoren bevorzugten den Einsatz von Landrasse- oder Yorkshireschweinen bzw. deren Kreuzung (Schott et al., 1990; Harada et al., 1996; Duncker et al., 1998; Huang et al., 1999; Wirth et al., 2001; Merkus et al., 2005).

Bei Studien mit chronisch instrumentierten Schweinen wurden die Tiere mindestens eine Woche vor Instrumentierung angeliefert, um sie an die neue Umgebung zu gewöhnen. Sie wurden sowohl in dieser Zeit als auch postoperativ täglich trainiert (Duncker et al., 1997; Duncker et al., 1998). Damit sollte sichergestellt werden, dass sich die Tiere im Versuch selber in der gewünschten Art und Weise verhielten. Sie wurden z.B. darauf trainiert, über mindestens sechs Stunden ruhig in einem Käfig zu liegen, der aus Holz und so konstruiert war, dass man ihn der Größe des Schweins anpassen konnte. Im späteren Versuch erfolgte jedoch zusätzlich eine Sedierung der Tiere mit Diazepam in einer Dosierung von

durchschnittlich 2 mg/kg KG/h (Sun et al., 1995; Tang et al., 1996). Eine weitere Forschungsgruppe trainierte die Tiere über einen Zeitraum von ein bis zwei Wochen darauf, ruhig in einer Schlingenkonstruktion für ein bis zwei Stunden pro Tag zu stehen (Sato et al., 1997; Kudej et al., 1998).

#### **2.4.2.2 Pharmaka**

Bei der Prämedikation, also der medikamentösen Narkosevorbereitung, gibt es im Wesentlichen zwei unterschiedliche Verfahren.

Einige Arbeitsgruppen verwandten als Hauptkomponente Ketamin, welches entweder alleine (Duncker et al., 1997; Lasley et al., 2001; Stevens et al., 2004) oder in Kombination mit Xylazin (Kim et al., 2003) bzw. Atropin (Hammond et al., 1993; Tang et al., 1997) intramuskulär verabreicht wurde.

Andere Gruppen wandten eine Kombination aus Tiletamin und Zolazepam an. Auch diese wurde intramuskulär entweder alleine (Depre et al., 2001) oder in Kombination mit Xylazin (Fallavollita et al., 2000; Fallavollita et al., 2001; McFalls et al., 2003; Fallavollita et al., 2005) bzw. Atropin (Shen und Vatner, 1995; Kudej et al., 1998; Huang et al., 1999) appliziert. Fallavollita und Mitarbeiter verwandten auch beide Varianten zusammen (Fallavollita et al., 1997; Fallavollita et al., 1999).

Nur bei wenigen Studien wurde das Neuroleptikum Azaperon zur Prämedikation eingesetzt (Schott et al., 1990; Bolukoglu et al., 1992).

Zur Intubation und Aufrechterhaltung der Anästhesie wurden von den meisten Arbeitsgruppen Barbiturate verwendet wie Pentobarbital (z.B. McFalls et al., 1997; de Zeeuw et al., 2000), Thiopental (z.B. Duncker et al., 1998; Kudej et al., 1998;) oder Methohexital (z.B. Sun et al., 1995; Tang et al., 1997). Zusätzlich wurden Inhalationsanästhetika eingesetzt, vor allem Halothan, Isofluran oder Methoxyfluran. Wenige Autoren beschreiben den Einsatz von Pancuroniumbromid zur Muskelrelaxation vor Beginn der Thorakotomie (Bolukoglu et al., 1992; de Zeeuw et al., 2000; Louis et al., 2000).

Zur intraoperativen Analgesie wurde nur von wenigen Autoren Fentanyl angewendet (Duncker et al., 1998; Stevens et al., 2004, Merkus et al., 2005).

Hervorzuheben ist, dass eine postoperative Schmerztherapie nicht von allen Arbeitsgruppen beschrieben wird. Bei Durchführung einer Schmerztherapie wurden die Opioidanalgetika Fentanyl (Huang et al., 2003), Buprenorphin (Duncker et al., 2001; McFalls et al., 2003; Merkus et al., 2005) oder Butorphanol (Fallavollita et al., 1997; Fallavollita et al., 1999;

Fallavollita et al., 2005) verabreicht. Als ergänzende Maßnahme wurden von Fallavollita und seinem Team Interkostalblockaden in den betroffenen Arealen vorgenommen.

Bei den chronisch instrumentierten Schweinen wurde zur Infektionsprophylaxe eine antibiotische Therapie über drei bis sieben Tage durchgeführt. Vorwiegend wurden Cephalosporine eingesetzt (z.B. Bolukoglu et al., 1992; Kudej et al., 1998; McFalls et al., 2003), auch in Kombination mit Gentamicin (z.B. Tang et al., 1997; Fallavollita et al., 2000). Duncker und Mitarbeiter verwendeten Amoxicillin in Verbindung mit Gentamicin (Duncker et al., 1998).

### **2.4.2.3 Instrumentierung**

Die Instrumentierung der Tiere hat je nach Fragestellung bei den verschiedenen Arbeitsgruppen einen unterschiedlichen Umfang. Im Vordergrund steht immer die Erzeugung der myokardialen Ischämie. Diese wird durch Verschluss oder Stenose des Ramus interventricularis paraconalis der Arteria (A.) coronaria sinistra bzw. Ramus circumflexus der A. coronaria sinistra (RCX) initiiert. Die meisten Gruppen verwendeten dazu einen hydraulischen Gefäßokkluder und applizierten distal des Okkluders einen Sensor zur Flussmessung an der entsprechenden Arterie zur Überprüfung des Blutflusses (z.B. Bolukoglu et al., 1992; Tang et al., 1997; Huang et al., 1999; Depre et al., 2001). Zur allmählichen Verringerung des Lumens des RCX setzten einige Gruppen einen so genannten Ameroidkonstriktor ein (Hammond et al., 1993; Shen und Vatner, 1995; Harada et al., 1996). Dieser besteht im Wesentlichen aus einem Metallband, das mit einem inneren Ring aus getrocknetem Milcheiweiß versehen ist. Das Eiweiß quillt infolge von Flüssigkeitsaufnahme nach Implantation in den Körper an und führt so zur allmählichen Okklusion des entsprechenden Gefäßes über einem Zeitraum von mehreren Tagen bis vier Wochen. Im Rahmen ihrer Untersuchungen zu chronisch ischämischen Herzerkrankungen induzierten Duncker und Kollegen (2001) einen myokardialen Infarkt durch einfache Ligatur des RCX. Dabei wurden die Experimente im Intervall nach der Operation an unsedierten, wachen Schweinen durchgeführt, ein Bezug zur Entität des myokardialen Stunnings existierte hier jedoch nicht mehr (Duncker et al., 2001).

Ein wichtiger Funktionsparameter ist der linksventrikuläre Druck (LVP), der von den meisten Arbeitsgruppen durch einen in den linken Ventrikel eingebrachten Druckmesser erfasst wurde (z.B. Bolukoglu et al., 1992; Duncker et al., 1997; Kudej et al., 1998; Fallavollita et al., 2000). Zusätzlich wurde von einigen Forschungsgruppen der Blutdruck invasiv in der Aorta

descendens über einen flüssigkeitsgefüllten Katheter gemessen. Zudem implantierten sie einen weiteren flüssigkeitsgefüllten Katheter im linken Vorhof zur Medikamentenapplikation (z.B. Duncker et al., 1997; Kudej et al., 1998; Huang et al., 1999). Duncker und Mitarbeiter ermittelten ferner den aortalen Blutfluss über die Anlage eines Flussmessers um die Aorta ascendens (Duncker et al., 1997).

Als Maß für die Funktionsfähigkeit des Myokards, d.h. die myokardiale Kontraktilität, wird die relative oder absolute Wanddicke herangezogen. Dafür werden zur Ermittlung der relativen Wanddicke ein bzw. bei Messung der absoluten Wanddicke zwei piezoelektrische Kristalle epikardial bzw. epi- und subendokardial implantiert. Die meisten Gruppen ermittelten aufgrund der deutlich einfacheren Applikation die relative myokardiale Wanddicke. Diese wird in Prozent angegeben und durch Division aus systolischer Exkursion der Myokardwand in Millimeter und Tiefe des Probevolumens in Millimeter, multipliziert mit 100, errechnet (z.B. Sun et al., 1995; de Zeeuw et al., 2000; Fallavollita et al., 2000; Stevens et al., 2004). Im Gegensatz dazu kann bei Messung der absoluten myokardialen Wanddicke der entsprechende Wert direkt im Sinne einer „elektronischen Schieblehre“ gemessen werden (z.B. Schott et al., 1990; Kudej et al., 1998).

### 2.4.2.4 Versuchsprotokoll

Bei den chronisch instrumentierten Schweinen finden die unterschiedlichen Untersuchungen im Durchschnitt sieben bis 14 Tage nach der Instrumentierung statt. In den weitaus überwiegenden Fällen werden die Tiere im Rahmen des Experiments auf irgendeine Weise sediert. Hierfür wurde von einigen Arbeitsgruppen das Benzodiazepin Diazepam eingesetzt (Sun et al., 1995; Kudej et al., 1998; Huang et al., 1999). Andere Arbeitsgruppen führten ihre Untersuchungen auch in Vollnarkose durch (Bolukoglu et al., 1992; Harada et al., 1996; Fallavollita und Canty, 1999; McFalls et al., 2003).

Nur sehr wenige Studien liegen vor, bei denen die Tiere die Versuche im wachen Zustand durchlaufen haben. Hammond und Mitarbeiter erzeugten eine chronische myokardiale Ischämie mit Hilfe eines Ameroidkonstriktors und untersuchten die Effekte an wachen Schweinen über einen Zeitraum von etwa sieben Wochen (Hammond et al., 1993). Shen und Vatner produzierten ebenfalls eine progressive Koronarstenose über Wochen durch Einsatz eines Ameroidkonstriktors und beobachteten die Auswirkungen auf den koronaren Blutfluss und die myokardiale Funktion bis zu einem Monat lang (Shen und Vatner, 1995). Park und sein Team (1996) induzierten myokardiales Stunning durch zehnmäßige Wiederholung einer

zweiminütigen Okklusion mit folgender zweiminütiger Reperfusion und untersuchten dabei die Wirkungen eines Kalziumkanalblockers. Diese Untersuchung an wachen Tieren wurde nach fünf Stunden Reperfusion beendet (Park et al., 1996). Die Arbeitsgruppe um Depre (2001) hat myokardiales Stunning bei wachen Schweinen durch Reduktion des Blutflusses der Koronararterie um 40 – 50 % induziert. Nach bis zu 12 Stunden Reperfusion erfolgte die Euthanasie der Tiere (Depre et al., 2001). Merkus und Mitarbeiter induzierten intraoperativ einen Myokardinfarkt durch direkte Ligatur des RCX und untersuchten später die hämodynamischen Effekte an wachen Schweinen in Ruhe und Bewegung (Merkus et al., 2005).

## 2.5 Zielsetzung der Arbeit und Fragestellung

Ziel dieser Dissertation ist die Etablierung eines neuen Tiermodells: das chronisch instrumentierte, wache Schwein zur tierexperimentellen Untersuchung der Auswirkungen von endogenen Opioidpeptiden, Opioidrezeptoragonisten und -antagonisten auf die postischämische myokardiale Dysfunktion. Zwar bestehen, wie oben angeführt, verschiedenste Modelle für das Schwein zur Erforschung des Phänomens „stunning“ und für die Kardiologie im Allgemeinen. Allerdings konnte auch nach umfangreicher Recherche kein einziges Tiermodell ermittelt werden, welches folgende Voraussetzungen erfüllt, um valide Aussagen im Rahmen von Untersuchungen zum endogenen Opioidpeptidsystem zu treffen:

- Wachheit
- Völliger Verzicht auf Sedierung oder Analgesie
- Vorgesehene umfangreiche Instrumentierung

Die vorhergehenden Studien verschiedener Arbeitsgruppen zu dieser Thematik wurden ausschließlich an isolierten Herzen verschiedener Tierarten (Maus, Ratte, Meerschweinchen, Schwein), kleinen Labortieren, akut instrumentierten Schweinen oder Hunden durchgeführt.

Da das Schwein aufgrund seiner anatomischen und physiologischen Ähnlichkeiten zum Menschen als Versuchstier deutlich besser als der Hund geeignet ist (Swindle 1984), soll eine Umstellung des Großtiermodells Hund auf das Schwein erfolgen.

Es ergeben sich hieraus folgende Fragestellungen:

- Was muss bei der Auswahl, Haltung und Konditionierung der Tiere beachtet werden?
- Welches sind die für das Schwein idealen Medikamente im Kontext des Modells und im Hinblick auf Prämedikation, Narkose und Schmerztherapie?
- Welche Besonderheiten müssen bei der Operationstechnik und Instrumentierung berücksichtigt werden?
- Welches postoperative Management soll zur Anwendung kommen?
- Wie muss das Versuchsprotokoll gestaltet werden?



## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Material**

#### **3.1.1 Tiere**

Verwendet wurden Tiere der Kreuzungen aus der Britischen Landrasse und Large White, der Deutschen Landrasse und Yorkshire, sowie aus dem Hybridzuchtprogramm Westhybrid. Ausgangslinien der letztgenannten Hybridzucht sind Deutsche Landrasse, Deutsches Edelschwein, Piétrain und Hampshire. Alle Tiere hatten ein mittleres Körpergewicht von 30 kg.

Die Anlieferung erfolgte ein bis drei Wochen vor der Instrumentierung.

In der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster standen insgesamt sechs Einzelboxen zur Verfügung. Zunächst war ein Sozialkontakt der Tiere aus gegebenen baulichen Umständen nicht möglich. Davon war die erste Gruppe Schweine der Kreuzung Deutsche Landrasse und Yorkshire betroffen. Nach Umbaumaßnahmen konnten jeweils drei Einzelboxen jedoch in eine große Laufbox bedarfsweise umgewandelt werden. Dadurch konnten die im Folgenden angelieferten Schweine zunächst in Gruppen gehalten werden. Nach der Instrumentierung wurden Trenngitter eingesetzt, so dass eine Einzelhaltung mit Blickkontakt zu den Nachbartieren möglich war. Die gefliesten Boxen waren mit Gummimatten ausgelegt. Zur Beschäftigung wurden Gummiringe angeboten.

Es standen ausreichend Selbsttränken für die Schweine zur Verfügung. Sie wurden zweimal täglich mit etwa 50 g/kg Körpergewicht Alleinfuttermittel für Mastschweine (B 888/95 deuka KM 126, bigran<sup>®</sup>, deuka Deutsche Tiernahrung GmbH & Co. KG, Höltinghausen) gefüttert. Ein Tag-Nacht-Rhythmus wurde mit Hilfe von künstlichem Licht hergestellt. Die Temperatur im Stall betrug 20 °C bei einer relativen Luftfeuchte von 60 – 70 %.

Einmal täglich wurden die Boxen gereinigt, währenddessen konnten sich die Tiere im gesamten Stall frei bewegen.

Die Versorgung und Beobachtung der Schweine erfolgte durch geschulte Tierpfleger. Die sofortige Information an den Versuchsleiter oder seine Stellvertreter über Krankheitsanzeichen oder Veränderungen im Verhalten der Tiere wurde sichergestellt.

Die Genehmigung des Tierversuchs der Bezirksregierung Münster und des Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamtes der Stadt Münster lag unter der Nummer G 62/2003 vor.

### 3.1.2 Geräte

Die im Folgenden aufgeführten und beschriebenen Geräte und Messsonden wurden für die Entwicklung des Modells verwendet. Auswahlkriterien für die Sonden und Katheter waren vor allem eine hohe Biokompatibilität und eine ausreichend lange In-vivo-Haltbarkeit.

*Geräte für die Operationsdurchführung:*

- Beatmungsgerät:  
Servo Ventilator 900 D<sup>®</sup>, Siemens, München
- Vapor für inhalatives Anästhetikum:  
Sevoflurane Vaporizer 953<sup>®</sup>, Siemens, München
- Beatmungsüberwachung:  
Dräger PM 8050<sup>®</sup>, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck
- Infusion/Medikamentenapplikation:  
Infusomat<sup>®</sup>/Perfusor<sup>®</sup>, B. Braun Melsungen AG, Melsungen
- Hämodynamisches Monitoring:  
Servomed SMK 154-9<sup>®</sup>, marquette Hellige, Wien, Österreich
- Pulsoxymetrie:  
Dräger PM 8050<sup>®</sup>, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck
- Elektrokoagulation und -kauter:  
Erbotom ACC 430<sup>®</sup>, Erbe Elektromedizin, Tübingen
- Reanimation:  
Servocard DC-Defibrillator<sup>®</sup>, marquette Hellige, Wien, Österreich
- Heizmatte:  
PHMS-36<sup>®</sup>, Kane Manufacturing Co., Inc., Des Moines, IA, USA
- Blutgasanalyse:  
ABL<sup>®</sup>520/System 625, Radiometer Medical A/S, Kopenhagen, Dänemark

- Operationsinstrumentarium:  
Individuell zusammengestelltes chirurgisches Set aus Komponenten der Firma Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland

*Implantierte Sonden:*

- Flussmessung:  
Transonic Implantable Flow Probe<sup>®</sup>, Durchmesser 2,5 oder 3 mm (RIVA) bzw. 20 mm (Truncus pulmonalis), Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA
- Druckmessung:  
Königsberg Implantable Pressure Transducer<sup>®</sup>, Durchmesser 3,5 mm (LVP),  
Königsberg Combined Implantable Pressure and ECG Transducer<sup>®</sup>, Durchmesser 3,5 mm (AoP), Königsberg Instruments Inc., Pasadena, CA, USA
- Wanddickenmessung:  
Triton/CBI-300 Sonomicrometer Monitoring System<sup>®</sup>, Triton Ventricular Wall Thickness Transducer Set<sup>®</sup>, 5 MHz, Triton Technology Inc., San Diego, CA, USA
- Okklusion:  
Vascular Occluders<sup>®</sup>, 2 – 4 mm, IVM, Healdsburg, CA, USA
- Mikrosphärenapplikation/Blutentnahme:  
Tygon<sup>®</sup> Surgical Tubing, 18 Gauge, Norton Performance Plastics, Akron, Ohio, USA

*Geräte und Materialien im Experiment:*

- Oszilloskop:  
2-Kanal Analog/Digital Oszilloskop<sup>®</sup>, Hameg Instruments GmbH, Mainhausen
- Messverstärkersystem zur Flussmessung:  
Transonic T 403<sup>®</sup>, Module TS 420<sup>®</sup>, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA
- Messverstärkersystem zur Druckmessung:  
MVU-0601 LVP, AoP und EKG<sup>®</sup>, Föhr Medical Instruments GmbH, Seeheim/Ober-Beerbach

- Mikrosphären:  
NuFLOW<sup>®</sup> 15 µm DIA Fluorescent Microspheres, Stason Pharmaceuticals, IMT,  
Irvine, CA, USA
- Pumpen zur Mikrosphärenapplikation:  
55-5920<sup>®</sup>, Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA (Spritzpumpe),  
Modell „Genie“<sup>®</sup>, Kent Scientific Corporation, Torrington, CT, USA (Saugpumpe)
- Wirkstoffe:  
Naltrexon/Naltrexon-Methiodid, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München
- Hardware:  
Pentium 4 Computer, 3 GHz, Dell<sup>®</sup>, Dell GmbH, Frankfurt
- Software:  
Notocord hem 3,5<sup>®</sup>, Data Acquisition, Presentation, Storage, Evaluation and  
Protocol Package, Notocord Systems, Croissy, Frankreich

Zur Bestimmung des Blutflusses am Truncus pulmonalis und am Ramus interventricularis paraconalis der Arteria coronaria sinistra, der dem humanen Ramus interventricularis anterior, dem RIVA oder auch LAD für left anterior descending, entspricht, wurde das Verfahren der Flussmessung nach dem Dopplerprinzip angewendet. Dabei wurde der Blutfluss in dem entsprechenden Blutgefäß mit zwei Signalgebern (Transducer) sowie einem Reflektor bestimmt (s. Abbildung 3.1). Die Transducer sendeten und empfangen gleichzeitig Ultraschallwellen abwechselnd mit bzw. gegen den Blutfluss in einer Frequenz von 1,8 MHz und 3,6 MHz, je nach Größe der Sonde. Dabei sendete ein Transducer Ultraschallwellen einer bestimmten Frequenz, die von den sich im Blutgefäß bewegenden Erythrozyten gestreut, am Reflektor reflektiert und mit einer veränderten Frequenz vom anderen Transducer wieder empfangen wurden. Aus dem Frequenzunterschied wurden durch die nachgeschaltete Elektronik die Blutflussgeschwindigkeit und daraus der Blutfluss (Volumen pro Zeiteinheit) ermittelt.

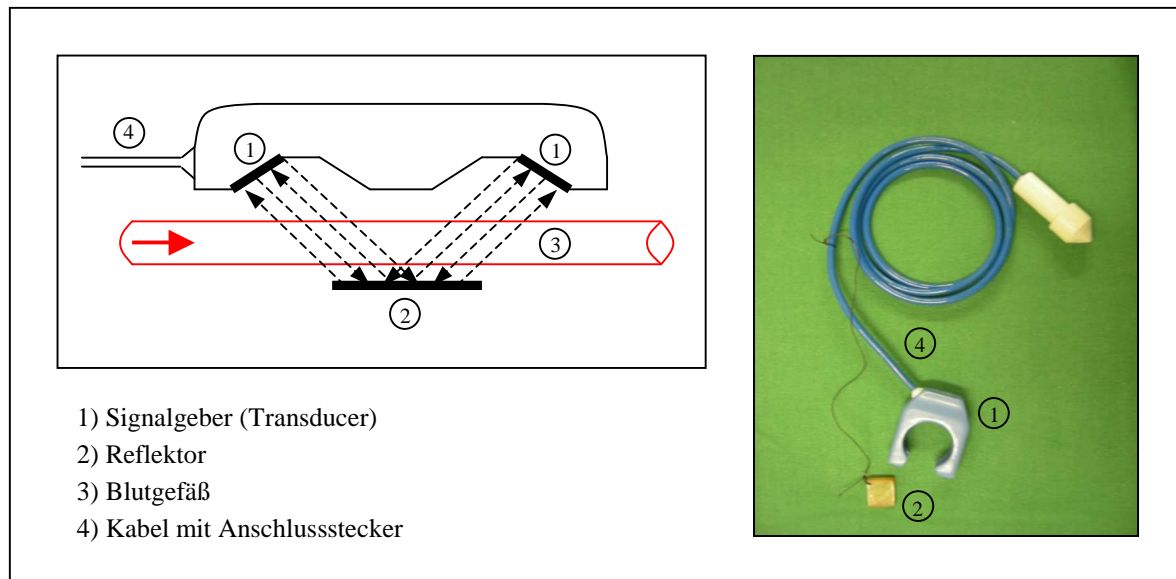


Abb. 3.1: Prinzip und Bild des Dopplerflussmessers

Das dazugehörige Messverstärkersystem (Transonic T 403<sup>®</sup>) enthielt zwei Messmodule (TS 420<sup>®</sup>) zur direkten analogen Anzeige der einzelnen Blutflüsse.

Eine kontinuierliche Druckmessung erfolgte im linken Ventrikel sowie in der Aorta descendens. Vor der Implantation dieser Druckaufnehmer erfolgte ein Nullabgleich gegen die Atmosphäre.

Der aortale Druckaufnehmer verfügte über zwei zusätzliche Leiter, mittels derer ein artefaktfreies, intrathorakales Elektrokardiogramm (EKG) abgeleitet wurde. Ein entsprechendes Messverstärkersystem (MVU-0601 LVP, AoP und EKG<sup>®</sup>) diente auch hier zur Verstärkung und Visualisierung der Druck- und EKG-Signale.

Zur Messung der absoluten myokardialen Wanddicke wurden im abhängigen Bereich der später okkludierten Koronarie sowie in einer unangetasteten Kontrollregion je zwei Sonomikrometerkristalle implantiert, die nach dem gepulsten Dopplerprinzip arbeiteten. Hierbei diente jeder Piezokristall des Paares gleichzeitig als Sender und Empfänger des Ultraschallsignals. Aus der Laufzeit des Signals und der bekannten sowie konstanten Schallgeschwindigkeit im Herzmuskel kann die Distanz zwischen den Kristallen in absoluten Werten bestimmt werden. Durch die Anordnung eines Sonomikrometerkristallpaares epikardial und subendokardial wird demnach die absolute myokardiale Wanddicke gemessen. Eine Justierung des Dopplersignals auf die korrekte Position der Kristalle erfolgte mit Hilfe des Oszilloskops.

Alle Daten wurden über die so genannte „Acquisition Box“ des Softwareprogramms (Notocord<sup>®</sup>) analog eingespeist. Über dieses Programm erfolgte ferner die Speicherung und spätere Auswertung der Daten.

## **3.2 Methoden**

### **3.2.1 Präoperative Phase**

#### **3.2.1.1 Erstuntersuchung**

Die erste Untersuchung der Schweine fand am Tag der Anlieferung statt.

Die allgemeine Untersuchung begann mit der Adspektion. Dabei wurden die Futter- und Wasseraufnahme sowie der Harn- und Kotabsatz überprüft. Neben der Begutachtung von Haut, Körperöffnungen und Atmung wurde besonders auf das Verhalten, die Haltung und die Bewegungsfähigkeit geachtet. Anschließend erfolgte die Auskultation von Lunge und Herz. Ergänzend wurden der Puls, die Kapillarfüllungszeit, die Haut- und Schleimhautfarbe sowie die Temperatur kontrolliert. Außerdem erfolgte eine parasitologische Untersuchung, damit im Fall eines positiven Befundes sofort die entsprechende Behandlung eingeleitet werden konnte. Wurden keine besonderen Befunde erhoben, konnten sich die Tiere nach der ersten Untersuchung beruhigen und eingewöhnen.

Das Training für den eigentlichen Versuch begann nach zwei- bis dreitägiger Eingewöhnungszeit.

#### **3.2.1.2 Training**

Nach der Eingewöhnungsphase wurden die Schweine bis zum Vortag der Operation ein- bis zweimal täglich von allen am Versuchsvorhaben teilnehmenden Personen betreut.

Die Gruppe der Kreuzung Deutsche Landrasse und Yorkshire wurde einmal täglich für rund sieben Tage beobachtet.

Das Training der Westhybrid-Schweine fand zweimal täglich etwa zehn Tage lang statt.

Die Tiere der Kreuzung Britische Landrasse und Large White wurden zweimal täglich für rund 14 Tage betreut.

Dabei wurden die Tiere zuerst langsam mit allen Personen vertraut gemacht, wobei sich jeweils drei von ihnen pro Zeitpunkt mit den Schweinen beschäftigt haben. In dieser Zeit befanden sich sonst keine Personen, wie z.B. Raum- oder Tierpfleger, im Stall.

Zunächst verhielten sich die Bezugspersonen passiv und ließen die Tiere in der Stallgasse laufen. Dabei hockten sie sich hin, um die Schweine nicht durch die Körpergröße zu irritieren. Es wurde kein Zwang ausgeübt. Die Tiere konnten sich frei zu jemandem hin oder von ihm

weg bewegen. Langsam nahmen dann die Anwesenden näheren Kontakt zu den Schweinen auf. Dazu wurden lediglich deren Neugierde und Spieltrieb ausgenutzt. Die Tiere agierten zu Beginn der Vorbereitungszeit sehr zurückhaltend. Daher wurde besonders darauf geachtet, dass sie nicht überfordert wurden, und die Trainingszeiten wurden nur langsam gesteigert.

Es kamen keine Lockmittel zum Einsatz, da, wie im Folgenden beschrieben, das Training freiwillig und affektneutral absolviert werden sollte. Da im späteren Versuch die Auswirkungen von Opioidrezeptoragonisten und -antagonisten getestet werden sollten, musste eine zu diesem Zeitpunkt erhöhte Ausschüttung endogener Opioidpeptide vermieden werden. Der Einsatz von Lockmitteln, wie z.B. Futter, oder andauernder Stress, der vor allem durch Zwang ausgelöst werden kann, würde dieses jedoch bewirken. Um Interaktionen zu vermeiden, wurde demzufolge bereits im Training darauf verzichtet.

Nachdem die Schweine so an alle beteiligten Personen gewöhnt worden waren, erfolgte in gleicher Weise die Konditionierung auf verschiedene Situationen. Die Tiere mussten spielerisch an das Transportmittel und den Transport zum Labor adaptiert werden. Zum Transport diente ein speziell angefertigter Käfigwagen aus Metall (Maße von Länge x Breite



Abb. 3.2: Käfigwagen

x Höhe: 130 x 35 x 70 cm). Zuvor wurden die Schweine mit einem größeren Wagen vertraut gemacht, in dem drei bis vier Tiere Platz hatten. Während der etwa einminütigen Fahrt in das Labor waren sie jedoch so unruhig, dass sie immer wieder zum Sprung ansetzten, um dem Wagen zu entfliehen. Vermutlich lag die Ursache dieser Unruhe in der

Konstruktion des Transportmittels, das zu allen Seiten hin geschlossen war und eine Aussicht auf die Umgebung nicht gestattete. Dieses war ferner für den eigentlichen Versuch nicht geeignet, da es durch die Größe zu einer so hohen Bewegungsfreiheit der Tiere gekommen wäre, dass unter Umständen Verletzungen durch Abwehrbewegungen oder durch Abreißen von Kabeln entstanden wären. Infolgedessen wurden die Tiere an den kleineren Metallwagen gewöhnt, in dem sie sich während der Fahrt zum Labor deutlich ruhiger verhielten. Dieser war mit Bremsen ausgestattet und konnte sowohl an der Vorder- als auch an der Rückseite geöffnet werden, so dass die Tiere ein- und aussteigen konnten, wie es ihnen angenehm war.

Überdies war je eine Klappe seitlich sowie an der Oberseite vorhanden. Hierüber war p.op. die tägliche Wundkontrolle möglich. Bei den späteren Versuchen erfolgte darüber zusätzlich die Ausleitung aller Kabel und Katheter. Die Größe des Wagens ließ auch ein Ablegen der Tiere zu. Der Boden war mit Gummimatten belegt, um Verletzungen und Panikreaktionen der Tiere durch Ausrutschen zu verhindern.

Auch an den Aufenthalt im Labor und an die Versuchssituationen wurden die Schweine während der Vorbereitungszeit adaptiert. Sie wurden zunächst mit den Geräuschen aller Geräte, auch denen der nicht versuchsrelevanten, z.B. Radio oder Telefon, vertraut gemacht. Ebenso wichtig war die Gewöhnung an die Positionierung im Raum und die Verweildauer im Labor. Ziel war eine möglichst stressarme Verweildauer der Tiere im Transportwagen von bis zu drei Stunden, wie es auch im späteren Experiment gefordert wurde.

Für jedes Tier wurde ein Protokoll angefertigt, worin bestimmte Verhaltensweisen und die jeweiligen Aufenthaltszeiten dokumentiert wurden. Dadurch konnten Fortschritte bzw. Stagnation im Training festgestellt werden. Zusätzlich war es möglich, für jedes Schwein ein individuelles Trainingsprogramm zu erstellen, welches Schwächen und Stärken berücksichtigte.

Im Folgenden ist ein Konditionierungsprotokoll exemplarisch dargestellt. Dabei wurde das Fressverhalten mit Hilfe von Zahlenwerten beurteilt. Die Zahl „1“ stand für eine gute, die Zahl „2“ für eine mittelmäßige und die Zahl „3“ für eine unzureichende Futteraufnahme. Des Weiteren wurde notiert, ob alle Tiere zusammen in der Stallgasse Freilauf hatten.



Datum: 05.10.2004 Uhrzeit: 9.00 Uhr Doktorand: Holger Böhle, Daniel Pfeifer Blatt Nr. 4

	Fressverhalten					Labor			Aufenthalt [min]	Freilauf			Bemerkungen		
Schwein 8	1	X	2		3	ja	X	nein	25	ja	X	nein	Unruhig, will sich im Wagen drehen, muss länger beschäftigt werden		
Schwein 9	1		2		3	X	ja	X	nein	25	ja	X	nein	Will zuerst nicht einsteigen, wird dann zutraulicher	
Schwein 10	1		2		3	X	ja	X	nein	25	ja	X	nein	Ruhig, versucht sich ab und zu im Wagen zu drehen	
Schwein 11	1		2		3	X	ja	X	nein	20	ja	X	nein	Sehr ruhig, würde länger im Wagen bleiben	
Schwein 12	1		2		3	X	ja		nein	X	-	ja	X	nein	Will nicht einsteigen: mehr kümmern!
Schwein 13	1		2		3	X	ja	X	nein	20	ja	X	nein	Ruhig im Wagen	

Datum: 05.10.2004 Uhrzeit: 15.00 Uhr Doktorand: Holger Böhle, Daniel Pfeifer

	Fressverhalten					Labor			Aufenthalt [min]	Freilauf			Bemerkungen
Schwein 8	1	X	2		3	ja	X	nein	70	ja	X	nein	Zunächst ruhig im Wagen, will sich dann drehen
Schwein 9	1	X	2		3	ja	X	nein	10	ja	X	nein	Ruhig, legt sich im Wagen hin
Schwein 10	1	X	2		3	ja	X	nein	10	ja	X	nein	Ruhig, will sich manchmal drehen
Schwein 11	1	X	2		3	ja	X	nein	10	ja	X	nein	Legt sich sofort im Wagen hin, könnte länger
Schwein 12	1	X	2		3	ja	X	nein	45	ja	X	nein	Misstrauisch, steigt jetzt ein, schreit manchmal, sonst abwartend
Schwein 13	1	X	2		3	ja	X	nein	10	ja	X	nein	Legt sich im Wagen hin, könnte länger

### **3.2.2 Perioperative Phase**

#### **3.2.2.1 Erste Prämedikation**

Zur Prämedikation erhielt die erste Gruppe der Kreuzung Deutsche Landrasse und Yorkshire oral am Vorabend der Operation 3 mg pro Tier Flunitrazepam (Rohypnol<sup>®</sup>, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen).

Die Westhybrid-Tiere wurden am Vorabend oral mit 40 mg Diazepam (Valium 10 Roche<sup>®</sup>, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen), 100 mg Metoprolol (Beloc-Zok<sup>®</sup>, AstraZeneca GmbH, Wedel) und 300 µg Clonidin (Catapresan 300<sup>®</sup>, Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim) prämediziert.

Die Prämedikation wurde jeweils zermörsert und in einer geringen Menge Standard-Futter verabreicht.

Bei den im Folgenden operierten Schweinen der Kreuzung Britische Landrasse und Large White wurde auf eine Prämedikation am Vorabend verzichtet.

#### **3.2.2.2 Zweite Prämedikation und Narkoseeinleitung**

Zur Verhinderung von Vomitus, Regurgitation sowie Aspiration mit nachfolgenden Pneumonien wurde vor Operationsbeginn eine 18-stündige Karenzphase eingehalten. Trinkwasser stand ad libitum zur Verfügung. Nach allgemeiner Untersuchung erhielten die Tiere die Prämedikation intramuskulär in die seitliche Nackenmuskulatur.

Diese bestand bei den ersten beiden Tiergruppen aus einer Kombination von 2 mg/kg Körpergewicht (KG) Azaperon (Stresnil<sup>®</sup>, Janssen Animal Health, Janssen-Cilag GmbH, Neuss), 20 mg/kg KG Ketamin (Ketamin 10 %<sup>®</sup>, CP-Pharma, Burgdorf) sowie 0,5 mg/kg KG Piritramid (Dipidolor<sup>®</sup>, Janssen-Cilag GmbH, Neuss).

Die dritte Gruppe erhielt ein Gemisch aus dem Benzodiazepin Zolazepam, dem Ketaminabkömmling Tiletamin (Zoletil 100<sup>®</sup>, Virbac laboratories, Carros, Frankreich) und dem  $\alpha_2$ -Agonisten Xylazin (Xylazin 2 %<sup>®</sup>, CEVA Tiergesundheit GmbH, Düsseldorf). Dazu wurde Zoletil<sup>®</sup> mit 10 ml Xylazin 2 %<sup>®</sup> aufgelöst, und von dieser Mischung wurden 1,5 mg/kg KG Xylazin und 3,5 mg/kg KG Zoletil<sup>®</sup> intramuskulär verabreicht.

Unter Wirkung der Sedierung wurde eine 20-Gauge-Venenverweilkanüle (Insyte-W<sup>®</sup>, Becton Dickinson, S.A., Madrid, Spanien) in der Vena (V.) auricularis intermedia platziert.

Ein arterieller Zugang wurde mit einer weiteren 20-Gauge-Venenverweilkanüle in den Ramus auricularis intermedius der A. auricularis caudalis gelegt. Hierüber wurden die invasive Messung des Blutdrucks und die arterielle Blutprobennahme ermöglicht.

Während dieser Manipulationen erfolgte gleichzeitig die Präoxigenierung über eine Atemmaske (Atemmaske Plexiglas, groß, mit Gummiabschluss und Schnellfixation, Eickemeyer, Tuttlingen) und ein Kreisteil (Kreisteil 8 ISO<sup>®</sup>, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck) mit hohem Sauerstofffrischgasfluss von 15 l/min.

Die Sauerstoffsättigung und Herzfrequenz wurden über einen am Schwanz befestigten Sensor eines Pulsoximeters (PM 8050<sup>®</sup>, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck) gemessen.

Zum Erhalt der Flüssigkeitshomöostase wurde eine Vollelektrolytlösung (Ringerlactat Infusionslösung B. Braun<sup>®</sup>, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) in einer Dosierung von 5 ml/kg KG/h infundiert. Kam es zu operativ bedingten Blutverlusten, wurde die Dosierung dem Flüssigkeitsverlust angepasst.

Eine Heizmatte (PHMS-36<sup>®</sup>, Kane Manufacturing Co., Inc., Des Moines, IA, USA) diente zur Erhaltung der Normothermie.

Über die Venenverweilkanüle wurde die Narkose mit 7,5 mg/kg KG Propofol (Disoprivan 1 %<sup>®</sup>, AstraZeneca GmbH, Wedel) induziert. Zur Analgesie erhielten die Tiere zusätzlich 50 µg/kg KG Fentanyl (Fentanyl-Janssen 0,5 mg<sup>®</sup>, Janssen-Cilag, Neuss).

Daraufhin erfolgte die endotracheale Intubation in Bauchlage mit einem Magilltubus (Super Safety<sup>®</sup> 7,5 mm Ø, Rüsch GmbH, Kernen).

#### **3.2.2.3 Aufrechterhaltung der Anästhesie**

Nach der Intubation wurde die Anästhesie mit dem volatilen Anästhetikum Sevofluran (Sevorane<sup>®</sup>, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) mit einer endexpiratorischen Konzentration von 1,0 – 1,6 % fortgesetzt. Mit Hilfe eines Intensivrespirators (Servo Ventilator 900 D<sup>®</sup>, Siemens) wurde das jeweilige Tier druckkontrolliert beatmet. Die Beatmungsparameter wurden adaptiert an die arteriellen Partialdrücke von Sauerstoff und Kohlendioxid; es wurde ein positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) von 5 mbar appliziert. Das resultierende Atemzugvolumen betrug bei einer Atemfrequenz von 11 bis 17 Zügen pro Minute meist um die 300 ml. Während der gesamten Narkose wurden Beatmungsdrücke, Frischgasfluss, inspiratorische und endtidale Sauerstoff-, Kohlendioxid- und Sevoflurankonzentrationen kontinuierlich überwacht und in fünfminütigen Intervallen dokumentiert (PM 8050<sup>®</sup>, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck).

Es fanden regelmäßige Kontrollen der Beatmung und Elektrolytkonzentrationen über Blutgasanalysen statt (ABL<sup>®</sup>520/System 625, Radiometer Medical A/S, Kopenhagen, Dänemark). Dementsprechend wurde das Beatmungsregime adjustiert.

Ergänzend erfolgte ein Monitoring der Hämodynamik über einen Patientenmonitor (Servomed SMK 154-9, marquette Hellige, Wien, Österreich), der kontinuierlich den invasiven arteriellen Blutdruck, ein EKG sowie die Rektaltemperatur anzeigte. Auch diese Parameter wurden in fünfminütigen Intervallen dokumentiert.

Im Falle einer ernsthaften Hypotonie, d.h. ein Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks unter 60 mmHg, war die bedarfsadaptierte Gabe einer Fixkombination von Cafedrin und Theodrenalin (Akrinor<sup>®</sup>, AWD.pharma GmbH & Co. KG, Dresden) vorgesehen.

Um eine ausreichende Analgesie sicherzustellen, erhielten die Tiere 50 µg/kg KG/h Fentanyl über den venösen Verweilkatheter am Ohr mit Hilfe einer Spritzenpumpe (Perfusor<sup>®</sup>, B. Braun Melsungen AG, Melsungen).

#### **3.2.2.4 Instrumentierung**

Die Tiere wurden in rechter Seitenlage auf der Wärmematte positioniert. Zur Vermeidung von Druckstellen wurden vor allem der Kopf und die Gliedmaßen gut abgepolstert. Eine Dexpanthenolhaltige Augensalbe (Bepanthen<sup>®</sup> Augen- und Nasensalbe, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) wurde zum Schutz der Korneae appliziert.

Analog zur Humanmedizin wurde unter absolut aseptischen Bedingungen operiert. Um dies zu gewährleisten, war eine Rasur der Haut vom kaudalen Rand der Skapula bis etwa zum achten Interkostalraum an der linken Thoraxseite notwendig, gefolgt von einer fachgerechten fünfminütigen ausgiebigen Desinfektion (Sterillium<sup>®</sup>, Bode Chemie Hamburg) und sterilen Abdeckung des Operationsfeldes. Die Regio cubiti wurde im Hinblick auf die empfindliche Haut dieser Region von der Rasur ausgeschlossen.

Kurz vor dem Hautschnitt erfolgte die einmalige intravenöse Gabe von 1,3 mg/kg KG Rocuroniumbromid (Esmeron<sup>®</sup>, Organon GmbH, Oberschleißheim) zur Muskelrelaxation.

Nachfolgend wurde eine linkslaterale Thorakotomie im vierten Interkostalraum vorgenommen. Nach dem Hautschnitt wurde die Muskulatur durchtrennt, wobei der Nervus thoracicus longus durch Freipräparieren und Verlagern geschont wurde. Dieses war notwendig, da der durch diesen Nerven versorgte Musculus serratus ventralis thoracis bei der Atmung als Hilfsinspirator dienen kann.

Nach behutsamer Spreizung der Rippen erfolgte die Eröffnung und Hochnaht des Perikards, wobei streng auf Schonung des jeweiligen Nervus vagus sowie des Nervus phrenicus geachtet wurde.

Unter ständiger Blutdruckkontrolle wurde das Herz moderat nach linkslateral und kranial luxiert. Dazu wurde es mit der Hand leicht angehoben und durch ein mit warmer, physiologischer Kochsalzlösung getränktes und gefaltetes Bauchtuch in die gewünschte Position gebracht.



Abb. 3.3: Gefäßokkluder

Daraufhin wurde der RIVA nach Abgang des ersten Diagonalastes frei präpariert und mit einem pneumatischen Gefäßokkluder (Vascular Occluders<sup>®</sup>, IVM, D = 2–4 mm) umschlungen. Dadurch konnte später ein temporärer Verschluss des Gefäßes distal des Okkluders zur Induktion einer reversiblen Ischämie in dem von der Arterie perfundierten Myokardbezirk erzielt werden.

Eine Dopplersonde zur Flussmessung (Transonic Implantable Flow Probe<sup>®</sup>, D = 2,5 oder 3,0 mm) wurde distal des Okkluders angelegt. Diese ermöglichte den Beweis dafür, dass während



Abb. 3.4: Dopplersonde

der späteren Inflation des Okkluders ein vollständiger Gefäßverschluss mit Nullfluss statt fand. Sowohl der Gefäßokkluder als auch die Sonde zur Flussmessung wurden zusätzlich so am angrenzenden Bindegewebe befestigt, dass sie sich in ihrer Lage nicht mehr verändern konnten. Somit wurde dem Risiko einer Torsion der Sonden und damit eines unbeabsichtigten Gefäßverschlusses wirksam vorgebeugt.

Im Folgenden wurde am Apex des Herzens in Höhe des linken Ventrikels eine Tabaksbeutelnaht mit einem Faden der Stärke 4/0 (Prolene<sup>®</sup>, Johnson & Johnson Ethicon



Abb. 3.5: Druckaufnehmer

GmbH, Norderstedt) angelegt. Nach Stichinzision und Aufbougieung wurde ein Druckaufnehmer (Königsberg Implantable Pressure Transducer<sup>®</sup>, D = 4,5 mm) in den linken Ventrikel eingebracht und mittels zweier Haltenähte am Epikard fixiert. Dieser war einige Millimeter distal des Transducers mit einer Verdickung versehen, um den

Transducer in der korrekten Position im Ventrikellumen zu halten und vor einem „Überwachsen“ durch das Endokard zu verhindern. Somit war die für eine exakte Messung nötige, korrekte Lage im Ventrikel gewährleistet.

Am Ort der späteren Ischämie sowie in einer Kontrollregion wurde je ein Paar Sonomikrometerkristalle zur absoluten myokardialen Wanddickenmessung (Triton

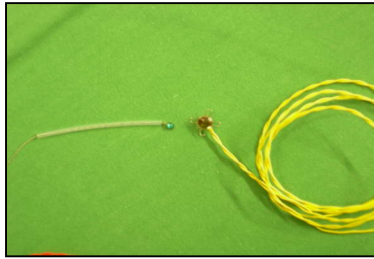


Abb. 3.6: Sonomikrometerkristallpaar

Sonomicrometer Monitoring System, Triton Ventricular Wall Thickness Transducer Set<sup>®</sup>, 5 MHz) befestigt. Dazu wurde ein Kristall nach vorheriger Punktion mit einer 18-Gauge-Kanüle schräg transmyokardial in eine subendokardiale Position gebracht. Diese war durch den vermehrten Widerstand am Übergang zum Endokard aufzufinden. Durch das schräge

Einstecken sollten Myokardschäden im Bereich zwischen den Kristallen vermieden werden. Es wurde besonders darauf geachtet, dass die Linse zum Epikard hin gerichtet war. Der zugehörige zweite Kristall wurde danach vertikal zum ersten auf das Epikard mit einem Faden der Stärke 5/0 (Prolene<sup>®</sup>, Johnson & Johnson Ethicon GmbH, Norderstedt) aufgenäht. Hierbei zeigte die Linse des Sonomikrometerkristalls in Richtung Endokard. Die Fixierung erfolgte in der Position, in der die stärksten und deutlichsten Signale erhältlich waren. Nachfolgend wurde das Herz zurück in seine physiologische Lage gebracht.

Im nächsten Operationsschritt wurde das linke Herzohr mit Hilfe einer Bulldogklemme



Abb. 3.7: „Tygon“-Katheter

partiell ausgeklemmt. An dieser Lokalisation wurde eine Tabaksbeutelnaht angelegt, um nach Stichinzision einen flüssigkeitsgefüllten, biokompatiblen 18-Gauge-Kunststoffkatheter (Eigenfabrikat aus Tygon-Tubing<sup>®</sup>, Norton Performance Plastics, Akron, Ohio, USA) zu implantieren.

Dieser diente der späteren Applikation von Medikamenten und Mikrosphären. Für die Tabaksbeutelnaht wurde ein Faden der Stärke 4/0 (Prolene<sup>®</sup>, Johnson & Johnson Ethicon GmbH, Norderstedt) verwendet.

Im Folgenden wurde der Truncus pulmonalis von der Aorta ascendens freipräpariert und mit



Abb. 3.8: Dopplerflusssonde

zwei Rektraktionsschläuchen (Ethiloop<sup>®</sup>, Johnson & Johnson Ethicon GmbH, Norderstedt) umschlungen. Unter leichtem Zug an den Schläuchen konnte eine Dopplerflusssonde (Transonic Implantable Flow Probe<sup>®</sup>, D = 20 mm) um den Truncus pulmonalis gelegt werden.

Zur Entnahme von arteriellen Blutproben wurde ein weiterer 18-Gauge-Tygon<sup>®</sup>-Katheter in der Aorta descendens platziert. Hierzu wurde die Aorta zunächst an der Implantationsstelle von der Tunica adventitia freipräpariert und tangential mit einer Satinsky-Klemme ausgeklemmt. Nach Anlage einer Tabaksbeutelnaht mit einem Faden

der Stärke 4/0 (Prolene<sup>®</sup>, Johnson & Johnson Ethicon GmbH, Norderstedt) wurde eine Stichinzision vorgenommen. Durch diese wurde der Katheter so weit wie möglich in den ausgeklemmten Bereich eingebracht und die Naht zugezogen. Hiernach erfolgte die Öffnung der Klemme, die Fixierung des Katheters an der Adventitia der Aorta descendens und ggf. weitergehende Blutstillung.

In gleicher Weise erfolgte die Implantation eines Druckaufnehmers (Konigsberg Combined Implantable Pressure and ECG Transducer<sup>®</sup>, D = 3,5 mm) in die Aorta descendens.

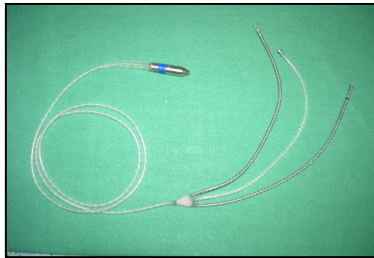


Abb. 3.9: Druckaufnehmer

Im letzten Schritt der Instrumentierung erfolgte die Fixierung eines intrathorakalen EKG. Hierzu wurden die zwei zusätzlichen Leiter des aortalen Druckaufnehmers an zwei diametrale Stellen der Pleura costalis aufgenäht. Um ein aussagefähiges EKG zu erhalten, wurde das erste Kabel in Herzspitzennähe und das zweite im Bereich der hinteren Pleurakuppel fixiert. Somit lag das Herz genau zwischen beiden Elektroden.

Daraufhin fand eine Überprüfung aller implantierten Instrumente auf Funktionsfähigkeit statt. Als Ergänzung zur postoperativen Schmerztherapie dienten Interkostalblockaden. Hierzu wurde Bupivacain (Carbostesin 0,25 %<sup>®</sup>, AstraZeneca GmbH, Wedel) vor Verschluss des Thorax um die Nervi intercostales an den kaudalen, proximalen Rippenrand des zweiten bis sechsten Interkostalraumes appliziert.

Anschließend wurden alle Katheter und Sonden im vierten Interkostalraum aus dem Thorax geleitet, durch Untertunnelung der Haut subkutan zum Nacken geführt und dort ausgeleitet und fixiert. Eine passagere Thoraxdrainage wurde vor dem Thoraxverschluss eingelegt (Absaugkatheter Typ „Ideal“<sup>®</sup>, B. Braun Melsungen AG, Melsungen). Daraufhin erfolgte die Adaptation der Rippen an drei verschiedenen Stellen mit einem Faden der Stärke 6 (Vicryl 6 BPT<sup>®</sup>, Johnson & Johnson Ethicon GmbH, Norderstedt). Vor dem vollständigen Verschluss des Thorax wurde die Lunge manuell gebläht, um Atelektasenbildung zu verhindern.

Weiterhin wurde die Wunde schichtweise mit resorbierbarem Faden der Stärke 2/0 (Vicryl<sup>®</sup>, Johnson & Johnson Ethicon GmbH, Norderstedt) verschlossen. Vor der Hautnaht, welche mit Einzelknopfnähten erfolgte, wurde die Lunge nochmals gebläht und die Drainage unter Aspiration entfernt. Dieses geschah jedoch erst dann, wenn weder Blut noch Luft aspirabel waren. Ein Fentanyl-Membranpflaster (Durogesic SMAT<sup>®</sup> 25/50 µg/h, Janssen-Cilag, Neuss) wurde im Nackenbereich aufgeklebt, was im Folgenden unter Punkt 3.2.3.2 detailliert behandelt wird. Auf die Hautnaht wurde eine Povidon-Jod-haltige Salbe (Betaisodona-Salbe<sup>®</sup>, Mundipharma GmbH, Limburg) dünn aufgetragen.

Zusätzlich wurde die Hautnaht mit Gazetupfern und einem Verband steril abgedeckt, um Nahtdehiszenzen und Beschädigungen der Sonden durch Reiben der Tiere zu verhindern. Als



Abb. 3.10: Jackenverband

Verband diente eine Leibbandage aus der Humanmedizin (NIKA Leibbandage®, NIKA, Krefeld). Diese wurde zu einer Art Jacke umkonstruiert, indem zwei Öffnungen für die Vordergliedmaßen ausgeschnitten wurden. Durch einen Klettverschluss am Rücken konnte dieser Jackenverband der jeweiligen Figur des Tieres

angepasst werden. Zusätzlich ermöglichte eine kleine, in die Bandage geschnittene Öffnung am Nacken einen speziellen Zugriff auf die Sonden und Katheter ohne die Bandage komplett zu öffnen.

### 3.2.2.5 Narkoseausleitung

Nach Implantation der letzten intrathorakalen Sonde wurde die kontinuierliche Fentanylapplikation beendet.

Bei Beginn der Hautnaht wurde auch die Ausleitung der Anästhesie begonnen, indem die Zufuhr des volatilen Anästhetikums beendet wurde. Mit einem Frischgasfluss von 15 l/Minute Sauerstoff wurde das Narkosegas ausgewaschen. Weiterhin wurde die Beatmung über assistierte Spontanatmung mit reinem Sauerstoff fortgeführt.

Es fanden regelmäßige Kontrollen von Lid-, Korneal- und Rüsselscheibenreflex statt.

Nach Abschluss der Hautnaht und Verbandanlage wurden die Tiere in Brust-Bauch-Lage gebracht, damit eine ausreichende und gleichmäßige Belüftung beider Lungenseiten gewährleistet war.

Zur Analgesie erfolgte eine intramuskuläre Applikation von 0,5 mg/kg KG Piritamid.

Nachdem eine stabile Hämodynamik, eine suffiziente Spontanatmung sowie ausreichende Reflexe vorhanden waren, wurde der Endotrachealtubus unter Applikation eines positiven Druckes als alveoläres Rekrutierungsmanöver entfernt.



Danach folgte eine Beobachtungsphase von mindestens zwei Stunden bis sichergestellt war, dass die Tiere ihre Vitalfunktionen im Weiteren selbstständig aufrechterhielten.

Währenddessen war immer die Möglichkeit zur Sauerstoffgabe, Maskenbeatmung, Medikamentengabe, erneuter Intubation und sogar der Reanimation gegeben.

### **3.2.3 Postoperative Phase**

#### **3.2.3.1 Monitoring**

Nach dem Eingriff wurden die Tiere in ihre, mit einer Wärmelampe versehene Box zurückgebracht. Damit ein ruhiges und stressarmes Umfeld gewährleistet war, wurden sie post operationem einzeln gehalten. Die Einzelhaltung diente zusätzlich der Vermeidung von Manipulationen an Verband, Wunde oder Sonden und Kathetern durch andere Tiere.

Es folgte eine Erholungsphase unter intensiver, engmaschiger Überwachung.

Die Visitationen fanden in den ersten 24 postoperativen Stunden im Abstand von drei bis vier Stunden statt. Es wurden hierbei das Allgemeinbefinden und die Vitalparameter unter Zuhilfenahme eines tragbaren Pulsoximeters (OxiMax NPB-40<sup>®</sup>, Nellcor, Pleasanton, CA, USA) kontrolliert. Bei Bedarf bestand die Möglichkeit einer zusätzlichen Sauerstoffzufuhr.

Am zweiten bis vierten postoperativen Tag wurden die Überwachungsintervalle auf sechs bis acht Stunden ausgedehnt. Ab dem fünften Tag wurden die Tiere bis zum Versuchsbeginn nach rund zehn Tagen zweimal täglich überprüft.

Dabei wurde bei jeder Visitation das Wohlbefinden der Tiere über ihr Trink-, Fress- und Spielverhalten kontrolliert. Da die Verhaltensprotokolle der einzelnen Schweine von der Zeit vor der Operation vorlagen, konnten die Verhaltensweisen verlässlich verglichen und Veränderungen genau dokumentiert werden.

Auch das Training wurde nach drei bis vier Tagen wieder aufgenommen und protokolliert.

Überdies war der Transport zum Aufenthalt im Labor zur täglichen Wund- und Katheterpflege wichtig.

### 3.2.3.2 Schmerztherapie

Zur postoperativen Schmerztherapie wurde ein transdermales System in Form eines Fentanyl-Membranpflasters (Durogesic SMAT<sup>®</sup> 25/50 µg/h, Janssen-Cilag, Neuss) verwendet.

Dieses wurde vor Wundverbandanlage in einer Dosierung von 50 µg/h nuchal auf eine rasierte Hautstelle geklebt. Demzufolge hatten die Tiere keine Möglichkeit, das Pflaster selber zu entfernen. Bis zum Wirkungseintritt wurde die Analgesie durch die, im Bedarfsfall auch wiederholte, intramuskuläre titrierende Applikation von Piritramid überbrückt.

Die Dosierung des Membranpflasters von 50 µg/h wurde nach drei Tagen auf 25 µg/h reduziert.

Nach weiteren zwei bis drei Tagen wurde die Schmerztherapie beendet, wobei besonderer Wert auf das Wohlbefinden der Tiere gelegt wurde.

Bei Anzeichen von Schmerzen, die sich vor allem durch Verhaltensänderungen wie z.B. Aggressivität oder Apathie sowie verzögerte oder sistierende Futter- und/oder Wasseraufnahme zeigten, konnte eine Fortsetzung der Schmerztherapie jederzeit eingeleitet bzw. adaptiert werden.

### 3.2.3.3 Wundpflege

Durch die Konstruktion des Jackenverbandes erhöhte sich die Praktikabilität bei der täglichen



Abb. 3.11: Schwein mit Jackenverband an Tag 10 p.op.

Wundkontrolle, da sie über den Klettverschluss einfach geöffnet und wieder verschlossen werden konnte. Nach Möglichkeit wurde die „Jacke“ bis zum Versuchsende nicht gewechselt, da diese Prozedur zusätzlichen Stress für die Tiere bedeutet hätte.

Die Wunde wurde einmal täglich mit sterilen Tupfern trocken gereinigt und wieder abgedeckt.

Auf eine weitere lokale Behandlung mit Povidon-Iod-haltiger Salbe wurde nach einigen Tagen verzichtet, wenn sich die Wunde in guter Abheilung befand.

Zeigten sich lokale Infektionen, wurde je nach Bedarf entweder mit einer jodhaltigen Lösung (Betaisodona Lösung<sup>®</sup>, Mundipharma GmbH, Limburg) oder mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gespült, um Zelldetritus und Keime zu entfernen.

#### **3.2.3.4 Medikamentöse Therapie**

Als Infektionsprophylaxe erhielt jedes Tier am Tag der Operation 6000 I.E./kg KG Benzylpenicillin-Benzathin, 1500 I.E./kg KG Benzylpenicillin-Procaïn und 7,5 mg/kg KG Dihydrostreptomycin (Langzeitpenicillin und Dihydrostreptomycin<sup>®</sup>, ani Medica GmbH, Senden-Bösensell) intramuskulär.

Zur Vermeidung einer Anämie wurde zusätzlich ein Eisen(III)-hydroxid-Dextran-Komplex (Medifer 200<sup>®</sup>, Medistar Arzneimittel-Vertrieb GmbH, Holzwickede) in einer Dosierung von 20 mg/kg KG intramuskulär verabreicht.

Eine Fortsetzung der Antibiose erfolgte intramuskulär in zweitägigem Abstand über insgesamt sechs bis acht Tage.

#### **3.2.3.5 Katheterpflege**

Bei der täglichen Wundkontrolle wurden alle Sonden und Katheter begutachtet. Jedes Kabel bzw. jeder Katheter war einzeln aufgerollt und in Mull verpackt, um Beschädigungen zu verhindern. Täglich wurden diese Mulltupfer erneuert.

Die beiden flüssigkeitsgefüllten Katheter mit Lage in der Aorta und im linken Atrium wurden einmal täglich gespült, um einer Thrombenbildung vorzubeugen und die Durchgängigkeit zu gewährleisten. Hierzu diente physiologische Kochsalzlösung mit Zusatz von Heparin (Liquemin N 5000<sup>®</sup>, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) in aufsteigender Konzentration. Begonnen wurde am ersten postoperativen Tag mit einem Heparinzusatz von 500 I.E./ml physiologischer Kochsalzlösung, am folgenden Tag wurden 1000 I.E./ml zugesetzt und ab dem dritten Tag 1500 I.E./ml. Je nach Thrombenbildung im jeweiligen „Tygon“-Katheter wurde die Heparinkonzentration in der Spüllösung adaptiert.

Im ersten Schritt wurde unbedingt aspiriert, um mögliche Thromben zu asservieren, damit diese nicht in den Systemkreislauf gelangen und zu einer arteriellen Embolie führen konnten. Durch diese Vorgehensweise sollte insbesondere ein ischämischer Hirninfarkt als wahrscheinlichste Folge eines transatrial bzw. transaortal eingebrachten Embolus verhindert werden, da als Konsequenz der Verlust des entsprechenden Tieres die Folge gewesen wäre.

Im nächsten Schritt wurde der gesamte Katheter gespült und sofort im Anschluss steril verschlossen. Während des gesamten Vorganges wurde besonders darauf geachtet, dass keine Luft in die Katheter gelangte, die unter Umständen ebenfalls zu Embolien führen könnte.

### **3.2.4 Versuchsprotokoll**

#### **3.2.4.1 Ausschluss- und Abbruchkriterien**

Bei Anzeichen einer das Allgemeinbefinden beeinträchtigenden Erkrankung wurden die Tiere von vornherein vom gesamten Versuchsvorhaben ausgeschlossen.

In der Erholungsphase nach der Operation wurde das Verhalten, insbesondere das Fress-, Trink- und Spielverhalten, genau kontrolliert und mit den Verhaltensweisen vor dem Eingriff verglichen.

Bei Auftreten von sichtlichem Unwohlsein, Sepsis oder hochgradiger, entlang der Katheter ziehender Wundinfektion wurde der Versuch sofort abgebrochen. Dieses erfolgte durch Euthanasie in tiefer Narkose.

Weitere Abbruchkriterien waren Dislokation bzw. Defekte einer oder mehrerer Sonden oder Katheter.

#### **3.2.4.2 Versuchsablauf**

Nach der postoperativen Erholungsphase von etwa zehn Tagen fand der eigentliche Versuch statt.

Jedes Tier absolvierte zwei unten beschriebene Versuchsphasen und war somit gleichzeitig Versuchs- und Kontrolltier. Der zweite Versuchsteil fand dabei erst nach Ablauf einer weiteren Erholungsphase von zehn Tagen statt. Er wurde analog zum ersten Teil durchgeführt, lediglich unterschied er sich in der verabreichten Substanz. Die Applikation der Testsubstanz bzw. des Placebos im ersten und zweiten Versuchsteil erfolgte in randomisierter Reihenfolge.

Vor Versuchsbeginn wurden Blutgase und Elektrolyte kontrolliert, da nur Tiere mit physiologischen Ausgangsparametern in den Versuch einbezogen wurden.

Alle Versuche wurden an wachen, nicht sedierten Tieren vorgenommen. Es wurden weder Analgetika noch andere arzneilich wirksame Substanzen verabreicht. Da alle Messsonden und

Katheter bereits implantiert waren, wurden den Tieren während der Versuche keine traumatischen Schmerzen zugefügt.

Im Folgenden ist der Versuchsablauf aufgelistet und schematisch dargestellt:

1. Messung unter Ausgangsbedingungen („Baseline Baseline“ [BLBL])
2. Applikation der Testsubstanz bzw. des Placebos
3. Messung unter Wirkung des jeweiligen Opioidrezeptorago- oder -antagonisten bzw. Placebo („Baseline“ [BL])
4. Induktion einer zehnmütigen Koronarischämie
5. Messungen während der Ischämiephase („Ischämie“ [ISCH])
6. Beginn der Reperfusionphase mit Messungen bis 72 Stunden nach Beendigung der Ischämie („Reperfusion“ [REPERF])

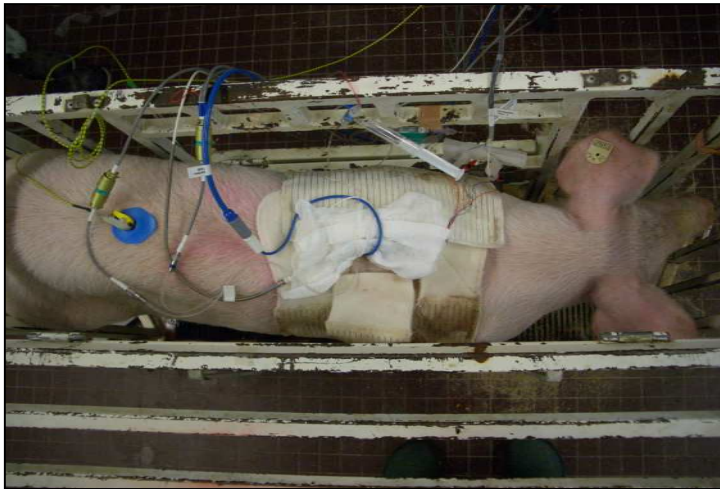


Abb. 3.12: Schwein während der Messung

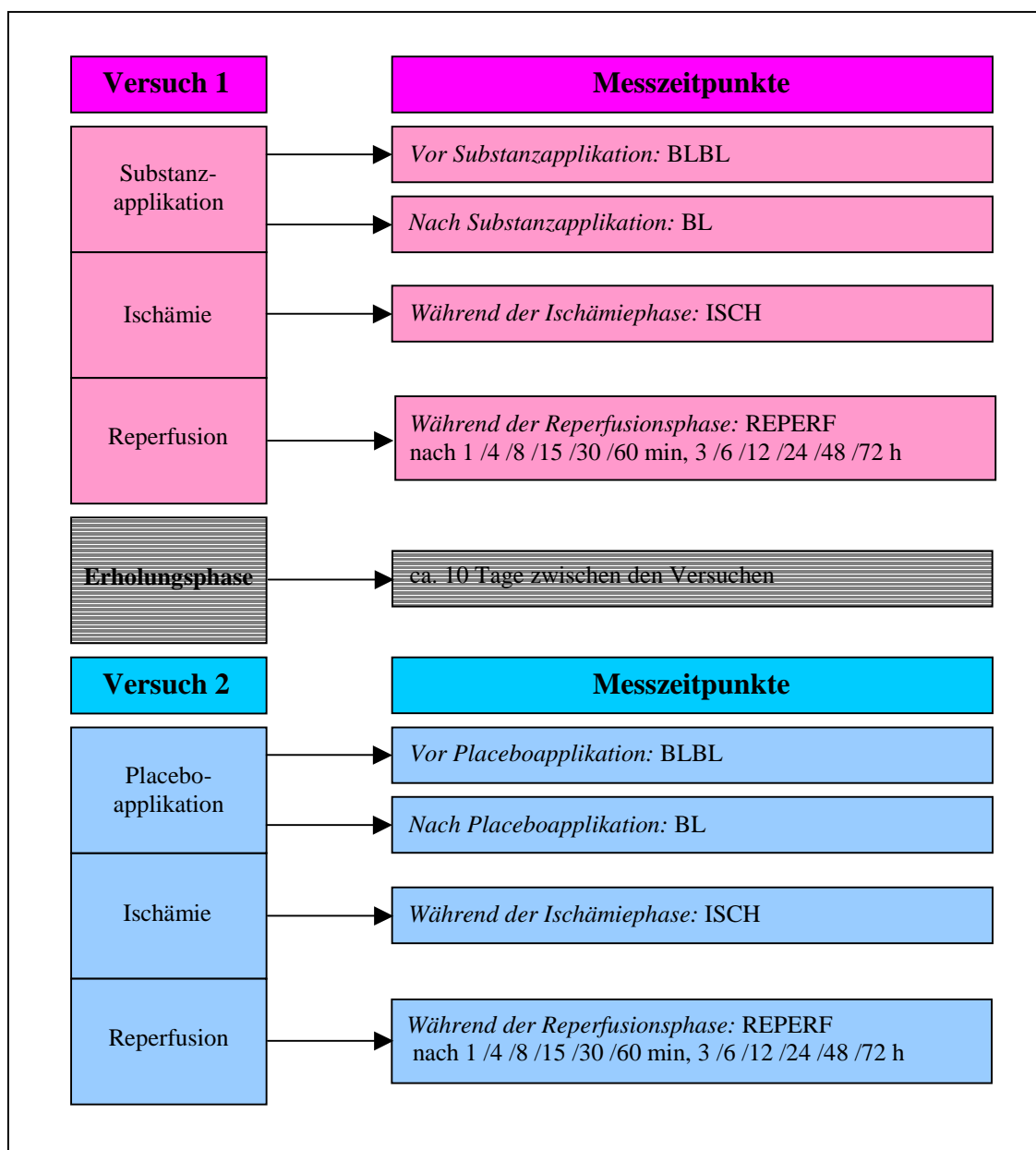


Abb. 3.13: Schema des Versuchsablaufs

Zu Beginn des Experiments wurde das jeweilige Tier im Transportkäfig in das Labor gebracht. Die im Nacken ausgeleiteten Kabel wurden über die obere Öffnung des Käfigs mit den Messgeräten verbunden.

Die Hämodynamik wurde während des gesamten Versuchs erfasst. Blutprobenentnahmen sowie Mikrosphärenapplikationen erfolgten zu vorher festgelegten Zeitpunkten. Alle Blutproben wurden aus dem aortal liegenden Katheter gewonnen.

Bei der ersten Messung (BLBL) wurden die Ausgangsdaten erhoben. Neben der Hämodynamik umfasste dieses die Blutprobengewinnung und Mikrosphärenapplikation.

Im nächsten Schritt wurde die jeweilige Substanz in einer zu 2 mg/kg KG äquimolaren Dosierung infundiert. Dieses geschah mit Hilfe einer Spritzenpumpe über einen Zeitraum von 30 Minuten.

Handelte es sich um einen Kontrollversuch, wurde die Testsubstanz durch ein gleiches Volumen physiologischer Kochsalzlösung ersetzt und über den gleichen Zeitraum infundiert. Im Anschluss erfolgte der zweite Messzeitpunkt (BL) mit erneuter Mikrosphärengabe und Blutprobenentnahme.

Eine Stunde nach Versuchsbeginn war die zehnminütige Ischämiephase vorgesehen. Sie wurde in Form einer Inflation des um den RIVA liegenden Okkluders durchgeführt. Eine Kontrolle der vollständigen Okklusion fand durch die Überprüfung des Signals der distal des Okkluders liegenden Dopplerflusssonde statt.

Nach drei Minuten Ischämiezeit wurde die dritte Mikrosphäreninjektion und Blutprobenentnahme begonnen (ISCH).

Nach zehn Minuten wurde die Ischämiephase beendet, womit die Reperfusionphase begann. Die letzte Mikrosphärengabe erfolgte nach einer Minute Reperfusionzeit.

Es folgten Blutprobenentnahmen nach vierminütiger, achtminütiger, 15-minütiger, 30-minütiger und 60-minütiger Reperfusion.

Nachdem die Hämodynamik bis zwei Stunden nach Ende der Ischämie aufgezeichnet war, wurde das Tier zunächst für eine Stunde zurück in den Stall gebracht.

Danach folgten jeweils nach drei, sechs, zwölf, 24, 48 und 72 Stunden Reperfusionzeit Messzeitpunkte mit Aufzeichnung der Hämodynamik sowie Entnahme von Blutproben.

Nach Ende des ersten Versuchs erhielten die Schweine eine weitere Erholungsphase von etwa zehn Tagen. Dieser Zeitabstand zwischen den beiden Versuchsteilen war notwendig zur Sicherstellung der vollständigen Erholung des Myokards, im Besonderen vom „myocardial stunning“. Dieses wurde gemessen an der absoluten myokardialen Wanddicke. Dadurch sollten mögliche Einflüsse einer vorhergehenden auf eine nachfolgende Ischämie ausgeschlossen werden. Zusätzlich wurde so die vollständige Elimination der entsprechenden Testsubstanz gewährleistet.

In dieser Zeit wurden die Schweine mindestens zweimal täglich visitiert, wobei sie davon einmal zur Wundkontrolle und Katheterpflege mit dem Transportkäfig in das Labor gefahren wurden.

Wiederum wurde dabei das Verhalten jedes einzelnen Tieres beobachtet und dokumentiert, um sicherzustellen, dass Krankheitsanzeichen sowie Verhaltensänderungen frühzeitig erkannt wurden.

### **3.2.5 Euthanasie**

Nach Beendigung des letzten Messzeitpunktes (72 Stunden nach Beginn der Reperfusion) im zweiten Versuchsteil wurde über den linksatrial liegenden Katheter eine Narkose mit 7,5 mg/kg KG Propofol und 50 µg/kg KG Fentanyl eingeleitet.

Wenn sich die Tiere in tiefer Narkose befanden, erhielten sie ebenfalls über den linksatrialen Katheter eine Bolusinjektion von 40 ml 7,45-prozentigem Kaliumchlorid (B. Braun Melsungen AG, Melsungen). Das hierauf einsetzende Kammerflimmern wurde elektrokardiographisch dokumentiert und für mindestens zehn Minuten bis zum Eintritt der Asystolie beobachtet. Anschließend erfolgte die Sektion.

### **3.2.6 Datenerfassung**

#### **3.2.6.1 Hämodynamik**

Die Parameter der Hämodynamik wurden analog über die „Acquisition Box“ des Software-Programms eingespeist, gespeichert und später ausgewertet.

Zu den Messzeitpunkten wurden folgende Parameter erfasst:

- Herzfrequenz
- Systemarterieller Druck
- EKG
- LVP
- Erste zeitliche Ableitung des linksventrikulären Drucks (LVdP/dt)
- Absolute myokardiale Wanddicke
- Blutflussgeschwindigkeit in der Koronararterie
- Blutflussgeschwindigkeit im Truncus pulmonalis



Weitere Parameter der ventrikulären Funktionen konnten aus den zuvor erhobenen Daten ermittelt werden. Diese waren wesentlich für die Bewertung des myokardialen Stunnings und beinhalteten folgende Größen:

- „tau“ als Maß für die diastolische Relaxation des Ventrikels
- Fluss-Volumen-Schleifen
- Druck-Volumen-Schleifen
- Absolute Myokardwanddicken zu bestimmten Zeitpunkten (endsystolisch, enddiastolisch)
- Relative Wanddickenänderungen
- Maximale linksventrikuläre Druckanstiegs- bzw. Druckabfallgeschwindigkeit (LVdP/dt<sub>max</sub>, LVdP/dt<sub>min</sub>)

### 3.2.6.2 Perfusionsmessung

Die Messung der regionalen Perfusion erfolgte mit Hilfe von fluoreszierenden Mikrosphären (Nuflow<sup>®</sup> 15 µm DIA Fluorescent Microspheres, Stason Pharmaceuticals, IMT, Ltd., Irvine, CA., USA).

Bei dieser Methode werden die Mikrosphären in das linke Atrium injiziert, um nach Durchmischung im Ventrikel mit dem arteriellen Blutstrom in die Organe verteilt zu werden. Entsprechend ihrer Größe sind die Mikrosphären später in den Kapillaren aller abhängigen Organe zu finden. Die Menge der Mikrosphären in den Organen und Geweben ist direkt proportional zum jeweiligen Organblutfluss.

Parallel zur Mikrosphäreninjektion wird mit definierter Geschwindigkeit eine Referenzblutprobe aus der Aorta aspiriert.

Nach folgender Formel lassen sich später der Blutfluss der einzelnen Organe sowie das Herzminutenvolumen berechnen:

$$O_g = \frac{M_g * S_r}{M_r}$$

O<sub>g</sub> = Organblutfluss pro Gramm (ml/min/g)

M<sub>g</sub> = Mikrosphärenzahl pro Gramm Gewebe

S<sub>r</sub> = Saugrate der Referenzblutprobe (ml/min)

M<sub>r</sub> = Mikrosphärenzahl in der Referenzblutprobe

Im beschriebenen Versuch wurden pro Applikationszeitpunkt fünf Millionen Mikrosphären einer definierten Farbe über den in das linke Atrium implantierten Katheter injiziert. Die Referenzblutprobe wurde über den aortal liegenden Katheter gewonnen.

Das Vorgehen orientierte sich exakt an der Beschreibung von Große Hartlage und Mitarbeitern (Große Hartlage et al., 2004).

Nach Beendigung des Vorgangs wurden alle Katheter und Leitungen sorgfältig gespült, um ein Verbleiben von Mikrosphären zu verhindern.

Die Organperfusion wurde bei jedem Tier in vier verschiedenen Phasen des Experiments untersucht, da jeweils vier verschiedene Mikrosphärenfarben zusammen verwendet werden konnten:

1. unter Ausgangsbedingungen
2. unter Wirkung des jeweiligen Opioidrezeptorago- oder -antagonisten bzw. Placebo
3. nach drei Minuten Ischämiezeit
4. nach einer Minute Reperfusionzeit

#### **3.2.6.3 Laborchemie**

Zu jedem Messzeitpunkt wurden vier Blutproben von je 10 ml über den aortal liegenden Katheter gewonnen.

Davon enthielten drei Probenröhrchen als Antikoagulans den Chelatbildner EDTA (Sarstedt Monovette<sup>®</sup>, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht), wovon zwei Röhrchen zusätzlich mit 500 µl Aprotinin zur Proteinaseinhibition (Trasylo<sup>®</sup>, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) befüllt waren.

Ein viertes Gutathion-haltiges Blutentnahmeröhrchen mit EGTA als Antikoagulans diente zur späteren Bestimmung der endogenen Katecholamine (Kabevette 502 N<sup>®</sup>, Kabe Labortechnik, Nümbrecht).

Die Proben wurden bei einer Temperatur von  $-4\text{ °C}$  mit 3000 U/Minute über 20 Minuten zentrifugiert. Das Plasma wurde sogleich aliquotiert und bei  $-70\text{ °C}$  tiefgefroren, um es für die spätere Analyse zu konservieren.

### 3.2.6.4 Gewebeproben

Nach Euthanasie erfolgte die Sektion mit Explantation der Sonden und Entnahme der Gewebeproben. Zur Analyse der regionalen Perfusion (Mikrosphärenkonzentration) wurde von den folgenden Organen eine definierte Gewebemenge (2,5 – 3 g) entnommen und auf vier Dezimalen exakt gewogen:

- Ösophagus (proximal/distal)
- Magen (proximal/distal)
- Duodenum (proximal/distal)
- Jejunum (proximal/distal)
- Ileum (proximal/distal)
- Kolon (proximal/distal)
- Pankreas (Lobus pancreatis sinister/Lobus pancreatis dexter)
- Leber (Lobus hepatis sinister lateralis/Lobus hepatis sinister bzw. dexter medialis/Lobus hepatis dexter lateralis)
- Niere (Cortex renalis/Medulla renalis)
- Milz
- Haut (M.-deltoideus-Region/M.-glutaeus-Region)
- Muskulatur (M. deltoideus/M. glutaeus)
- Herz (jeweils Endokard und Epikard getrennt aus den Versorgungsgebieten folgender Koronarien: RIVA, RCX, RCA)

Außerdem wurde parallel eine Organprobe zur histomorphologischen Untersuchung gewonnen. Alle Proben wurden mit einer 3,5 – 3,7 %igen gepufferten Formaldehydlösung (Otto Fischechar GmbH & Co. KG, Saarbrücken) fixiert.

Die Untersuchung der Mikrosphärenkonzentration in den einzelnen Organen erfolgte als Auftragsanalyse (Stason Pharmaceuticals, IMT, Irvine, CA, USA).

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Gruppeneinteilung**

An der Studie nahmen drei Gruppen von Schweinen mit insgesamt 13 Tieren teil.

Gruppe 1: drei Tiere der Kreuzung aus Deutscher Landrasse und Yorkshire

Gruppe 2: vier Tiere der Hybridzucht Westhybrid

Gruppe 3: sechs Tiere der Kreuzung aus Britischer Landrasse und Large White

### **4.2 Ergebnis Gruppe 1**

#### **4.2.1 Präoperative Phase**

Alle Schweine dieser Gruppe verhielten sich von Anfang an sehr misstrauisch und näherten sich den betreuenden Personen nur langsam. Auf Bewegungen und Geräusche reagierten sie sehr schreckhaft mit aufgeregten Grunzlauten und hastiger Flucht. Dieses Verhalten änderte sich während der gesamten Trainingszeit nur unwesentlich. Die Tiere blieben zurückhaltend und waren darauf bedacht, den Schutz der Gruppe zu suchen. Sie betraten den größeren Transportwagen nach vier bis fünf Tagen zögerlich, versuchten jedoch bei Verschluss der Klappen aus diesem wieder heraus zu springen. Der kleinere Käfigwagen wurde besser akzeptiert, aber erst am Ende der Trainingswoche war ein Transport der Tiere in das Labor möglich.

#### **4.2.2 Perioperative Phase**

##### **4.2.2.1 Anästhesie**

Als Prämedikation erhielten die Tiere am Vorabend der Operation oral Flunitrazepam. Zur Sedierung wurde am Operationstag eine Kombination von Azaperon, Ketamin und Piritramid intramuskulär appliziert. Bei der Injektion reagierten die Tiere mit hastigen Bewegungen, Kopfschütteln und Quietschlauten. Während der Einschlafphase verhielten sich die Tiere sehr unruhig und schreckhaft. Während der Narkoseeinleitung und im weiteren Verlauf der

Instrumentierung zeigten alle Tiere dieser Gruppe eine Herzfrequenz von bis zu 180 Schlägen pro Minute. Eine invasive Blutdruckmessung fand in dieser Gruppe nicht statt.

#### **4.2.2.2 Instrumentierung**

Alle drei Tiere verstarben während der Instrumentierung in Folge von nicht therapierbarem Kammerflimmern. Dieses trat in allen Fällen während der Manipulation am RIVA auf. Es entstand als Folge einer Myokardischämie, die durch die reaktive Kontraktion der Arterie ausgelöst wurde. Es ließ sich keine Konversion des Kammerflimmerns durch Defibrillation und Anwendung verschiedener Pharmaka erzielen.

#### **4.2.3 Postoperative Phase**

Durch den intraoperativen Verlust der Tiere entfiel diese Phase bei Gruppe 1.

### **4.3 Ergebnis Gruppe 2**

#### **4.3.1 Präoperative Phase**

Die vier Schweine dieser Gruppe zeigten sich in der Eingewöhnungsphase verhalten, waren jedoch weniger schreckhaft als die Tiere der ersten Gruppe. Sie rannten bei Bewegungen oder Geräuschen nicht sofort weg, sondern hielten zunächst inne, bevor sie eventuell mit Flucht reagierten. Beim Freilauf in der Stallgasse begegneten sie den betreuenden Personen mit großer Neugier und wurden mit jedem Tag zutraulicher. Je nach Temperament des einzelnen Tieres ließen sie sich früher oder später auch gerne streicheln. Zwei Tiere betraten den Käfigwagen freiwillig am dritten Tag, die anderen beiden Tiere der Gruppe folgten dem Verhalten am vierten Tag. Der Transport in das Labor erfolgte mit viel Interesse der Tiere, wengleich sie über Grunzlaute den Kontakt zu den im Stall verbliebenen Schweinen suchten. Sie verhielten sich dabei zu keinem Zeitpunkt nervös. Insgesamt waren diese Tiere äußerst gelehrig und freuten sich nach Eindruck der Betreuer auf die tägliche Beschäftigung.

### **4.3.2 Perioperative Phase**

#### **4.3.2.1 Anästhesie**

Die Tiere erhielten am Vorabend der Operation oral Diazepam, Clonidin sowie Metoprolol. Am Tag der Operation wurden sie mit einer Kombination von Azaperon, Ketamin und Piritramid prämediziert. Auch in dieser Gruppe zeigten die Tiere während der Applikation deutliche Abwehrreaktionen. In der 20- bis 30-minütigen Einschlafphase verhielten sich alle Tiere trotz reizarmer Umgebung unruhig.

Bei dieser Gruppe wurde der Blutdruck nach Anlage einer arteriellen Verweilkanüle kontinuierlich invasiv gemessen, überwacht und gegebenenfalls durch Pharmaka stabilisiert. Bei allen Tieren wurde nach Sedierung eine stabile Herzfrequenz von 60 bis 80 Schlägen pro Minute gemessen.

#### **4.3.2.2 Instrumentierung**

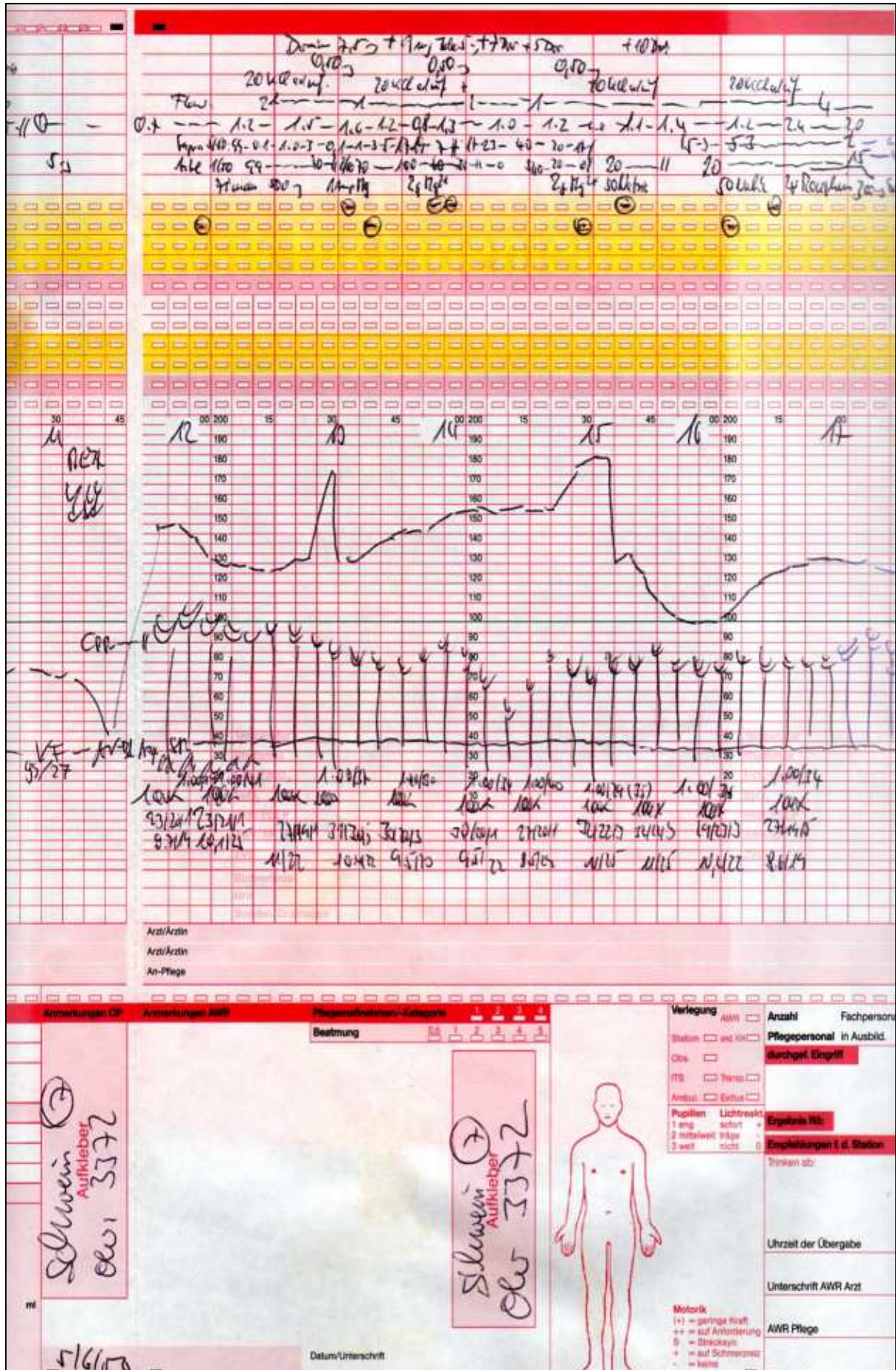
Bei drei Tieren kam es im Laufe der Operation zum Kammerflimmern, welches durch Myokardischämien verursacht wurde und zum Tod der Tiere führte. Dieses trat bei zwei Tieren als reaktiver Vasospasmus unmittelbar unter Manipulation am RIVA auf.

In einem Fall resultierte die Ischämie während des weiteren Verlaufs der Präparation aus der Torsion der Dopplerflussonde auf dem RIVA trotz der beschriebenen Fixierungstechnik. Es kam somit zu einer mehrminütigen Flussunterbrechung mit nachfolgendem ischämisch bedingten irreversiblen Kammerflimmern.

Bei einem weiteren Tier dieser Rasse kam es während der Koronarpräparation zum Kammerflimmern, welches jedoch durch Defibrillation behoben werden konnte. Im Folgenden stieg die Herzfrequenz auf 130, zum Teil auch bis auf 180 Schläge pro Minute an und betrug am Operationsende 120 Schläge pro Minute.

Dieses Schwein verstarb jedoch trotzdem nach erfolgreicher Operation an einem Pneumothorax. Dieses ereignete sich direkt nach der Extubation. Das Schwein zeigte eine deutliche respiratorische Insuffizienz, welche auf eine iatrogene Schädigung des N. phrenicus durch die Defibrillation zurückzuführen war. Bei der Obduktion konnte eine Durchtrennung des linken N. phrenicus festgestellt werden.

Ein Ausschnitt des Narkoseprotokolls dieses Schweins ist im Folgenden abgebildet.



### 4.3.3 Postoperative Phase

Durch den Verlust aller Tiere entfiel diese Phase bei Gruppe 2 ebenfalls.

## 4.4 Ergebnis Gruppe 3

### 4.4.1 Präoperative Phase

Die sechs Tiere dieser Gruppe verhielten sich, ähnlich wie bei der zweiten Gruppe, anfangs eher zurückhaltend, aber keineswegs schreckhaft. Die meisten gingen neugierig auf die betreuenden Personen zu und ließen sich nach einigen Tagen auch streicheln; ein Tier blieb weiter misstrauisch. Den Käfigwagen betraten drei Tiere schon zwei Tage nach Trainingsbeginn, zwei brauchten dazu drei Tage, während ein Tier erst nach fünf Tagen auf den Wagen stieg. Dieses war beim Transport in das Labor recht unruhig und drehte sich fast ununterbrochen im Wagen um. Als Konsequenz wurde es in den folgenden Tagen deutlich länger und intensiver beschäftigt. Daraufhin wurde es weniger hektisch, verhielt sich ruhig und drehte sich ab und zu nur noch langsam im Wagen um. Ein weiteres Tier grunzte während des Aufenthalts im Käfigwagen ununterbrochen, bewegte sich dabei jedoch kaum



Abb. 4.1: Training Laboraufenthalt

und machte auch keinen nervösen Eindruck. Drei Schweine legten sich wenige Tage, nachdem sie den Wagen zum ersten Mal betreten hatten, sofort darin hin und schliefen während des Aufenthalts im Labor sehr schnell ein. Ein Tier verhielt sich von Beginn der Trainingsphase an außergewöhnlich ruhig und fiel im weiteren Verlauf als Kümmerer auf (s. Punkt 4.4.2).

Insgesamt waren alle Tiere enorm lernfähig und am Ende der Trainingsphase sehr zutraulich.



#### **4.4.2 Ausschluss**

Ein Tier dieser Gruppe wurde von vornherein von der Operation ausgeschlossen.

Es zeigte im Verlauf der Trainingsphase Symptome des „Postweaning Multisystemic Wasting Syndroms“ (PMWS). Diese Erkrankung wird durch ein porcines Circovirus (PCV 2) hervorgerufen, welches sich nach Infektion in zahlreiche Organe verbreitet. Betroffen sind vor allem das lymphatische System, Lunge, Leber und Niere.

Das Tier fiel zunächst als Kümmerer auf. Es zeigte Inappetenz, Apathie und Gewichtsabnahme. Hinzu kamen respiratorische Symptome in Form von Husten und eitrigem Nasenausfluss. Überdies wurden Fieber und Polyarthritiden festgestellt. Im Folgenden traten Vergrößerungen der peripheren Lymphknoten und Hautveränderungen auf, die sich als gluteale Effloreszenzen darstellten. Somit erfüllte dieses Tier die aufgestellten Ausschlusskriterien und wurde aufgrund seines schlechten Allgemeinzustandes und der ungünstigen Prognose euthanasiert.

#### **4.4.3 Perioperative Phase**

##### **4.4.3.1 Anästhesie**

Die Prämedikation erfolgte am Tag der Operation durch Applikation einer Kombination von Tiletamin, Zolazepam und Xylazin intramuskulär. Da das Injektionsvolumen dieser Arzneimittelkombination deutlich kleiner war als das, welches bei den ersten beiden Gruppen verabreicht wurde, zeigten die Tiere während der Applikation kaum Abwehrreaktionen. Die Einschlafphase verlief für die Tiere stressarm. Es lagen keine Anzeichen von Unruhe vor. Wenige Minuten nach der Injektion legten sich die Tiere ab und schliefen ruhig. Der arterielle Blutdruck wurde regelmäßig invasiv gemessen und überwacht. Die Tiere zeigten nach Prämedikation eine Herzfrequenz von etwa 100 Schlägen pro Minute.

##### **4.4.3.2 Instrumentierung**

Bei allen Tieren dieser Gruppe lag zu Beginn der Operation ein stabiler Blutdruck vor.

Bei einem Tier der Gruppe kam es, bedingt durch einen relevanten operativen Blutverlust während der Präparation an der Aorta descendens, zu einem massiven Blutdruckabfall, der mit den zur Verfügung stehenden Mitteln nicht adäquat zu therapieren war. Die daraus

resultierende Mangel durchblutung und Minderversorgung des Myokards mit Sauerstoffträgern führte zu irreversiblen Kammerflimmern.

Bei den weiteren Tieren konnte eine stabile Hämodynamik über den gesamten Operationsverlauf verzeichnet werden. Die Herzfrequenz lag vor Thorakotomie zwischen 100 und 120 Schlägen pro Minute, sank aber bei Eröffnung des Thorax bei allen Tieren auf 50 bis 60 Schläge pro Minute. Hierdurch war eine Präparation am Herzen, besonders aber der Koronarien deutlich leichter möglich.



Abb. 4.2: Weaning

Insgesamt vier Tiere dieser Gruppe wurden erfolgreich operiert. Ein kritischer Zeitpunkt war die Extubation. Beim Weaning vom Respirator gelang es den Tieren nur zögerlich, adäquate Tidalvolumina zu generieren. Vom Operationsende bis zur Extubation verging mitunter ein Zeitraum von drei Stunden. Ein Tier dieser Rasse verstarb etwa zwei Stunden post extubationem an

einem Spannungspneumothorax, was durch die Obduktion bestätigt wurde. Eine okkult frakturierte Rippe im Bereich der Thorakotomie führte zu einer Perforation und Durchspießung der Lunge und war so ursächlich für den Spannungspneumothorax.

Somit konnten drei Tiere bis in den Versuch geführt werden.

Im Folgenden ist das Narkoseprotokoll eines erfolgreich operierten Tieres abgebildet.

**Pharmakol. folgt**

<input type="checkbox"/>	Naloxon
<input type="checkbox"/>	Neostig.
<input type="checkbox"/>	Physost.
<input type="checkbox"/>	Flumaz.
<input type="checkbox"/>	MCP
<input type="checkbox"/>	S-HT3-RA

*Handwritten notes:* 10, 50mg, 3.5, 3.5

**Arzt/Ärztin**  
**Arzt/Ärztin**  
**An-Pflege**

Bestimmung	1	2	3	4
Verlegung AWR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Station und HH	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ota	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ITS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Arzt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pupillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lichtreakt.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1 eng	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 mittelweit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 weit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Motorik	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1+) = geringe Kraft	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
++ = auf Anforderung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0 = Streckarm	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1 = auf Schmerzreiz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 = keine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Instrumentierung**

**Ergebnis:** Sofort.

**Empfehlungen I & II:** Trinken ab.

**Uhrzeit der Übergabe:**

**Unterschrift AWR Arzt:**

**AWR Pflege:**

**Datum/Unterschrift:**

**Schwein Mr. A2 Aufkleber**

Folgeblatt				Ultraschall Protokollbeginn											
Datum				Uhrzeit											
<b>Einleitung</b> Anästhesietechnik: Atemweg: Gerätetyp: Regionale: Nadel: Funktion: Tiefe des Epid.-raumes: Testdosis: Anästhetika: Opioid: Zusatz: Zugänge: periph. Venos: Zentral Venos: Arteriel: OP-Ort: Gewebe: bis Eingriffe: Lagerung: Besonderheiten: Personal: operativer Ansprechpartner: <i>Thürken</i> Anästhesieverlaufsbeobachtung:				Dr. Müller (Mg) 10 Fischer (2006) 7 Fluo 0.4 Suro 1.1 Doppelbesetz. Arzt D. Pflege D. Stand by keine OP Transport Kath.-Art. Herzsystem Monitoring: Multitrassen Aufgbe: Wärme: Oettl: Inf: Lampe: RR Inv: Käte: ZVD: MS: RSI: PAP: Bronch: PCWP: Reper int: Hypodyn: SM: Oettl: CF: Rean: EES: DR: Relax: SPC: IAT: Temp: PICOO: Saal: Eingriff in Einl.: Verlaufsbeobachtung: Bilanz OP € 100,- Bilanz AWH: Anmerkungen OP: Krist. Koll. FFP Blut Einuhr Urin Blut Sonden Aushuhr Abordnungen für AWH: Labor: Lagerung: Flüssigkeit: Rest + ml Analgete: Sonst: 20.10.04											
Anästhesieverlaufsbeobachtung (Table with columns 1-4 and rows for various parameters like HR, RR, SpO2, etc.)				(Table with columns 1-5 and rows for various parameters like Hb, Hct, Thro, Quich, FTT, Na+, etc.)											


Arzt/Arztin \_\_\_\_\_

Arzt/Arztin \_\_\_\_\_

An-Pflege \_\_\_\_\_

Anmerkungen AWR	Pflegemaßnahmen/ Kategorie				
	<b>Beatmung</b>	0.5	1	2	3

Schwani Nr. 12

Aufkleber

**Verlegung** AWR

Stellen  and

Otk.

ITS  Temp.

Artub.  Exh.

Pupillen Lichttraekt

1 org. sofort

2 mittelw. träge

3 weit nicht

**Anzahl Fachpersonal**

**Pflegepersonal** In Ausbild.

**Bundg. Eingriff**

**Ergebnis RA**

**Eingeh. (E & Stab)**

Trinken ab:

Sofort.

Uhrzeit der Übergabe

Unterschrift AWR Arzt

AWR Pflege

Motirik (+) = geringe Kraft

++ = auf Anforderung

S = Strookayn

+ = auf Schmerzmittel

Datum/Unterschrift \_\_\_\_\_

- 54 -

Folgebblatt		Uhrzeit Protokollbeginn	
Datum: 05.08.2018		Einrichtung: ...	
Anästhesietechnik: ...		Anästhesie: ...	
Gerätetyp: ...		Einfuhr: ...	
Nadel: ...		Doppelbesetz: ...	
Punktion: ...		Stand by: ...	
Tiefe des Epid.-raumes: ...		Kath.-Art: ...	
Anästhetika: ...		Herzstrom: ...	
Zugänge: ...		Monitoring: ...	
Zentral Venöse: ...		Maßnahmen: ...	
Arterie: ...		ENG ST: ...	
OP-Ort: ...		12H ENG: ...	
Dusche: ...		RR Ho: ...	
Legung: ...		ZVO: ...	
Personal: ...		HZV: ...	
Verlaufsbeobachtung: ...		MAP: ...	
operativer Ansprechpartner: ...		PCWP: ...	
Anfallsbeobachtung: ...		TEE: ...	
Labor: ...		ICP: ...	
Blanz OP: ...		EEG: ...	
Blanz AWR: ...		Relax: ...	
Anmerkungen OP: ...		AT: ...	
Flüssigkeit: ...		Temp: ...	
Analgesie: ...		PICO: ...	
Sonst: ...		Blanz: ...	

*Handwritten notes:*  
 - 1.4 - 7.6  
 - 1.0 - 0.5  
 - 1.4  
 - 20  
 - 21  
 - 36.1°C, 36.1°C, 36.2°C, 36.3°C, 36.3°C  
 - Stunden W. 12  
 - Aufkleber  
 - 20.10

**Protokoll folgt**

**Medikation:** Naloxon, Neostig, Physost, Flumaz, MCP, 5-HT3-RA, Antidot 35

**Handwritten Notes:** 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000

**Vital Signs:** 2, 27, 240, 38.2, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200

**Respiratory:** 100%, 100%

**Temperature:** 36.6, 36.7, 36.8, 36.9, 37.0, 37.1, 37.2, 37.3, 37.4, 37.5, 37.6, 37.7, 37.8, 37.9, 38.0, 38.1, 38.2, 38.3, 38.4, 38.5, 38.6, 38.7, 38.8, 38.9, 39.0, 39.1, 39.2, 39.3, 39.4, 39.5, 39.6, 39.7, 39.8, 39.9, 40.0

**Arzt/Arztin:** [Handwritten signature]

**An-Pflege:** [Handwritten signature]

**Verlegung:** AWR, Station, Obi, ITS, Anzahl, Pupillen, Lichtreakt

**Anzahl Fachpersonal:** 1, 2, 3, 4

**Pflegepersonal in Ausbildung:** 1, 2, 3, 4

**Motork:** (+) = geringe Kraft, ++ = auf Anforderung, S = Streckkraft, + = auf Schmerzreiz, - = keine

**Handwritten Notes:** Aktivieren v. Tris (Epizentrum) Drücken -> f. adiq. Spontan-... 2. Schrit v. Tris -> 2. Schritt... 3. Schritt... 4. Schritt... 5. Schritt... 6. Schritt... 7. Schritt... 8. Schritt... 9. Schritt... 10. Schritt... 11. Schritt... 12. Schritt... 13. Schritt... 14. Schritt... 15. Schritt... 16. Schritt... 17. Schritt... 18. Schritt... 19. Schritt... 20. Schritt... 21. Schritt... 22. Schritt... 23. Schritt... 24. Schritt... 25. Schritt... 26. Schritt... 27. Schritt... 28. Schritt... 29. Schritt... 30. Schritt... 31. Schritt... 32. Schritt... 33. Schritt... 34. Schritt... 35. Schritt... 36. Schritt... 37. Schritt... 38. Schritt... 39. Schritt... 40. Schritt... 41. Schritt... 42. Schritt... 43. Schritt... 44. Schritt... 45. Schritt... 46. Schritt... 47. Schritt... 48. Schritt... 49. Schritt... 50. Schritt... 51. Schritt... 52. Schritt... 53. Schritt... 54. Schritt... 55. Schritt... 56. Schritt... 57. Schritt... 58. Schritt... 59. Schritt... 60. Schritt... 61. Schritt... 62. Schritt... 63. Schritt... 64. Schritt... 65. Schritt... 66. Schritt... 67. Schritt... 68. Schritt... 69. Schritt... 70. Schritt... 71. Schritt... 72. Schritt... 73. Schritt... 74. Schritt... 75. Schritt... 76. Schritt... 77. Schritt... 78. Schritt... 79. Schritt... 80. Schritt... 81. Schritt... 82. Schritt... 83. Schritt... 84. Schritt... 85. Schritt... 86. Schritt... 87. Schritt... 88. Schritt... 89. Schritt... 90. Schritt... 91. Schritt... 92. Schritt... 93. Schritt... 94. Schritt... 95. Schritt... 96. Schritt... 97. Schritt... 98. Schritt... 99. Schritt... 100. Schritt

**Datum/Unterschrift:** [Handwritten signature]

#### 4.4.4 Postoperative Phase



Abb. 4.3: Verhalten p.op.

Bis zum Beginn des Versuchs wurden die drei Schweine kontinuierlich überwacht und weiter trainiert. Kriterien zum Abbruch des Experiments lagen zu keinem Zeitpunkt vor. Es waren keine Anzeichen von Infektionen oder reduziertem Allgemeinbefinden vorhanden. Die Tiere zeigten sich fröhlich und aufmerksam im Training und bei der täglichen

Wundkontrolle bemerkenswert kooperativ. So betraten die meisten Tiere bei Anblick des Transportwagens diesen sofort freudig und freiwillig. Durch die einfache Handhabung des Jackenverbandes ließen die Schweine den Verbandswechsel mit Überprüfung der Sonden und Spülung der Katheter ohne weiteres zu.

#### 4.4.5 Versuchsdurchführung Teil I

Im ersten Versuchsteil kam es zum Exitus eines Tieres. Dieser resultierte aus der Lage des um den RIVA liegenden Gefäßokkluders. Aus anatomischen Gründen war bei diesem Tier eine Präparation nur proximal des ersten Diagonalastes der Arterie möglich. Dadurch entstand während der durch Inflation des Okkluders herbeigeführten Ischämiephase ein zu ausgedehntes Ischämieareal, das die gesamte Vorderwand des Herzens umfasste. Diese ausgeprägte Ischämie bedingte nachfolgend ein irreversibles Kammerflimmern mit anschließendem Exitus des Tieres.

Beide anderen Schweine zeigten sich im ersten Versuchsteil sehr ruhig. Während der Ischämiephase waren keine Veränderungen im Verhalten zu erfassen. In der längsten Phase der Messungen und der Datenerfassung bis zur vorläufigen Rückkehr in den Stall schliefen die Tiere überwiegend.



Bei dem wiederholten Transport in das Labor entstanden keine Probleme. Gab es nur sehr



Abb. 4.4: Fressverhalten 14 Tage p.op.

kurze Erholungsphasen im Stall, benötigte lediglich der Einstieg in den Transportwagen einen etwas längeren Zeitraum. Durch das Vertrauen, welches die Tiere zu den beteiligten Personen aufgebaut hatten, gelang jedoch auch in solch einer Situation und unter relativem Zeitdruck der Einstieg ohne jede Form von Stress oder gar Gewaltanwendung.

In der dem ersten Versuchsteil folgenden Erholungsphase traten weder beim Training noch bei der Wundkontrolle Probleme bei der Arbeit mit den Tieren auf.

Abbruchkriterien lagen zu keinem Zeitpunkt vor.

#### 4.4.6 Versuchsdurchführung Teil II

Während des zweiten Versuchsteils verstarb ein weiteres Tier dieser Gruppe. Es hatte im ersten Versuchsteil die Testsubstanz (Naltrexon) erhalten und das Experiment erfolgreich



Abb. 4.5: Schwein 6 Wochen p.op.

absolviert. Entsprechend des geplanten Versuchsablaufs wurde vor der Ischämiephase des zweiten Versuchsteils ein Placebo verabreicht. Während der folgenden Myokardischämie kam es zu Kammerflimmern und zum Tod des Tieres.

Ein letztes Tier dieser Gruppe überlebte beide Versuchsphasen. Es wurde demgemäß weit länger als sechs Wochen betreut und zeigte im gesamten Verlauf keine Anzeichen von Unwohlsein oder Infektionen. Es wurde nach Beendigung der Experimente in tiefer Narkose euthanasiert. Alle Daten der in den Versuch geführten Tiere konnten ausgewertet werden.

## 5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit soll die Entwicklung eines neuen Tiermodells zur Untersuchung der Opioidrezeptormodulation auf die regionale, postischämische myokardiale Dysfunktion beschrieben werden.

Bisher haben sich nur wenige Arbeitsgruppen mit dieser Thematik beschäftigt; so wurden die bisherigen Studien dieser Arbeitsgruppen entweder unter Verwendung von kleinen Labortieren (Kato und Foex, 2000; Kodani et al., 2002; Wu et al., 2002; Peart und Gross, 2004) oder Hunden durchgeführt (Ross et al., 1998; Weber et al., 2001; Weber et al., 2002; Große Hartlage, 2002; Große Hartlage et al., 2006). Lediglich eine Arbeitsgruppe verwendete zu diesem Zweck ein Modell am akut instrumentierten Schwein (Sigg et al., 2002).

Diese Arbeit zeigt, dass die Umstellung des Großtiermodells vom Hund auf das chronisch instrumentierte Schwein prinzipiell sinnvoll und möglich ist. Im Folgenden sollen Gründe, Vorteile und Schwierigkeiten der Entwicklung kritisch diskutiert werden.

### 5.1 Wahl der Tierart

Der Einsatz von Hunden im Rahmen von experimentellen Untersuchungen hat sich in den letzten Jahrzehnten deutlich verändert. Das liegt Swindle zufolge vor allem daran, dass der Hund aus traditionellen statt rationalen Gründen eingesetzt wurde (Swindle, 1984). Eine enge anatomische oder physiologische Ähnlichkeit zum Menschen ist jüngeren Erkenntnissen zufolge nicht gegeben (Swindle, 1984). Weiterhin wirkt sich nachteilig aus, dass der Hund in der heutigen Zeit ausschließlich als Haustier betrachtet wird, was das Ansehen von Tierversuchen mit dieser Tierart deutlich negativ beeinträchtigt hat (Swindle, 1984; Verdouw et al., 1998). Auch die tierschutzrechtlichen Regelungen sind im Vergleich zu anderen Tierarten inzwischen deutlich strenger geworden. Grundsätzlich gelten für Versuchshunde die Bestimmungen der Tierschutz-Hundeverordnung (Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, 2003). Diese fordert, dass mehrere Hunde in Gruppen gehalten werden müssen und jedem Tier mindestens sechs Quadratmeter Bodenfläche zur Verfügung stehen. Zusätzlich wird der Einfall natürlichen Tageslichts verlangt. Es muss weiterhin für ausreichend Auslauf gesorgt werden (Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, 2001). In Anlehnung an eine Veröffentlichung der Gesellschaft für Versuchstierkunde sollen die Ausläufe mindestens eine Größe von 1 – 1,5 m x 3 – 6 m haben (GV-SOLAS, 1988). Somit erfordert die Haltung von

Versuchshunden einen enorm großen Platzbedarf. Ferner ist es sehr kostenaufwendig, Hunde für den experimentellen Einsatz zu erwerben, da bestimmte Rassen, z.B. Beagle oder Foxhounds, eigens für solche Zwecke gezüchtet werden (Swindle et al., 1988; Verdouw et al., 1998). Im Gegensatz dazu müssen Schweine zum Einsatz in der Forschung nicht von kommerziellen Züchtern für Labortiere erworben werden und sind infolgedessen um ein Vielfaches günstiger. Das Mindestmaß bei der dem einzelnen Tier zur Verfügung stehende Bodenfläche beträgt für Schweine mit einem Körpergewicht von 10 – 50 kg lediglich zwei Quadratmeter. Ähnlich wie für den Hund werden auch für das Schwein hinreichend Beschäftigungsmöglichkeiten, wie z.B. Spielzeuge, verlangt (GV-SOLAS, 1988).

Das Schwein als Versuchstier hat vor allem den Vorteil, dass es im Hinblick auf die Anatomie des kardiozirkulatorischen Systems weitaus mehr Ähnlichkeiten zum Menschen zeigt als der Hund.

Betrachtet man zunächst Form und Gewicht des Herzens, lassen sich folgende Merkmale aufzeigen: das Herz des Menschen ist kegelförmig, das des Schweins stumpfkegelförmig und das des Hundes kugel- bis stumpfkegelförmig. Während das relative Herzgewicht bei Mensch und Schwein etwa 0,3 – 0,4 % des Körpergewichts beträgt, liegt das des Hundes bei 0,7 % des Körpergewichts.

Auch im Bereich der Koronarien (Aa. coronariae sinistrae et dextrae) zeigen sich bei den verschiedenen Spezies charakteristische Eigenschaften. Beim Menschen besitzen rund 75 % den so genannten ausgeglichenen koronaren Versorgungstyp, während bei den verbleibenden 14 bzw. 11 % der Menschen ein Rechts- bzw. Linksversorgungstyp vorliegt, je nach Dominanz des entsprechenden Koronargefäßes. Beim Schwein handelt es sich ausschließlich um den ausgeglichenen koronaren Versorgungstyp, während der Hund eine typischerweise linkskoronare Versorgung besitzt (Schummer und Habermehl, 1984; Schmitz, 2007).

Die wesentlichste Ähnlichkeit bei Mensch und Schwein besteht im Grad der Ausprägung einer koronaren Kollateralisierung. Beide Spezies besitzen eine nur geringgradig kollateralisierte Zirkulation. Darüber hinaus sind sie nur sehr begrenzt in der Lage, Kollaterale nach dauerhafter Okklusion auszubilden (Baroldi et al., 1956; White et al., 1992). Diese reichen für einen funktionierenden Kollateralkreislauf, vor allem bei Belastung, nicht aus (Roth et al., 1987; White et al., 1992).

Im Gegensatz dazu besitzt der Hund von Geburt an eine deutlich bessere Kollateralisierung der Koronargefäße (Eckstein, 1954). Dieses ist von entwicklungsgeschichtlicher Bedeutung, da der Hund als Jagdtier auf eine, bei plötzlicher großer Anstrengung, ausreichende Sauerstoffzufuhr des Herzens angewiesen ist. Zusätzlich ist er nach Koronarokklusion in der

Lage, einen suffizienten koronaren Kollateralkreislauf zu bilden, der nahezu die gleiche Leistung erbringen kann wie das native Koronargefäßsystem (Bishop et al., 1976; Lambert et al., 1977; Cohen und Yipintsoi, 1981).

Darauf zurückzuführen ist nach Shen und Vatner (1996) wahrscheinlich auch das Ausmaß der Ischämie nach einer Okklusion. Dieses ist bei Schweinen deutlich größer als bei Hunden, da es gleichmäßig die gesamte Dicke des Myokards im entsprechenden Versorgungsgebiet des verschlossenen Koronargefäßes betrifft (Shen und Vatner, 1996). Sie konnten zeigen, dass infolgedessen auch die postischämische myokardiale Dysfunktion, das myokardiale Stunning, beim Schwein einheitlicher ausgeprägt ist als beim Hund, obwohl dort Ausmaß und Dauer der Dysfunktion massiver sind (Shen und Vatner, 1996).

Wesentlich ist jedoch hinsichtlich wiederholter koronarer Okklusionen, dass der Hund im Gegensatz zum Schwein innerhalb von wenigen Tagen einen „preconditioning“-ähnlichen Effekt zeigt, der in dieser Form beim Schwein nicht nachzuweisen war (Shen und Vatner, 1996). Auch aus diesem Grund kristallisiert sich das Schwein eindeutig als die schwierigere, aber auch bessere Wahl für dieses Tiermodell heraus. Der Hund eignet sich allenfalls als Modell für Untersuchungen, bei denen ein Versuchsaufbau mit vielen koronaren Kollateralen gefordert wird. Dieses tritt beim Menschen für gewöhnlich nur nach länger dauernden und schleichend progressiven koronaren Herzerkrankungen auf. Da Patienten in den meisten Fällen nur minimal koronare Kollaterale ausgebildet haben, ist das Schwein als Versuchstier folglich besser geeignet (Verdouw et al., 1998).

Gleichwohl ist der allgemeine Umgang mit dem Hund sehr viel einfacher als mit dem Schwein, welches deutlich längere Trainings- und Gewöhnungszeiten für eine gleichartige Konditionierung verlangt. Wenn jedoch eine ausreichend lange Zeit zur Verfügung steht und kein Zwang ausgeübt wird, zeigt sich auch das Schwein sehr gelehrig und durchaus dem Hund ebenbürtig (Swindle et al., 1988).

Besonderheiten im Umgang mit der Tierart Schwein und speziell auch die Anästhesieverfahren müssen bei einem Versuchsvorhaben auf diese Tierart abgestimmt werden. Die in der Veterinärliteratur beschriebenen Methoden können, wenn überhaupt, dann nur sehr beschränkt angewandt werden, da sie hauptsächlich für die Verwendung in der tierärztlichen Praxis bestimmt sind (Swindle et al., 1986). Durch Auswahl geeigneter Operationstechniken und stressstabiler Rassen kann das Auftreten der wesentlichen gefürchteten Komplikationen, maligne Hyperthermie und kardiale Arrhythmien, gering gehalten werden (Swindle et al., 1988).

## 5.2 Wahl der Rasse

Durch einseitige Selektion auf Fleischmengenleistung und bewegungsarme Haltung ist das Hausschwein prädestiniert für Myopathien. Es besitzt nur eingeschränkte Anpassungsfähigkeit gegenüber Belastungen, wodurch bei einer bestehenden erblichen Disposition, der so genannten Stressanfälligkeit, nach körperlicher Anstrengung oder psychischer Erregung ein akutes Herz-Kreislauf-Versagen mit Todesfolge auftreten kann. Man spricht hier von der so genannten akuten Belastungsmiopathie (Bickhardt, 2001). Diese kann schon durch eher alltägliche Belastungen wie z.B. Transporten oder Umstellungen ausgelöst werden.

An der Ausprägung der Belastungsmiopathie ist das Malignant-Hyperthermia-Syndrom-Gen (MHS-Gen) beteiligt. Deshalb wurde bei der Auswahl der Tiere für die Entwicklung des neuen Tiermodells möglichst auf Rassen verzichtet, bei denen das MHS-Gen verbreitet ist. Das betrifft z.B. die Rassen Piétrain oder Deutsche Landrasse (Bickhardt, 2001).

Es kamen drei unterschiedliche Kreuzungen zum Einsatz:

### 1. Deutsche Landrasse x Yorkshire

Die Deutsche Landrasse ist ursprünglich aus diversen Landschlägen unter Einkreuzung von Yorkshire-Schweinen entstanden und wurde durch Züchtung mit Schweinen dänischen Ursprungs veredelt. Seit Mitte der 80er Jahre findet bei den großwüchsigen Tieren mit langem Körper eine Selektion auf das Merkmal „stressstabil“ statt. Allerdings ist das MHS-Gen nach wie vor verbreitet (Sambraus, 1994; Bickhardt, 2001).

Das Yorkshire-Schwein wird nach seiner Herkunft aus der englischen Grafschaft benannt. Es entspringt der Züchtung aus Ostasien-Importen und einheimischen Schweinen Englands. Diese Rasse kommt in ganz England vor und wird dann auch Large White genannt. Das große, mittellange Tier zeichnet sich durch seine geringe Stressanfälligkeit aus (Sambraus, 1994).

### 2. Hybridzüchtung Westhybrid

Bei dieser Züchtung werden verschiedene Rassen eingesetzt, um deren speziellen Vorteile auszunutzen. Westhybrid-Tiere enthalten Merkmale der Rassen Deutsche Landrasse, Deutsches Edelschwein, Piétrain sowie Hampshire. Dabei ist insbesondere die geringe Stressanfälligkeit der Rassen Hampshire und Deutsches Edelschwein vorteilhaft. Weiterhin ist vor allem das mittelgroße Hampshire-Schwein sehr widerstandsfähig und robust. Im Gegensatz dazu ist beim Piétrain-Schwein das MHS-Gen sehr verbreitet, was die hohe Stressanfälligkeit dieser kurzen, tiefrumpfigen Rasse erklärt (Sambraus, 1994).

### 3. Britische Landrasse x Large White

Die Britische Landrasse ist in Großbritannien aus Landrasse-Importen aus Dänemark entstanden, die ursprünglich für experimentelle Studien eingesetzt wurden. Bei der weiteren Züchtung wurde besonderer Wert auf „Stressstabilität“ gelegt. Außerdem sind diese muskulösen und langen Tiere sehr fügsam und gelehrig (Briggs, 1983).

Die Rasse Large White ist die Wichtigste in Großbritannien. Sie ist großrahmig und sehr widerstandsfähig. Bei mäßiger Fetteinlagerung sind die Tiere aktiv und erkranken selten an den Gliedmaßen. Sie sind in der Lage, sich gut an neue Situationen anzupassen und infolgedessen weniger stressanfällig (Briggs, 1983).

Um den Umgang, das Training sowie die Operationsdurchführung praktikabel zu gestalten, wurden Tiere mit einem mittleren Gewicht von 30 kg ausgewählt.

Die speziell für den Tierversuch gezüchtete Rasse „Göttinger Minipig“ kann zwar bei sorgfältiger Ausbildung auch äußerst zutraulich werden, sie erreicht aber erst mit über zwölf Monaten das für diesen operativen Eingriff erforderliche Gewicht. Es ist dann sehr kostenaufwendig, diese Tiere zu erwerben bzw. bis zu diesem Alter in eigener Stallung zu ziehen. Eine eigene Zucht ist aus patentrechtlichen Gründen nicht möglich; an der Universität Göttingen existiert derzeit die einzige Basiszuchtpopulation. Entstanden ist die Rasse dort Anfang der 60er Jahre aus einer Kreuzung von Minnesota Minipigs und Vietnamesischen Hängebauchschweinen. Die helle Hautfarbe der so genannten weißen Linie ist durch Einkreuzung der Deutschen Landrasse entstanden, da für die medizinische Forschung weiße Tiere gefordert wurden (Sambraus, 1994).

Das Minipig neigt, besonders bei nicht streng rationierter Fütterung, zu starken Fetteinlagerungen, die zu Stoffwechselerkrankungen führen können. So ist Diabetes mellitus bei diesen Tieren in höherem Alter durchaus keine Seltenheit. Die Folgen auf das kardiozirkulatorische System sind mittlerweile hinreichend bekannt und mit einer regelrechten Versuchsdurchführung nicht vereinbar. Nachstehende Erkrankungen können auftreten: Dermatosen, Wundheilungsstörungen, Parodontopathie, Nephropathie, Retinopathie, Arteriosklerose sowie das so genannte diabetische Gangrän als Folge einer Mikroangiopathie. In Stresssituationen kann die Atemfrequenz bis auf 80 Atemzüge/Minute und die Herzfrequenz bis auf 140 Schläge/Minute ansteigen (GV SOLAS, 1999).

Insbesondere eine lang andauernde Immobilisierung, d.h. länger als sechs Stunden, kann schwere Stressreaktionen auslösen. Diese können sich durch Verlangsamung der Atmung und Hypotonie bis hin zum Kreislaufkollaps äußern (Bundesamt für Veterinärwesen der Schweiz, 1994). Da die Instrumentierung bei dem beschriebenen Versuchsmodell mehrere Stunden in

Anspruch nahm, sollte das Risiko für das Auftreten solcher Stressreaktionen möglichst gering gehalten werden. Aus diesen und aus wirtschaftlichen Überlegungen heraus wurden daher die vorher beschriebenen Rassen eingesetzt.

Bei den Tiergruppen mit Einkreuzungen aus eher stressempfindlichen Rassen (Gruppe 1 und Gruppe 2) kam es bei den Operationen zu Komplikationen mit Todesfolge, die höchstwahrscheinlich zum großen Teil auch auf die Rassenauswahl zurückzuführen sind. Bei der dritten Gruppe (Britische Landrasse x Large White) traten diese Komplikationen überhaupt nicht auf. Daher war diese Kreuzung für die vorgesehene Instrumentierung aus eigener Erfahrung und nach Kenntnisstand der Literatur am besten geeignet.

## **5.3 Wahl der Pharmaka**

### **5.3.1 Prämedikation**

#### **5.3.1.1 Medikation am Vorabend der Operation**

Zur Vorbereitung auf die Narkose erhielten die Tiere der ersten und zweiten Gruppe am Vorabend der Operation eine orale Prämedikation. Diese sollte eine Anxiolyse und Sedierung gewährleisten sowie die Möglichkeit einer für die Tiere ruhigen und stressarmen intramuskulären Sedierung am Operationsmorgen vor der Narkoseeinleitung bieten. Durch eine derartige Stressreduktion lässt sich nachweislich das Risiko für das Auftreten von Kammerflimmern während der späteren Operation vermindern (Näslund et al., 1992). Des Weiteren sollte eine Reduktion der Spontanaktivität zur Erleichterung der intramuskulären Applikation der Sedativa am Operationsmorgen erzielt werden.

In der ersten Gruppe wurde das Benzodiazepin Flunitrazepam eingesetzt. Dieses ist in der Kardioanästhesie bei Menschen weit verbreitet in der vorabendlichen oralen Prämedikation (Böttiger et al., 1996). Es hat im Vergleich zu anderen Benzodiazepinen eine mittlere Halbwertszeit von 10 bis 20 Stunden und wie alle Wirkstoffe dieser Gruppe eine große therapeutische Breite (Coper und Helmchen, 1992).

Trotz dieser Prämedikation kam es zu einer unruhigen und relativ langen Einschlafphase, da die Tiere am Operationsmorgen, rund acht bis zehn Stunden nach Applikation des Benzodiazepins, kaum oder gar nicht mehr sediert waren. Daher wurde die vorabendliche Prämedikation in der zweiten Gruppe umgestellt.

Diese erhielt das Benzodiazepin Diazepam sowie den  $\alpha$ -Adrenozeptor-Agonisten Clonidin und den  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonisten Metoprolol.

Diazepam ist bei Schweinen gut verträglich und besitzt schon in geringen Dosen von 0,4 – 1 mg/kg KG eine anxiolytische Wirkung.

Durch den Einsatz von Clonidin sollte der sedierende Effekt des Benzodiazepins verstärkt und eine Verminderung der Herzfrequenz erzielt werden. Ferner bewirkt Clonidin Analgesie und reduziert perioperativen Stress (Frank et al., 2002). Es wird ihm auch eine Bedeutung bei der Reduktion von perioperativen Myokardischämien zugeschrieben (Böttiger et al., 1996), allerdings beruhen alle diese Untersuchungen auf einer Applikation am Operationstag selber. Schweine sind gegenüber  $\alpha$ -Adrenozeptor-Agonisten deutlich weniger empfindlich als andere Haussäugetiere (Knight, 1980). Da eine Dosiserhöhung jedoch nicht zur Sedierung oder Analgesie, sondern lediglich zu kardiopulmonären Nebenwirkungen führt, sollten Substanzen wie Clonidin oder auch Xylazin nie als alleinige Wirkstoffe verwendet werden (Benson und Thurmon, 1979). Es hat sich aber in vielen Studien gezeigt, dass sie in Kombination mit Zoletil<sup>®</sup> bzw. Zoletil<sup>®</sup> und Ketamin hervorragend zur Prämedikation geeignet und sogar nötig sind: bei Applikation von Zoletil<sup>®</sup> alleine oder nur mit Ketamin versetzt, wurden weder Analgesie noch ein intubationsfähiges Narkosestadium erreicht (Ko et al., 1993; Henrikson et al., 1995; Sweitzer et al., 1997).

Die Blockade der  $\beta$ -Adrenozeptoren schwächt die Effekte der Katecholamine ab, die bei Stress, Schmerz oder Angst vermehrt endogen ausgeschüttet werden. Dadurch wird eine Sedierung und Anxiolyse erzielt (Jakobsen et al., 1990). Zusätzlich besitzt Metoprolol einen antiischämischen Effekt (Åblad et al., 1987), der einen großen Vorteil für die den Tieren bevorstehende Instrumentierung darstellt. Dieser Effekt beruht auf einer Reduktion der Herzfrequenz mit nachfolgender Abnahme des Herzzeitvolumens. Durch Verlängerung der Diastolendauer, der Phase des Herzzyklus, in der die Myokardperfusion stattfindet, wird der myokardiale Blutfluss gesteigert. Es kommt zu einer Ökonomisierung der Herzarbeit und Verbesserung des myokardialen Sauerstoffangebotes (Åblad et al., 1987). Insbesondere die Senkung der Herzfrequenz erleichterte bei der vorliegenden Studie die Instrumentierung der Tiere, da hierdurch eine deutlich präzisere und sicherere Präparation am Herzen möglich wurde. Bei konstant normotonen hämodynamischen Verhältnissen wurde auch eine Herzfrequenz von 50 – 60 Schlägen pro Minute hervorragend toleriert.

Trotz Umstellung der Prämedikation verlief bei der zweiten Gruppe die Einschlafphase unverändert im Vergleich zur ersten. Folgende Gründe werden dafür verantwortlich gemacht: obwohl eine 18-stündige präoperative Karenzphase voranging, wurde bei der Sektion der



intraoperativ verstorbenen Tiere reichlich Futterbrei im Magen vorgefunden. Es ist also davon auszugehen, dass diese intestinale Motilitätsstörung eine suffiziente Resorption und nachfolgende Bioverfügbarkeit der oral applizierten Pharmaka deutlich negativ beeinflusst hat. Es ist bekannt, dass eine bloße Nahrungskarenz als massiver Stressor dienen kann (Collin et al., 2001; GV-SOLAS, 1999) und dass ein Weitertransport der noch im Magen befindlichen Nahrung durch Stress komplett unterbleibt (Schnoor et al., 2005).

Der in der Humanmedizin wichtigste Effekt der Prämedikation, die präoperative Anxiolyse, konnte bei den Schweinen auf oralem Weg nicht erzielt werden.

Deshalb wurde bei der dritten Gruppe auf die vorabendliche Prämedikation verzichtet, allerdings wurde die Medikation am eigentlichen Operationstag umgestellt.

### **5.3.1.2 Medikation am Operationstag**

In der vorliegenden Arbeit wurden die ersten beiden Gruppen der Tiere am Operationstag intramuskulär mit einer Kombination von Ketamin, Azaperon und Piritramid prämediziert. Ketamin wird als Prämedikation von vielen Arbeitsgruppen eingesetzt (z.B. Tang et al., 1996; Duncker et al., 1997; McFalls et al., 1997; Lasley et al., 2001). Da Ketamin, ein Derivat des Halluzinogens Phencyclidin, jedoch keine gute Muskelrelaxation bewirkt und zu Krämpfen führen kann, sollte es nie alleine verwendet werden (Swindle et al., 1988). Als Kombinationspräparat eignet sich das als Sedativum für Schweine im Handel befindliche Azaperon, das zusammen mit Ketamin eine gute Sedierung und Muskelrelaxation bei geringen hämodynamischen Nebeneffekten bewirken soll (Swindle et al., 1988). Das Opiat Piritramid als dritte Komponente sollte eine schnell einsetzende Analgesie sicherstellen. Der Wirkungseintritt erfolgt nach wenigen Minuten, wobei in korrekter Dosierung keine oder nur geringe atem- oder kreislaufdepressive Nebenwirkungen zu erwarten sind (GV-SOLAS, 2002).

Es zeigten sich jedoch bei dieser Prämedikation wesentliche Nachteile. Bei der Applikation des relativ großen Injektionsvolumens kam es zu heftigen Abwehrbewegungen seitens der Schweine. Die Tiere waren sehr agitiert, die Einschlafphase gestaltete sich sehr unruhig und verzögert.

Näslund und Mitarbeiter (1992) konnten zeigen, dass eine gute Prämedikation sehr wichtig für den weiteren Versuchsverlauf ist. Bei hohem Stressaufkommen in dieser Phase ist auch das Auftreten von späterem Kammerflimmern deutlich erhöht (Näslund et al., 1992).

In Anbetracht der Erfahrungen bei den ersten Tiergruppen wurde deshalb bei der folgenden Gruppe 3 die Prämedikation am Operationstag umgestellt.

Die Kombination von Tiletamin, Zolazepam und Xylazin erwies sich als die weitaus bessere Alternative. Wie durch die Arbeitsgruppe um Henrikson (1995) gezeigt wurde, bewirkt diese Kombination eine schnelle und ruhige Induktion von tiefer Sedierung, die nach etwa 65 bis 90 Minuten ebenso ruhig wieder endet. Es wird eine Dosierung von je 3 mg/kg KG Tiletamin und Zolazepam sowie Xylazin in einer Menge von 2 mg/kg KG empfohlen (Henrikson et al., 1995).

Das relativ geringe Injektionsvolumen wird von den Tieren gut toleriert. Auch die Einschlafphase verläuft ruhig, schnell und stressarm. Die Schweine sind gut sediert, so dass auch die Punktion von Ohrvene und -arterie regelmäßig ohne Abwehrreaktionen durchzuführen ist (Henrikson et al., 1995).

Diese Kombination ist daher sehr gut als Prämedikation für das vorliegende Tiermodell geeignet. Zu erwähnen bleibt allerdings der relativ hohe Kostenaufwand für die Beschaffung dieses Medikaments, da die Kombination von Tiletamin und Zolazepam auf dem deutschen Arzneimittelmarkt nicht mehr erhältlich ist, und es somit aus dem Ausland importiert werden muss. In Anbetracht einer Kosten-Nutzen-Relation muss jedoch festgestellt werden, dass die Verlustrate durch spätere Komplikationen, die durch eine insuffiziente Prämedikation ausgelöst werden, noch weitaus höhere Kosten verursacht. Daher ist der Kombination aus Tiletamin, Zolazepam und Xylazin klar der Vorzug zu geben.

### **5.3.2 Narkoseinduktion**

Zur Narkoseinduktion und Intubation wurde Propofol verwendet. Vorteile sind die schnelle Anflutung sowie die rasche metabolische Inaktivierung (Cockshott et al., 1992). Dadurch wird eine Interaktion mit anderen Anästhetika vermieden. Eine beschriebene kardioprotektive Wirkung von Propofol (Mathur et al., 1999) ist im vorliegenden Modell nicht von Bedeutung, da es hier nur einmalig zur Narkoseeinleitung eingesetzt wurde.

Eine Alternative zur Narkoseinduktion mit Propofol wäre eine Anwendung von Barbituraten wie z.B. Pentobarbital. Nachteil ist jedoch die deutlich längere Wirkdauer, die zur Durchführung der Intubation nicht nötig ist. Zusätzlich wird die Wirkung durch andere zentral dämpfende Pharmaka, wie sie zur Prämedikation eingesetzt wurden, potenziert (Löscher, 1999).

Von einer inhalativen Narkoseinduktion wurde ebenfalls abgesehen, um eine Kontamination der Raumluft und damit eine Gesundheitsgefährdung der beteiligten Personen zu verhindern.

### **5.3.3 Muskelrelaxation**

Allen Tieren wurde vor Beginn der Thorakotomie einmalig das periphere Muskelrelaxans Rocuroniumbromid verabreicht. Dadurch sollten optimale Operationsbedingungen geschaffen werden. Muskelrelaxantien werden von verschiedenen Autoren verwendet und empfohlen, um das Risiko von Verletzungen wichtiger Nerven und Gefäße durch Muskelzuckungen während der Präparation zu minimieren (Swindle et al., 1986; Bolukoglu et al., 1992; St. Louis et al., 2000; de Zeeuw et al., 2000). Zu bemerken bleibt, dass allerdings direkte faradische Reizung der Muskulatur weiterhin zu Zuckungen führt. Besonders zu beachten ist eine ausreichende Narkosetiefe mit umfassender Narkoseüberwachung, da zwar die Abwehrbewegungen unterdrückt werden, jedoch die Schmerzempfindlichkeit unbeeinflusst bleibt (GV-SOLAS, 2002). Unterschieden werden muss zwischen nicht-depolarisierenden Muskelrelaxantien, wie Pancuronium oder das hier verwendete Rocuroniumbromid, und depolarisierenden Muskelrelaxantien mit Succinylcholin als zurzeit einzig in Deutschland erhältlichem Vertreter. Während die Wirkung der zuerst genannten Substanzen aufgrund einer kompetitiven Hemmung des Nicotinrezeptors durch Erhöhung der AcetylcholinKonzentration aufhebbar ist, kann die Wirkung von Succinylcholin nicht beeinflusst werden, da über eine lang anhaltende Depolarisation die neuromuskuläre Endplatte blockiert wird. Dabei gibt es tierartige Unterschiede bei der Wirkdauer (Löscher, 1999). Beim Schwein sollte Succinylcholin allerdings niemals verwendet werden, da es eine maligne Hyperthermie verursachen kann (Löscher, 1999).

### **5.3.4 Volatiles Anästhetikum: Sevofluran**

Inhalationsanästhetika können über verschiedene Mechanismen eine Kardioprotektion bewirken, insbesondere durch Induktion eines „preconditioning“-ähnlichen Effekts (Obal et al., 2003). Da die Instrumentierung und somit die Operation der Tiere in der vorliegenden Arbeit mehrere Stunden in Anspruch nahm, sollte ein gut steuerbares, kardioprotektives volatiles Anästhetikum mit möglichst geringen kardiovaskulären Nebenwirkungen zum Einsatz kommen. Preckel und Kollegen (1998) konnten zeigen, dass Sevofluran das Myokard vor Reperfusionsschäden schützen und demnach das Infarktvorkommen nach einer Ischämie

reduzieren kann. Dabei traten im Vergleich zu Enfluran und Isofluran relativ geringe hämodynamische Veränderungen auf (Preckel et al., 1998).

Der durch Sevofluran induzierte „ischemic preconditioning“-ähnliche Effekt durfte aber in dem vorliegenden Vorhaben bei Beginn des eigentlichen Versuchs zehn Tage später absolut nicht mehr nachweisbar sein, um mögliche Beeinflussungen auf die Untersuchungen zu vermeiden. Tang und Mitarbeiter konnten in ihrer Studie darlegen, dass dieser protektive Effekt nach sechs Tagen nicht mehr nachweisbar ist (Tang et al., 1996). Somit konnte zehn Tage später das bei der Instrumentierung verwendete volatile Anästhetikum Sevofluran durch Kardioprotektion keine negativen Auswirkungen auf das Versuchsprojekt haben.

Durch seinen kleinen Blut-Gas-Verteilungskoeffizienten von 0,59 flutet Sevofluran schnell an und ab (Obal et al., 2003), lässt sich infolgedessen auch gut steuern und ist in der vorliegenden Arbeit Mittel der Wahl gewesen.

In einer Studie von Conradie und Mitarbeitern (1999) trat bei fast 90 % der mit Sevofluran anästhesierten Schweine Kammerflimmern auf. Da dieses jedoch erst während der Reperfusionphase zu beobachten war, ist das Auftreten dieser Komplikation in der vorliegenden Studie eher auf andere Aspekte wie Rasseauswahl, Trainingszeit, Prämedikation und Blutdruckmessung zurückzuführen. Bei der oben erwähnten Untersuchung kam es weit weniger häufig zu Kammerflimmern unter Anästhesie mit Halothan (Conradie et al., 1999), welches jedoch aus weiter unten aufgeführten Gründen in der vorliegenden Studie nicht verwendet wurde.

Andere volatile Anästhetika haben entscheidende Nachteile. Obwohl Isofluran von einigen Autoren empfohlen wird und bei diversen Studien zum Einsatz kam (Swindle et al., 1988; Kudej et al., 2002; Kim et al., 2003; Fallavollita et al., 2005; Meier, 2006), kann es bei längerer Narkosedauer hypotensiv wirken (Löscher, 1999; Meier, 2006). Enfluran kann eine anfallsartige Aktivität auslösen (Swindle et al., 1988). Ein weiteres mögliches volatiles Anästhetikum zum Einsatz beim Tier ist Halothan. Dieses sollte jedoch beim Schwein keinesfalls verwendet werden, da es extrem häufig eine maligne Hyperthermie auslöst, weshalb der so genannte „Halothan-Test“ auch zur Differenzierung von stressempfindlichen und stressstabilen Rassen eingesetzt wird (Bickhardt, 2001; Meier, 2006). Ferner wirkt Halothan negativ inotrop, verursacht Hypotonien und erzeugt eine erhöhte Sensibilität des Herzens auf Katecholamine, was im Folgenden zu Arrhythmien führen kann (Meier, 2006). Ebenfalls nicht empfohlen wird Lachgas (N<sub>2</sub>O), da es separat eingesetzt keine suffiziente narkotische Wirkung besitzt. Diese wäre nur in derart hoher Dosierung zu gewährleisten, dass

eine Gewebshypoxie die Folge wäre (Swindle et al., 1988). Ferner ist beim Tier auch kein analgetischer Effekt vorhanden (GV-SOLAS, 2002; Swindle et al., 1988).

Eine weitere Möglichkeit der Anästhesie wäre die so genannte totale intravenöse Anästhesie (TIVA) mit Substanzen wie Barbituraten oder Propofol. Barbiturate wirken nicht analgetisch und müssen mit starken Analgetika wie z.B. Opiaten kombiniert werden (GV-SOLAS, 2002). Sie haben den Nachteil, dass sie bei längerer Applikation erheblich kumulieren und dadurch einen langen Nachschlaf erzeugen (Swindle et al., 1986). Eine nachteilige Wirkung von Propofol bei längerer Anwendung ist ein möglicher Blutdruckabfall durch negative Inotropie und Vasodilatation (Löscher, 1999).

### **5.3.5 Analgesie**

Zur Analgesie wurden die Opiate Piritramid und Fentanyl eingesetzt.

Piritramid war bei Gruppe 1 und Gruppe 2 eine Komponente der intramuskulären Prämedikation. Dieses sollte eine schnell eintretende Analgesie sicherstellen. Noch wichtiger war diese Behandlung jedoch am Operationsende für alle Tiere. Durch Piritramid sollte eine ausreichende Schmerzausschaltung gewährleistet werden bis die Wirkung der weiter unten beschriebenen postoperativen Schmerztherapie einsetzte. Vorteilhaft an Piritramid ist die gute und schnell einsetzende Analgesie nach etwa fünf Minuten mit wenig Atem- und Kreislaufdepression und einer Wirkdauer von zwei bis drei Stunden (GV-SOLAS, 2002).

Fentanyl wurde sowohl während der Operation als auch bei der postoperativen Schmerztherapie verwendet. Es wird seit Jahren in der tierexperimentellen Anästhesie und Analgesie erfolgreich angewandt und eignet sich besonders zum Einsatz in der Kardiochirurgie, da die typischen Nebenwirkungen der Opiode, insbesondere Bradykardie und Hypotension weniger stark ausgeprägt sind (Swindle et al., 1986). Zusätzlich wird Fentanyl eine antiarrhythmische Wirkung zugeschrieben, die einen weiteren Vorteil für die kardiale Instrumentierung darstellte (Hess et al., 1989; Meier, 2006). Die Fentanylgabe wurde jedoch während der Operation rechtzeitig beendet, um einer möglichen Atemdepression beim Weaning und nach Extubation vorzubeugen, da es ebenfalls zur Kumulation neigt und eine Wirkdauer von bis zu zwei Stunden besitzt (Meier, 2006).

Ein wichtiger Aspekt ist auch die postoperative Schmerztherapie. Grundsätzlich ist im Tierschutzgesetz festgelegt, dass einem Tier ohne vernünftigen Grund keine Schmerzen, Leiden oder Schäden zugefügt werden dürfen (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 1998). Eine Schmerztherapie ist generell immer dann notwendig,

wenn Schmerzen durch den Eingriff vermutet werden (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 1998; Swindle et al., 1988). Zusätzlich soll eine Verbesserung des Wohlbefindens und der Wundheilung sowie eine Verringerung der perioperativen Mortalität erzielt werden. Diese ist zu erklären mit einem durch den Schmerz verursachten erhöhten Sympathikotonus, der zu einer Tachykardie führt (Sager, 1997). Die wiederum bedingt einen erhöhten Sauerstoffbedarf des Myokards. Bei dem durch die Operation vorgeschädigten Herzen kann daraus ein kardiogener Schock mit Todesfolge resultieren.

Zur postoperativen Schmerztherapie wurde Fentanyl transdermal über ein spezielles Pflastersystem appliziert (TTS: transdermales therapeutisches System). Die Zeitspanne bis zum Eintritt der Wirkung nach acht bis zehn Stunden wurde durch die mehrmalige intramuskuläre Applikation von Piritramid überbrückt. Harvey-Clark und Mitarbeiter (2000) konnten zeigen, dass das TTS mit Fentanyl eine geeignete, kosteneffektive Möglichkeit zur postoperativen Analgesie beim Schwein darstellt. Zusätzlich gestaltet sich die Applikation einfach und muss aufgrund des Wirkstoffvorrates im System nur etwa alle drei Tage wiederholt werden. Eine ausreichende Analgesie wurde acht bis zehn Stunden nach Applikation erreicht. Atemdepression, Hypoxie oder Sedierung traten in der Studie zu keinem Zeitpunkt auf (Harvey-Clark et al., 2000). In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich, dass die am besten geeignete Stelle die Haut zwischen den Schulterblättern war, da die Tiere das Pflaster dort aufgrund des Verbandes nicht erreichen und somit nicht selber entfernen konnten. Die Gefahr bestand dabei vor allem in einem akzidentellen Fressen des Pflasters, welches durchaus zu schwerwiegenden respiratorischen Problemen führen könnte.

Vorteilhaft ist die einfache Anwendung, durch die die Tiere die Behandlung ohne weiteres zuließen. Unter Berücksichtigung der Verhaltensprotokolle von der Zeit vor der Operation waren ab dem zweiten postoperativen Tag bei keinem der Tiere Anzeichen von Schmerzen zu erkennen. Die Schmerztherapie wurde fünf Tage vor Versuchsbeginn beendet, um eine vollständige Elimination der Pharmaka bis dahin zu garantieren. Der Forschungsgruppe um Harvey-Clark zufolge war 72 Stunden nach Entfernung des Pflasters kein Fentanyl mehr im Serum der Schweine nachweisbar (Harvey-Clark et al., 2000).

## 5.4 Art der Vorgehensweise

### 5.4.1 Präoperativ

Ein entscheidender Aspekt für den Erfolg des Versuchsvorhabens war das Training der Tiere. Es sollte vor allem verhindern, dass die Schweine in einen Zustand von Stress gerieten. Dies war sowohl für die Operation als auch für den eigentlichen Versuch von großer Wichtigkeit. Für das Versuchstier Schwein wird jeglicher präoperativer Stress angeschuldigt, potentiell zu massiven Zwischenfällen wie Kammerflimmern und ähnlichem zu führen (Näslund et al., 1992). Nach der Instrumentierung mussten die Tiere bei den täglichen Kontrollen kooperieren, damit eine adäquate Wundpflege und Schmerztherapie möglich war. Im Versuch schließlich war es wichtig, dass sich die Tiere über einen ausreichenden Zeitraum hinweg ruhig im Käfigwagen verhalten haben. In Anbetracht dieser Ziele beinhaltete der Trainingsplan die Gewöhnung an das Betreten der Ställe, an das Anfassen der Tiere und an den Einstieg und den Aufenthalt in den Transportwagen inklusive Transport zum Labor.

Schweine sind von Natur aus neugierig, aber auch misstrauisch. Es liegt in ihrer Natur, ständig Beschäftigung zu fordern. Als Folge dessen zeigen sie sich sehr gelehrig, wenn sie behutsam und ausdauernd trainiert werden (Swindle et al., 1988). Neugierde kann z.B. mit Spielzeug geweckt werden. Es ist ebenfalls möglich, die Schweine nur mit Geräuschen oder der Stimme zu locken. Dabei sind sehr laute oder plötzlich auftretende Geräusche wie Türen schlagen oder in die Hände klatschen unbedingt zu vermeiden. Vor allem die Anwendung von Zwangsmaßnahmen oder auch nur das Zurückdrängen in eine Ecke bedeutet enorm viel Stress für Schweine, weshalb darauf grundsätzlich verzichtet werden sollte (Swindle et al., 1988). Die meisten Arbeitsgruppen beginnen etwa eine Woche vor dem Eingriff mit dem Training (Shen und Vatner, 1995; Sato et al., 1997; Duncker et al., 2001). Es wird auch durchgeführt, wenn die Versuche an sedierten Tieren vorgenommen werden (Qiu et al., 1997). Das zeigt, wie wichtig die Vermeidung von Stress bei dieser Tierart ist. Dabei spielt auch die Intensität des Trainings eine entscheidende Rolle. Je länger die Schweine in der vorliegenden Studie beschäftigt wurden, desto zutraulicher verhielten sie sich gegenüber den Bezugspersonen. Diese sollten sich immer ruhig verhalten und nicht stetig wechseln (GV SOLAS, 1999). Weiterhin ist es vorteilhaft, in einer Höhe mit den Tieren zu arbeiten, d.h. sich hinzuhocken oder sich in gebückter Haltung zu bewegen, um sie nicht zu verschrecken. Bei der ersten Gruppe mit dem geringsten Trainingseffekt zeigten sich während den Operationen die höchsten Herzfrequenzen und die meisten Komplikationen. Dieses ist jedoch sicherlich nicht

nur auf die fehlende Intensität des Trainings zurückzuführen, sondern auch auf die Einzelhaltung der Schweine. Dadurch war der Sozialkontakt sehr eingeschränkt und die Tiere verhielten sich insgesamt unruhiger (GV SOLAS, 1999). Ein weiterer gewichtiger Grund bestand zudem in der suboptimalen Prämedikation der Tiere dieser Gruppe (Näslund et al., 1992), was aber schon oben näher ausgeführt wurde. Bei den anderen Tiergruppen konnte das Sozialgefühl der Schweine besser berücksichtigt werden, da zwar Einzelhaltung durch eine Trennung mittels Gitter bestand, jedoch ein visueller, akustischer sowie olfaktorischer Kontakt möglich war. Ferner konnten sich die Tiere mit ihren Rüsselscheiben durch die Gitterstäbe berühren, was einer für Schweine geforderten Gruppenhaltung sehr nahe kam (Swindle et al., 1988).

Die Dokumentation der Verhaltensweisen der einzelnen Tiere war aus verschiedenen Gründen wichtig. Zum ersten konnte so beurteilt werden, ob eine Intensivierung des Trainings zur Erreichung der Trainingsziele für das Einzeltier nötig war. Zum zweiten war die Dokumentation für die postoperative Schmerztherapie von Bedeutung, da Verhaltensänderungen gute Indikatoren für Schmerzen darstellen (Harvey-Clark et al., 2000). Das betrifft insbesondere die Futteraufnahme, aber auch die Haltung der Tiere, d.h. wie sie sich bewegen und laufen oder wie oft sie in welcher Position liegen. Werden bestimmte Körperhaltungen oder längeres Stehen vermieden, kann das ein Ausdruck von Schmerz bedeuten.

### **5.4.2 Perioperativ**

#### **5.4.2.1 Myokardiale Wanddickenmessung**

Ein wichtiger Parameter zur Beurteilung des myokardialen Stunnings ist die myokardiale Wanddicke. Diese kann absolut angegeben oder als fraktionelle Wanddickenveränderung während eines Herzzyklus in Prozent automatisiert berechnet werden. Beide Methoden basieren auf dem technischen Prinzip des gepulsten Dopplers. Die meisten Arbeitsgruppen ziehen die fraktionelle Wanddicke heran (Sun et al., 1996; Fallavollita et al., 2000; Zeeuw et al., 2000; Stevens et al., 2004). Vorteil dieser Methode liegt in der Notwendigkeit nur eines piezoelektrischen Kristalls, der gleichzeitig als Sender und Empfänger der Signale dient. Dieser wird epikardial in der entsprechenden Region aufgenäht, wodurch nur ein minimales chirurgisches Trauma verursacht wird. Zudem besteht über einen längeren Zeitraum eine stabile Signaltransmission. Ein entscheidender Nachteil der Methode besteht in der



Notwendigkeit der Berechnung des Wertes. Erstmals beschrieben wurde diese Methode von Hartley und Mitarbeitern (Hartley et al., 1983). Andere Arbeitsgruppen bestimmen die absolute myokardiale Wanddicke mit Hilfe von Sonomikrometerkristallpaaren (Sato et al., 1997; Shen und Vatner, 1996). Nachteile ergeben sich daraus, dass zwei Kristalle implantiert werden müssen. Ein Kristall wird ebenfalls auf dem Epikard fixiert, während der zweite subendokardial platziert wird. Dadurch wird unweigerlich entlang des Stichkanals das Myokard verletzt. Nur durch die spezielle Weise, den subendokardialen Kristall durch eine schräge, diagonale Stichrichtung an seinen Bestimmungsort zu bringen, ist es möglich, dieses Trauma zu minimieren. Zusätzlich ist es in einigen Fällen schwierig, sowohl eine exakt subendokardiale als auch die korrespondierende epikardiale Position der Sensoren so exakt zu finden, dass einwandfreie Signale empfangen werden und während des gesamten Versuchs erhalten bleiben (Pitsillides und Longhurst, 1995). Der entscheidende Vorteil dieser Vorgehensweise ist der Erhalt eines absoluten Wertes in Millimetern ohne weitere Messungen oder vorherige Berechnung.

Bei der vorliegenden Arbeit standen ausschließlich die technischen Voraussetzungen zur Bestimmung der absoluten myokardialen Wanddicke zur Verfügung, jedoch muss bedacht werden, dass bei dieser Methode die Implantation der Kristalle schwieriger und das Trauma des Myokards umfangreicher sind.

### **5.4.2.2 Invasive Blutdruckmessung**

Das Gelingen der Instrumentierung resultierte wesentlich dadurch, dass durch die Etablierung einer invasiven Blutdruckmessung vor und während der Operation kritische Abfälle des Perfusionsdruckes schnell und zuverlässig erkannt und sofort suffizient therapiert werden konnten. Swindle und Mitarbeiter formulierten 1986 die folgenden Narkosekomplikationen als die häufigsten beim Schwein: 1. Arrhythmien, 2. Kammerflimmern, 3. Depression des Herz-Kreislauf-Systems und 4. eine verzögerte Aufwachphase (Swindle et al., 1986). Vor allem Letzteres lässt sich durch eine adäquate Auswahl moderner Pharmaka mit kurzer Halbwertszeit in der heutigen Zeit besser steuern. Die erstgenannten Zwischenfälle lassen sich insbesondere durch eine gute Überwachung des Blutdruckes verhindern. In der vorliegenden Arbeit war das Auftreten von Kammerflimmern die größte Schwierigkeit. Es zeigte sich, dass zu zwei Zeitpunkten während der Operation besonders große Gefahr durch drastische Abfälle des koronaren Perfusionsdruckes bestand: erstens während der für die Implantation verschiedener Sonden unabdingbaren Luxation der Herzspitze gegen die Basis nach

ventrokränial sowie zweitens unter der Koronarpräparation. Gerade letztere bedingte regelhaft reaktive Vasospasmen der Koronararterien mit nachfolgender Ischämie und ischämisch bedingtem Abfall des Herzzeitvolumens und konsekutiver massiver Hypotonie. Beiden Ursachen gleich war der Abfall des koronaren Perfusionsdruckes mit nachfolgendem Kammerflimmern. Dieses wird von Näslund und seiner Arbeitsgruppe bestätigt, die 1992 eine erhöhte Anfälligkeit für Kammerflimmern nach Ischämie und Präparation der Koronararterien beim Schwein beschreiben (Näslund et al., 1992). Wird demnach der Perfusionsdruck am Herzen durch Überwachung und gegebenenfalls Stabilisierung des Blutdruckes konstant oberhalb mindestens 60 mmHg gehalten, können Ischämien und nachfolgende Komplikationen vermieden werden.

Gleichzeitig konnten durch eine kontinuierliche Messung des invasiven arteriellen Druckes Voraussetzungen für eine suffiziente Analgesie geschaffen werden, da bei mangelhafter Analgesie als indirekter Parameter des Stresses deutliche Anstiege des Blutdruckes zu verzeichnen sind (Swindle et al., 1986). Gleichwohl ist nicht jeder Anstieg des Blutdruckes auf unzureichende Analgesie zurückzuführen, weshalb es der Erfahrung des Anästhesisten obliegt, für die jeweilige Situation die entsprechenden Maßnahmen einzuleiten.

Es bleibt festzuhalten, dass die Messung des invasiven Blutdruckes bei der vorliegenden Arbeit zusammen mit dem Training der Tiere die wichtigste Maßnahme für den Erfolg des Versuchsvorhabens darstellte.

### **5.4.3 Postoperativ**

Da Schweine ein ausgeprägtes Sozialgefühl besitzen, wird Gruppenhaltung, mindestens aber die Haltung mit Sicht- und Hörweite empfohlen (Swindle et al., 1988; GV-SOLAS, 1999). Aus diesem Grund wurden die Tiere in der postoperativen Phase zwar einzeln gehalten, um eine gute Wundheilung und die Sicherung der Sonden und Katheter zu gewährleisten, ein Sicht-, Olfaktorik- und Hörkontakt wurde aber zu jedem Zeitpunkt sichergestellt. Dadurch konnte das Stressaufkommen in der postoperativen Phase, das durch die Änderung des Sozialgefüges sicherlich hervorgerufen wurde, sehr gering gehalten werden. Es wird angenommen, dass sich das positiv auf die Wundheilung und das Verhalten der Tiere auswirkte.

Mit der Schmerztherapie wurde direkt am Ende der Operation begonnen, da nach einer Thorakotomie analog zum Menschen mit einer deutlichen Schmerzreaktion zu rechnen ist. Ausdrücklich wird dieses auch im Tierschutzgesetz gefordert (Bundesministerium für

Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 1998). Gute Indikatoren für Schmerzen beim Schwein sind Verminderung der Futter- und Wasseraufnahme sowie Veränderungen in der Haltung und im Verhalten. Haltungsveränderungen äußern sich z.B. durch Vermeidung bestimmter Stellungen, durch verlangsamtes Laufen oder einen veränderten Gang. Verhaltensänderungen können sich z.B. durch Inaktivität, Apathie, Aggressivität oder Isolation von Artgenossen ausdrücken (Swindle et al., 1988; Harvey-Clark et al., 2000). Unter diesen Aspekten erfolgte durch Vergleich mit dem präoperativen Habitus die postoperative Überwachung der Tiere. Bei der täglichen Wundkontrolle und beim Training, das ab dem dritten postoperativen Tag wieder aufgenommen wurde, konnten alle Verhaltensweisen genau kontrolliert werden.

Um Wundinfektionen zu vermeiden, verabreichen die meisten Arbeitsgruppen eine antibiotische Therapie über einen Zeitraum von etwa einer Woche (Shen und Vatner, 1995; Sun et al., 1996; Duncker et al., 1997). Dieses erwies sich auch in der vorliegenden Arbeit als absolut ausreichend. Es traten weder Komplikationen bei der Wundheilung noch Septikämien auf.

### **5.5 Versuchsprotokoll**

Der Begriff myokardiales Stunning beschreibt eine myokardiale, kontraktile Dysfunktion nach passagerer Ischämie, die trotz normaler oder gar supranormaler Perfusion fortbesteht, aber reversibel verläuft (Braunwald und Kloner, 1982).

Im vorliegenden Versuchsprotokoll war das zweimalige Auslösen von myokardialem Stunning unter Wirkung eines Opioidrezeptoragonisten oder -antagonisten bzw. eines Placebos an ein und demselben Tier vorgesehen. Dieses ist nur bei chronischen Tiermodellen möglich, worin ein großer Vorteil des vorliegenden Modells zu sehen ist. Für die Vergleichbarkeit aller Daten ist dann allerdings entscheidend, dass dieses stets unter gleichen Voraussetzungen erfolgt (Verdouw et al., 1998).

Überdies war die Versuchsdurchführung ohne Sedierung von größter Wichtigkeit. Die meisten Arbeitsgruppen sehen in ihren Versuchsabläufen eine Sedierung mit Diazepam oder ähnlichem vor, beschreiben aber ihre Arbeiten als an „wachen Schweinen“ durchgeführt. Dies ist aber nach eigener Auffassung unrichtig und strikt abzulehnen, da eine Sedierung mit Diazepam durch die Arbeitsgruppe um Verdouw durchaus die Stärke des myokardialen Stunnings beeinflussen könnte (Sun et al., 1995; Tang et al., 1996; Qiu et al., 1997; Kudej et al., 1998; Verdouw et al., 1998; Huang et al., 1999; Huang et al., 2003). Ferner könnten

Wechselwirkungen mit den im Versuch eingesetzten Opioidrezeptoragonisten oder -antagonisten entstehen. So werden Interaktionen von Benzodiazepinen mit dem  $\kappa$ -Opioidrezeptorsystem beschrieben (Cox und Collins, 2001; Tsuda et al., 1996). Auch Interaktionen von Sevofluran und Opioiden werden diskutiert (Docquier et al., 2003). Weiterhin erörtern verschiedene Arbeitsgruppen die Affinität von Ketamin zum Opioidrezeptorsystem, wobei insbesondere  $\mu$ - und  $\kappa$ -Rezeptoren beteiligt sein sollen (Hirota und Lambert, 1996; Hustveit et al., 1995). Somit ist es unumgänglich, die Versuche mit wachen Tieren durchzuführen, die tatsächlich keinerlei Analgetika und Sedativa etc. erhalten haben, da sonst die Ergebnisse massiv verfälscht würden und keine valide Aussage mehr getroffen werden könnte.

Der erste Versuchsteil erfolgte erst nach vollständiger postoperativer Erholung. Die Rekonvaleszenzzeit betrug aus folgenden Gründen etwa zehn Tage: Erstens zur Gewährleistung von Ausgangsbedingungen mit physiologischen Parametern in Bezug auf Herzfrequenz, mittlerem arteriellen Blutdruck und Atemfrequenz. Zweitens sollten nur gut konditionierte und im Verhalten stressarme Tiere in den Versuch geführt werden. Drittens konnten lokale oder systemische Infektionen vorher ausgeschlossen werden. Viertens waren alle während der Operation oder postoperativen Schmerztherapie verwendeten Pharmaka bis dahin vollständig aus dem Körper eliminiert. Auch mögliche Effekte der Pharmaka auf das Herz, wie der „preconditioning“-ähnliche Effekt von Sevofluran (Obal et al., 2003), wurden dadurch ausgeschlossen.

Der darauf folgende zweite Versuchsteil wurde erst nach vollständiger Erholung aller myokardialen Funktionen durchgeführt, um mögliche Effekte einer vorhergehenden auf eine nachfolgende Ischämie auszuschließen. Der Begriff des so genannten „ischemic preconditioning“ soll in diesem Zusammenhang nochmals erläutert werden. Es handelt sich hierbei um eine erhöhte Resistenz des Herzens gegenüber einer länger dauernden Ischämiephase durch eine oder meist mehrere vorhergehende, kurzdauernde Ischämie- und Reperfusionsphasen.

Tang und Mitarbeiter (1996) haben gezeigt, dass dieser protektive Effekt am stärksten zwischen dem ersten und dritten Tag nach einer myokardialen Ischämie ausgeprägt ist. Nach sechs Tagen jedoch sind keine Effekte des „ischemic preconditioning“ mehr nachweisbar (Tang et al., 1996). Bei den Untersuchungen von Shen und Vatner (1996) zeigte sich allerdings auch keine Abschwächung des myokardialen Stunning bei einer zweiten Ischämiephase nach nur 48 Stunden. Dieses ist wahrscheinlich auf die Dauer der Ischämie zurückzuführen, die bei beiden Versuchen gleich lang war (Shen und Vatner, 1996). Die

Arbeitsgruppe um Tang folgert daraus, dass mehrere kürzere ischämische Perioden für die Ausbildung des „preconditioning“-Effekt notwendig sind (Tang et al., 1996).

Eine Erholungsphase von zehn Tagen zwischen beiden Versuchsteilen reicht diesen Erkenntnissen zufolge aus, um mögliche Auswirkungen der ersten auf die folgende Ischämiephase zu verhindern.

Zu erwähnen ist ferner die Möglichkeit der Neubildung von koronaren Kollateralgefäßen, welche die Ergebnisse im zweiten Versuchteil verfälschen könnten. Diese ist aber nahezu auszuschließen, da das Schwein nur ein geringes Potential zur Ausbildung von Kollateralen besitzt. Roth und Mitarbeiter konnten zeigen, dass nur nach andauernder Ischämie und erst nach drei bis sieben Wochen Gefäße ausgebildet sind, welche darüber hinaus für die Gewährleistung eines suffizienten Blutflusses absolut unzureichend sind (Roth et al., 1987).

Zusätzlich wurde durch die zehntägige Erholungsphase die vollständige Elimination aller eingesetzten Substanzen sichergestellt, so dass die Vergleichbarkeit aller gesammelten Daten gewährleistet war.

## **5.6 Schlussfolgerung und Ausblick**

Die vorliegende Dissertation beschreibt die Entwicklung eines neuen Tiermodells zur Untersuchung der regionalen, postischämischen myokardialen Dysfunktion im Hinblick auf die Opioidrezeptormodulation.

Es wird dargelegt, warum sich das Schwein als Versuchstier besser eignet als vorher eingesetzte Tierarten. Zudem werden die bei der Umstellung des Tiermodells auftretenden Schwierigkeiten beleuchtet und Problemlösungen entwickelt.

Dieses ist der wesentliche Aspekt der Arbeit, da die reine Interpretation der Ergebnisse aufgrund der geringen Fallzahl, der Heterogenität und des unterschiedlichen Anästhesiemanagements der drei Tiergruppen Schwierigkeiten bereitet.

Das größte Problem bestand im Auftreten von Kammerflimmern während der Instrumentierung. Dabei spielten die im Folgenden aufgeführten Faktoren eine wesentliche Rolle:

1. Rasseauswahl: Diese wurde bei der dritten Tiergruppe durch Wahl der stressstabilen Kreuzung Britische Landrasse x Large White optimiert.

2. Tierhaltung: Erst ab der zweiten Tiergruppe war aus baulichen Gründen ein ausreichender Sozialkontakt möglich, dadurch verringerte sich das Stressaufkommen für die Schweine deutlich.

3. Training: Bei der dritten Gruppe mit dem größten Trainingseffekt trat kein stressinduziertes Kammerflimmern während der Operation auf.

4. Prämedikation: Diese konnte erst bei der dritten Tiergruppe hinreichend optimiert werden, so dass der präoperative Stress enorm gesenkt werden konnte.

5. Invasive Blutdruckmessung: Nach deren Einführung konnten auftretende intraoperative Komplikationen deutlich schneller erkannt und therapiert werden.

Ein weiteres Problem bestand in der aufwendigen, jedoch für das Versuchsvorhaben unabdingbaren Instrumentierung. So kam es bei der Präparation je einmal zu einer iatrogenen Läsion des Nervus phrenicus und der deszendierenden Aorta. Ein weiteres Mal wurde eine Rippenfraktur verursacht. Weiterhin führte eine Torsion des RIVA durch eine bereits aufgebrachte Flusssonde zu massiven Problemen.

Es ist daher wahrscheinlich, dass sich diese Schwierigkeiten auch bei sorgfältiger Präparation nicht immer sicher verhindern lassen. Jedoch wurde durch deren Auftreten besonders schnell und eindrücklich verdeutlicht, welches die wesentlichen präventiven Aspekte zur Vermeidung dieser Zwischenfälle und negativen Ausgänge während der Instrumentierung und vor allem auch prä- und postoperativ sind. Es wird daher erst möglich, Problemlösungen zu entwickeln und im Folgenden dann konsequent anzuwenden.

Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass es gelungen ist, ein neues Tiermodell für die kardiologische, kardiochirurgische und anästhesiologische Forschung aufzubauen, welches in Zukunft mithilfe der dargelegten Problemlösungen weiterentwickelt werden kann.

## 6 Zusammenfassung

Für Untersuchungen der regionalen, postischämischen myokardialen Dysfunktionen unter besonderer Berücksichtigung der Wirkungen von endogenen Opioidpeptiden und der Einflüsse des vegetativen Nervensystems standen als Großtiermodelle bisher das akut instrumentierte Schwein oder der chronisch instrumentierte Hund zur Verfügung.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Tiermodell des wachen, chronisch instrumentierten Schweins entwickelt, welches den Ansprüchen dieser Untersuchungen vor allem in Bezug auf die Intaktheit des vegetativen Nervensystems, die Intaktheit des kardiovaskulären Systems und die anatomische Ähnlichkeit zum Menschen deutlich besser gerecht wird. Zusätzlich wird durch den Umfang der Instrumentierung eine Vielzahl weitergehender Untersuchungen ermöglicht.

Im Hinblick auf die Rassenauswahl war die Kreuzung von Britischer Landrasse und Large White am besten geeignet. Es stellte sich ferner heraus, dass für eine gute Konditionierung der Tiere ein zweiwöchiges Training notwendig ist. Bei der Prämedikation hat sich eine Zolazepam-Tiletamin-Xylazin-Kombination bewährt, um von Operationsbeginn an eine stabile Hämodynamik zu erhalten. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde das volatile Anästhetikum Sevofluran sowie das Opioidanalgetikum Fentanyl eingesetzt. Die Instrumentierung umfasste die Implantation verschiedener Katheter und Sonden zur Druckmessung in Aorta und linkem Ventrikel, zur Flussmessung am Truncus pulmonalis und RIVA, zur Okklusion des RIVA, zur Messung der absoluten, myokardialen Wanddicke, zur Blutprobenentnahme und Perfusionmessung sowie zur Ableitung eines intrathorakalen EKG. Dabei entstanden die größten Schwierigkeiten während der Koronarpräparation, die sich in Kammerflimmern mit Verlust von mehreren Tieren äußerten. Dieses Problem konnte erst mit Hilfe von invasiver Blutdruckmessung mit konsequenter Überwachung beherrscht werden. Nur dadurch waren zeitnahe therapeutische Interventionen möglich. Postoperativ empfahl sich der Einsatz eines Fentanyl freisetzenden Hautpflasters. Die Tiere zeigten sich in der gesamten postoperativen Phase sehr kooperativ und ohne Anzeichen von Schmerzen oder Unwohlsein. Die Ursache ist hier sicher die konsequente und suffiziente Analgesie, auch im postoperativen Verlauf. Nach zusätzlicher Optimierung der chirurgischen Techniken (beispielsweise Vermeidung von suboptimalen Gefäßokkluderlagen) konnten die folgenden Tiere problemlos in die eigentlichen Untersuchungen integriert werden. Derzeit läuft das „Modell“ reproduzierbar stabil, wodurch nun die anfangs formulierten Ansprüche an das experimentelle Setting erfüllt werden. Das bedeutet, dass die Ergebnisse weitestgehend frei

von Einflüssen einer akuten Instrumentierung zu interpretieren sind. Dies ist der klassische Vorteil einer chronischen Instrumentierung. Durch die Wahl eines chronischen Modells werden die Ergebnisse valider und reproduzierbarer, da die akuten Einflüsse maximal reduziert werden können.



## 7 Summary

For investigation of the regional, postischemic myocardial dysfunctions in special consideration of effects of endogenous opioid peptides and influences of autonomic nervous system the acute instrumented pig or chronically instrumented dog as models of large animals were hitherto available.

In the present study an animal model of the awake, chronically instrumented pig was developed, which meets the demands of these investigation especially in relation to the intactness of the autonomic nervous system, intactness of the cardiovascular system and anatomic similarity to humans.

With regard to the selection of race, the crossing of British Landrace and Large White was best suitable. Furthermore it was found out that a two-week-training is necessary for a good conditioning.

For premedication a combination of zolazepam, tiletamine and xylazine was reliable for obtaining stabilized hemodynamics from the beginning of operation. For maintaining anesthesia the volatile anesthetic sevoflurane and the opioidanalgesic fentanyl were used. Instrumentation enclosed implantation of sundry catheters and probes for measurement of aortic and left ventricular pressure, measurement of bloodflow velocity of pulmonary trunk and RIVA, occlusion of RIVA, measurement of perfusion and myocardial wall thickness, taking blood samples and for derivation in intrathoracal ECG.

Most difficulties resulted from the preparation of the coronary arteries, showing ventricular fibrillation and thus the death of several animals. This problem could only be solved when blood pressure was measured invasively and, at the same time, permanently controlled. Only by this means immediate therapeutical interventions have been possible.

After instrumentation the use of an adhesive fentanyl releasing plaster turned out to be most suitable. Animals appeared highly cooperative and without signs of pain or indisposition during the entire phase after operation.

The reason for this is certainly the consistent and sufficient analgesia, also in the postoperatively course. After supplementary improvement of surgical techniques (for example avoidance of suboptimal positions of vascular occluders) the following animals could be integrated to the actual investigations without any problems. At present this "model" is reproducibly stable, by which the initial formulated demands to the experimental setting will be fulfilled. This means that the results can be interpreted as largely independent of influences of an acute instrumentation. This is the typical advantage of a chronical instrumentation. By

choosing a chronic model the results become more valid and reproducible because acute influences can be reduced at most.

## 8 Literaturverzeichnis

Åblad, B, Abrahamsson, T, Adler, G, Bjorkman, JA, Bjuro, T, Ek, L, Ervik, M, Sjoquist, PO, Sutherland, I, Svensson, L (1987):

“Cardiac anti-ischemic effect of metoprolol: role of beta-blockade within the ischemic region.“ *J Cardiovasc Pharmacol*, 10, S117–125.

Ballantyne, CM, Verani, MS, Short, HD, Hyatt, C, Noon, GP (1987):

“Delayed recovery of severely ‘stunned’ myocardium with the support of a left ventricular assist device after coronary artery bypass graft surgery.“ *J Am Coll Cardiol*, 10, 710–712.

Baroldi, G, Mantero, O, Scomazzoni, G (1956):

“The collaterals of the coronary arteries in normal and pathologic hearts.“ *Circ Res*, 4, 223–229.

Barron, BA (1999):

“Opioid peptides and the heart.“ *Cardiovasc Res*, 43, 13–16.

Benedict, PE, Benedict, MB, Su, TP, Bolling, SF (1999):

“Opiate drugs and delta-receptor-mediated myocardial protection.“ *Circulation*, 100, II357–360.

Benson, GJ und Thurmon, JC (1979):

“Anesthesia of swine under field conditions.“ *J Am Vet Med Assoc*, 174, 594–596.

Bickhardt, K (2001):

“Muskelkrankungen.“ In: Plonait, H und Bickhardt, K: Lehrbuch der Schweinekrankheiten, 3. Auflage, Paul Parey, Berlin, 239–259.

Bishop, SP, White, FC, Bloor, CM (1976):

“Regional myocardial blood flow during acute myocardial infarction in the conscious dog.“ *Circ Res*, 38, 429–438.

Boettiger, BW, Motsch, J, Fleischer, F, Bauer, H, Bohrer, H, Martin, E (1996):

“Prämedikation koronarer Risikopatienten – Ergebnisse einer Umfrage.“ *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 31, 148–154.

Bolli, R (1990):

“Mechanism of myocardial ‘stunning’.“ *Circulation*, 82, 723–738.

Bolli, R (1992):

“Myocardial ‘stunning’ in man.“ *Circulation*, 86, 1671–1691.

Bolli, R (1998):

“Why myocardial stunning is clinically important.“ *Basic Res Cardiol*, 93, 169–172.

Bolli, R (2000):

“The late phase of preconditioning.“ *Circ Res*, 87, 972–983.

Bolli, R und Marbán, E (1999):

“Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning.“ *Physiol Rev*, 79, 609–634.

Bolukoglu, H, Liedtke, AJ, Nellis, SH, Eggleston, AM, Subramanian, R, Renstrom, B (1992):

“An animal model of chronic coronary stenosis resulting in hibernating myocardium.“ *Am J Physiol*, 263, 20–29.

Braunwald, E und Kloner, RA (1982):

“The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction.“ *Circulation*, 66, 1146–1149.

Briggs, HM (1983):

“International Pig Breed Encyclopedia.“ *Elanco Animal Health*.

Bundesamt für Veterinärwesen der Schweiz (1994):

“Retrospektive Einteilung von Tierversuchen nach Schweregraden (Belastungskategorien).“ *Information Tierschutz*, 1.05, 16.

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (1998):

“Tierschutzgesetz in der Fassung vom 25.05.1998.“ *BGBl*, I, 1105.

Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (2001):

“Tierschutz-Hundeverordnung vom 02.05.2001.“ *BGBl*, I, 838.

Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (2003):

“Tierschutzbericht 2003.“ *Deutscher Bundestag, Drucksache*, 15/723.

Chen, YT, Lin, CJ, Lee, AY (1995):

“Plasma levels of endogenous opioid peptides in patients with acute myocardial infarction.“ *Jpn Heart J*, 36, 421–427.

Clark, JA, Liu, L, Price, M, Hersh, B, Edelson, M, Pasternak, GW (1989):

“Kappa opiate receptor multiplicity: evidence for two U50,488-sensitive kappa 1 subtypes and a novel kappa 3 subtype.“ *J Pharmacol Exp Ther*, 251, 461–468.

Cockshott, ID, Douglas, EJ, Plummer, GF, Simons, PJ (1992):

“The pharmacokinetics of propofol in laboratory animals.“ *Xenobiotica*, 22, 369–375.

Cohen, MV und Yipintsoi, T (1981):

“Restoration of cardiac function and myocardial flow by collateral development in dogs.“ *Am J Physiol*, 240, 811–819.

Coles, JA, Sigg, DC, Iaizzo, PA (2003):

“Role of kappa-opioid receptor activation in pharmacological preconditioning of swine.“ *Am J Physiol*, 284, 2091–2099.

Collin, A, Milgen, J van, Dubois, S, Noblet, J (2001):

“Effect of high temperature and feeding level on energy utilization in piglets.“ *J Anim Sci*, 79, 1849–1857.

Conradie S, Coetzee A, Coetzee J (1999):

“Anesthetic modulation of myocardial ischemia and reperfusion injury in pigs: comparison between halothane and sevoflurane.“ *Can J Anaesth*, 46, 71–81.

Coper, H und Helmchen, H (1992):

“Psychopharmaka.“ In: Forth, W, Henschler, D, Rummel, W, Starke, K: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 6. Auflage, Wissenschaftsverlag, Mannheim/ Leipzig/ Wien/ Zürich, 291–295.

Cox, RF und Collins, MA (2001):

“The effects of benzodiazepines on human opioid receptor binding and function.“ *Anesth Analg*, 93, 354–358.

Depre, C, Tomlinson, JE, Kudej, RK, Gaussin, V, Thompson, E, Kim, SJ, Vatner, DE, Topper, JN, Vatner, SF (2001):

“Gene program for cardiac cell survival induced by transient ischemia in conscious pigs.“ *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 9336–9341.

Docquier, MA, Lavand'homme, P, Ledermann, C, Collet, V, De Kock, M (2003):

“Can determining the minimum alveolar anesthetic concentration of volatile anesthetic be used as an objective tool to assess antinociception in animals?“ *Anesth Analg*, 97, 1033–1039.

Duncker, DJ, Haitsma, DB, Geest, IE van der, Stubenitsky, R, Meegen, JR van, Man in't Veld, AJ, Verdouw, PD (1997):

“Systemic, pulmonary and coronary haemodynamic actions of the novel dopamine receptor agonist in awake pigs at rest and during treadmill exercise Z1046.“ *Br J Pharmacol*, 120, 1101–1113.

Duncker, DJ, Haitsma, DB, Liem, DA, Heins, N, Stubenitsky, R, Verdouw, PD (2001):

“Beneficial effects of the Ca<sup>2+</sup> sensitizer EMD 57033 in exercising pigs with infarction-induced chronic left ventricular dysfunction.“ *Br J Pharmacol*, 134, 553–562.

Duncker, DJ, Stubenitsky, R, Verdouw, PD (1998):

“Autonomic control of vasomotion in the porcine coronary circulation during treadmill exercise: evidence for feed-forward beta-adrenergic control.“ *Circ Res*, 82, 1312–1322.

Eckstein, RW (1954):

“Coronary interarterial anastomoses in young pigs and mongrel dogs.“ *Circ Res*, 2, 460–465.

Fagbemi, O, Lepran, I, Parratt, JR, Szekeres, L (1982):

“Naloxone inhibits early arrhythmias resulting from acute coronary ligation.“ *Br J Pharmacol*, 76, 504–506.

Fallavollita, JA und Canty, JM (1999):

“Differential 18F-2-deoxyglucose uptake in viable dysfunctional myocardium with normal resting perfusion: evidence for chronic stunning in pigs.“ *Circulation*, 99, 2798–2805.

Fallavollita, JA, Logue, M, Canty, JM (2001):

“Stability of hibernating myocardium in pigs with a chronic left anterior descending coronary artery stenosis: absence of progressive fibrosis in the setting of stable reductions in flow, function and coronary flow reserve.“ *J Am Coll Cardiol*, 37, 1989–1995.

Fallavollita, JA, Perry, BJ, Canty, JM (1997):

“18F-2-deoxyglucose deposition and regional flow in pigs with chronically dysfunctional myocardium. Evidence for transmural variations in chronic hibernating myocardium.“ *Circulation*, 95, 1900–1909.



Fallavollita, JA, Riegel, BJ, Suzuki, G, Valeti, U, Canty, JM (2005):

“Mechanism of sudden cardiac death in pigs with viable chronically dysfunctional myocardium and ischemic cardiomyopathy.“ *Am J Physiol*, 289, 2688–2696.

Fallavollita, JA, Trojan, C, Canty, JM (2000):

“Transmural distribution of FDG uptake in stunned myocardium.“ *Am J Physiol*, 279, 102–109.

Frank, T, Wehner, M, Heinke, W, Schmadicke, I (2002):

“Clonidin vs. Midazolam zur Prämedikation – Vergleich des anxiolytischen Effekts mittels STAI-Test.“ *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 37, 89–93.

Gross, ER, Peart, JN, Hsu, AK, Auchampach, JA, Gross, GJ (2005):

“Extending the cardioprotective window using a novel delta-opioid agonist fentanyl isothiocyanate via the PI3-kinase pathway.“ *Am J Physiol*, 288, 2744–2749.

Große Hartlage, M (2002):

“Der Einfluß von Naloxon auf myokardiales Stunning und die transmyokardiale Perfusionsverteilung im chronisch instrumentierten wachen Hund.“ Med Diss, Universität Münster.

Große Hartlage, M, Berendes, E, Aken, H van, Fobker, M, Theisen, MM, Weber, TP (2004):

“Xenon improves recovery from myocardial stunning in chronically instrumented dogs.“ *Anesth Analg*, 99, 655–664.

Große Hartlage, MA, Theisen, MM, Monteiro de Oliveira, NP, Aken, H van, Fobker, M, Weber, TP (2006):

“Kappa-opioid receptor antagonism improves recovery from myocardial stunning in chronically instrumented dogs.“ *Anesth Analg*, 103, 822–832.

GV SOLAS – Gesellschaft für Versuchstierkunde – Society for Laboratory Animal Science (1988):

“Zur Planung und Struktur von Versuchstierbereichen tierexperimentell tätiger Institutionen.“ Ausschuss für Ausbildung und tiergerechte Haltung.

GV SOLAS – Gesellschaft für Versuchstierkunde – Society for Laboratory Animal Science (1999):

“Fütterungskonzepte und -methoden in der Versuchstierhaltung und im Tierversuch: Minipig.“ Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere.

GV SOLAS – Gesellschaft für Versuchstierkunde – Society for Laboratory Animal Science (2002):

“Schmerztherapie bei Versuchstieren.“ Ausschuss für Anästhesiologie.

Hammond, HK, Roth, DA, McKirnan, MD, Ping, P (1993):

“Regional myocardial downregulation of the inhibitory guanosine triphosphate-binding protein (Gi alpha 2) and beta-adrenergic receptors in a porcine model of chronic episodic myocardial ischemia.“ *J Clin Invest*, 92, 2644–2652.

Harada, K, Friedman, M, Lopez, JJ, Wang, SY, Li, J, Prasad, PV, Pearlman, JD, Edelman, ER, Sellke, FW, Simons, M (1996):

“Vascular endothelial growth factor administration in chronic myocardial ischemia.“ *Am J Physiol*, 270, 1791–1802.

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, 1066–1072.

Harvey-Clark, CJ, Gilespeie, K, Riggs, KW (2000):

“Transdermal fentanyl compared with parenteral buprenorphine in post-surgical pain in swine: a case study.“ *Lab Anim*, 34, 386–398.

Henrikson, H, Jensen-Waern, M, Nyman, G (1995):

“Anaesthetics for general anaesthesia in growing pigs.“ *Acta Vet Scand*, 36, 401–411.

Hess, L, Vrana, M, Vranova, Z, Fejfar, Z (1989):

“The electrostabilizing effect of a combination of midazolam and fentanyl: an experimental study in the dog.“ *Cor Vasa*, 31, 411–418.

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, 978–985.

Hirota, K und Lambert, DG (1996):

“Ketamine: its mechanism(s) of action and unusual clinical uses.“ *Br J Anaesth*, 77, 441–444.

Huang, CH, Kim, SJ, Ghaleh, B, Kudej, RK, Shen, YT, Bishop, SP, Vatner, SF (1999):

“An adenosine agonist and preconditioning shift the distribution of myocardial blood flow in conscious pigs.“ *Am J Physiol*, 276, 368–375.

Huang, CH, Vatner, SF, Peppas, AP, Yang, G, Kudej, RK (2003):

“Cardiac nerves affect myocardial stunning through reactive oxygen and nitric oxide mechanisms.“ *Circ Res*, 93, 866–873.

Hustveit, O, Maurset, A, Oye, I (1995):

“Interaction of the chiral forms of ketamine with opioid, phencyclidine, sigma and muscarinic receptors.“ *Pharmacol Toxicol*, 77, 355–359.

Jakobsen, CJ, Blom, L, Brondbjerg, M, Lenler-Petersen, P (1990):

“Effect of metoprolol and diazepam on pre-operative anxiety.“ *Anaesthesia*, 45, 40–43.

Jiang, Q, Takemori, AE, Sultana, M, Portoghese, PS, Bowen, WD, Mosberg, HI, Porreca, F (1991):

“Differential antagonism of opioid delta antinociception by [D-Ala<sup>2</sup>,Leu<sup>5</sup>,Cys<sup>6</sup>]enkephalin and naltrindole 5'-isothiocyanate: evidence for delta receptor subtypes.“ *J Pharmacol Exp Ther*, 257, 1069–1075.

Jurna, I (1992):

“Analgetika.“ In: Forth, W, Henschler, D, Rummel, W, Starke, K: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 6. Auflage, Wissenschaftsverlag, Mannheim/ Leipzig/ Wien/ Zürich, 202–203.

Kato, R und Foex, P (2000):

“Fentanyl reduces infarction but not stunning via delta-opioid receptors and protein kinase C in rats.“ *Br J Anaesth*, 84, 608–614.

Kato, R, Ross, S, Foex, P (2000):

“Fentanyl protects the heart against ischaemic injury via opioid receptors, adenosine A1 receptors and KATP channel linked mechanisms in rats.“ *Br J Anaesth*, 84, 204–214.

Kim, SJ, Peppas, A, Hong, SK, Yang, G, Huang, Y, Diaz, G, Sadoshima, J, Vatner, DE, Vatner, SF (2003):

“Persistent stunning induces myocardial hibernation and protection: flow/function and metabolic mechanisms.“ *Circ Res*, 92, 1233–1239.

Knight, AP (1980):

“Xylazine.“ *J Am Vet Med Assoc*, 176, 454–455.

Ko, JC, Williams, BL, Smith, VL, McGrath, CJ, Jacobson, JD (1993):

“Comparison of Telazol, Telazol-ketamine, Telazol-xylazine, and Telazol-ketamine-xylazine as chemical restraint and anesthetic induction combination in swine.“ *Lab Anim Sci*, 43, 476–480.

Kodani, E, Xuan, YT, Shinmura, K, Takano, H, Tang, XL, Bolli, R (2002):

“Delta-opioid receptor-induced late preconditioning is mediated by cyclooxygenase-2 in conscious rabbits.“ *Am J Physiol*, 283, 1943–1957.

Kudej, RK, Ghaleh, B, Sato, N, Shen, YT, Bishop, SP, Vatner, SF (1998):

“Ineffective perfusion-contraction matching in conscious, chronically instrumented pigs with an extended period of coronary stenosis.“ *Circ Res*, 82, 1199–1205.

Lambert, PR, Hess, DS, Bache, RJ (1977):

“Effect of exercise on perfusion of collateral-dependent myocardium in dogs with chronic coronary artery occlusion.“ *J Clin Invest*, 59, 1–7.

Lasley, RD, Jahania, MS, Mentzer, RM (2001):

“Beneficial effects of adenosine A(2a) agonist CGS-21680 in infarcted and stunned porcine myocardium.“ *Am J Physiol*, 280, 1660–1666.

Löscher, W (1999):

“Pharmaka mit Wirkung auf das autonome (vegetative) Nervensystem.“ In: Löscher, W, Ungemach, FR, Kroker, R: *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, 4. Auflage, Parey, Berlin, 39–59.

Löscher, W (1999):

“Pharmaka mit Wirkung auf das Zentralnervensystem.“ In: Löscher, W, Ungemach, FR, Kroker, R: *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, 4. Auflage, Parey, Berlin, 67–117.

Louis, JD St, Hughes, GC, Kypson, AP, DeGrado, TR, Donovan, CL, Coleman, RE, Yin, B, Steenbergen, C, Landolfo, KP, Lowe, JE (2000):

“An experimental model of chronic myocardial hibernation.“ *Ann Thorac Surg*, 69, 1351–1357.

Mathur, S, Farhangkhgoee, P, Karmazyn, M (1999):

“Cardioprotective effects of propofol and sevoflurane in ischemic and reperfused rat hearts.“ *Anesthesiology*, 91, 1349–1360.

McFalls, EO, Baldwin, D, Palmer, B, Marx, D, Jaimes, D, Ward, HB (1997):

“Regional glucose uptake within hypoperfused swine myocardium as measured by positron emission tomography.“ *Am J Physiol*, 272, 343–349.

McFalls, EO, Murad, B, Haspel, HC, Marx, D, Sikora, J, Ward, HB (2003):

“Myocardial glucose uptake after dobutamine stress in chronic hibernating swine myocardium.“ *J Nucl Cardiol*, 10, 385–394.

Meier, TR (2006):

“Swine anesthesia and analgesia guidelines.“ Unit for laboratory animal medicine, 1–9.

Merkus, D, Houweling, B, Meiracker, AH van den, Boomsma, F, Duncker, DJ (2005):

“Contribution of endothelin to coronary vasomotor tone is abolished after myocardial infarction.“ *Am J Physiol*, 288, 871–880.

Näslund, U, Häggmark, S, Johansson, G, Marklund, SL, Reiz, S (1992):

“A closed-chest myocardial occlusion-reperfusion model in the pig: techniques, morbidity and mortality.“ *Eur Heart J*, 13, 1282–1289.

Obal, D, Scharbatke, H, Barthel, H, Preckel, B, Mullenheim, J, Schlack, W (2003):

“Cardioprotection against reperfusion injury is maximal with only two minutes of sevoflurane administration in rats.“ *Can J Anaesth*, 50, 940–945.

Paradis, P, Dumont, M, Belichard, 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, 593–598.

Park, SW, Tang, XL, Qiu, Y, Sun, JZ, Bolli, R (1996):

“Nisoldipine attenuates myocardial stunning induced by multiple coronary occlusions in conscious pigs and this effect is independent of changes in hemodynamics or coronary blood flow.“ *J Mol Cell Cardiol*, 28, 655–666.

Pasternak, GW und Wood, PJ (1986):

“Multiple mu opiate receptors.“ *Life Sci*, 38, 1889–1898.

Peart, JN und Gross, GJ (2004):

“Exogenous activation of delta- and kappa-opioid receptors affords cardioprotection in isolated murine heart.“ *Basic Res Cardiol*, 99, 29–37.

Peart, JN, Patel, HH, Gross, GJ (2003):

“Delta-opioid receptor activation mimics ischemic preconditioning in the canine heart.“ *J Cardiovasc Pharmacol*, 42, 78–81.

Pitsillides, KF und Longhurst, JC (1995):

“An ultrasonic system for measurement of absolute myocardial thickness using a single transducer.“ *Am J Physiol*, 268, 1358–1367.

Preckel, B, Schlack, W, Comfere, T, Obal, D, Barthel, H, Thamer, V (1998):

“Effects of enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on reperfusion injury after regional myocardial ischaemia in the rabbit heart in vivo.“ *Br J Anaesth*, 81, 905–912.

Pyle, WG, Lester, JW, Hofmann, PA (2001):

“Effects of kappa-opioid receptor activation on myocardium.“ *Am J Physiol*, 281, 669–678.



Qiu, Y, Tang, XL, Park, SW, Sun, JZ, Kalya, A, Bolli, R (1997):

“The early and late phases of ischemic preconditioning: a comparative analysis of their effects on infarct size, myocardial stunning, and arrhythmias in conscious pigs undergoing a 40-minute coronary occlusion.“ *Circ Res*, 80, 730–742.

Rahimtoola, SH (1985):

“A perspective on the three large multicenter randomized clinical trials of coronary bypass surgery for chronic stable angina.“ *Circulation*, 72, 123–135.

Rioufol, G, Pietri, S, Culcasi, M, Loufoua, J, Staat, P, Pop, C, Drieu, K, Ovize, M (2003):

“Ginkgo biloba extract EGb 761 attenuates myocardial stunning in the pig heart.“ *Basic Res Cardiol*, 98, 59–68.

Ross, S, Munoz, H, Piriou, V, Ryder, WA, Foex, P (1998):

“A comparison of the effects of fentanyl and propofol on left ventricular contractility during myocardial stunning.“ *Acta Anaesthesiol Scand*, 42, 23–31.

Roth, DM, Maruoka, Y, Rogers, J, White, FC, Longhurst, JC, Bloor, CM (1987):

“Development of coronary collateral circulation in left circumflex Ameroid-occluded swine myocardium.“ *Am J Physiol*, 253, 1279–1288.

Sager, M (1997):

“Empfehlungen zur Schmerzbehandlung beim Versuchstier.“ Merkblatt der Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz, Arbeitskreis Versuchstiere, 1–14.

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 action on the central nervous system.“ *Circ Res*, 65, 103–114.

Sambraus, HH (1994):

“Schweine.“ In: Sambraus, HH: Atlas der Nutztierassen, 4. Auflage, Ulmer, Stuttgart, 276–297.

Sato, S, Sato, N, Kudej, RK, Uechi, M, Asai, K, Shen, YT, Ishikawa, Y, Vatner, SF, Vatner, DE (1997):

“Beta-adrenergic receptor signalling in stunned myocardium of conscious pigs.“ *J Mol Cell Cardiol*, 29, 1387–1400.

Schmitz, F (2007):

“Herz und Herzbeutel.“ In: Bob, A und Bob, K: Anatomie, Duale Reihe, Thieme, Stuttgart, 566–594.

Schnoor, J, Unger, JK, Kuepper, T, Bode, B, Hofeditz, A, Silny, J, Rossaint, R (2005):

“Effects of propofol and fentanyl on duodenal motility activity in pigs.“ *Can Vet J*, 46, 995–1001.

Schott, RJ, Rohmann, S, Braun, ER, Schaper, W (1990):

“Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium.“ *Circ Res*, 66, 1133–1142.

Schultz, JE, Hsu, AK, Gross, GJ (1998):

“Ischemic preconditioning in the intact rat heart is mediated by delta1- but not mu- or kappa-opioid receptors.“ *Circulation*, 97, 1282–1289.

Schultz, JE, Hsu, AK, Nagase, H, Gross, GJ (1998):

“TAN-67, a delta 1-opioid receptor agonist, reduces infarct size via activation of Gi/o proteins and KATP channels.“ *Am J Physiol*, 274, 909–914.

Schulz, R, Gres, P, Heusch, G (2001):

“Role of endogenous opioids in ischemic preconditioning but not in short-term hibernation in pigs.“ *Am J Physiol*, 280, 2175–2181.

Schulz, R und Heusch, G (2000):

“Hibernating myocardium.“ *Heart*, 84, 587–594.

Schummer, A und Habermehl, KH (1984):

“Organe des Kreislaufs.“ In: Nickel, R, Schummer, A, Seiferle, E: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band III, Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane, 2. Auflage, Paul Parey, Berlin und Hamburg, 45–47, 53–55, 74

Schwartz, LM, Jennings, RB, Reimer, KA (1997):

“Premedication with the opioid analgesic butorphanol raises the threshold for ischemic preconditioning in dogs.“ *Basic Res Cardiol*, 92, 106–114.

Shen, YT und Vatner, SF (1995):

“Mechanism of impaired myocardial function during progressive coronary stenosis in conscious pigs. Hibernation versus stunning?“ *Circ Res*, 76, 479–488.

Shen, YT und Vatner, SF (1996):

“Differences in myocardial stunning following coronary artery occlusion in conscious dogs, pigs, and baboons.“ *Am J Physiol*, 270, 1312–1322.

Sigg, DC, Coles, JA, Gallagher, WJ, Oeltgen, PR, Iaizzo, PA (2001):

“Opioid preconditioning: myocardial function and energy metabolism.“ *Ann Thorac Surg*, 72, 1576–1582.

Sigg, DC, Coles, JA, Oeltgen, PR, Iaizzo, PA (2002):

“Role of delta-opioid receptor agonists on infarct size reduction in swine.“ *Am J Physiol*, 282, 1953–1960.

Starke, K und Palm, D (1992):

“Grundlagen der Pharmakologie des Nervensystems.“ In: Forth, W, Henschler, D, Rummel, W, Starke, K: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 6. Auflage, Wissenschaftsverlag, Mannheim/ Leipzig/ Wien/ Zürich, 117–118

Stevens, RM, Salik Jahania, M, Mentzer, RM, Lasley, RD (2004):

“Sodium-hydrogen exchange inhibition attenuates in vivo porcine myocardial stunning.“ *Ann Thorac Surg*, 77, 651–657.

Sun, JZ, Tang, XL, Knowlton, AA, Park, SW, Qiu, Y, Bolli, R (1995):

“Late preconditioning against myocardial stunning. An endogenous protective mechanism that confers resistance to postischemic dysfunction 24 h after brief ischemia in conscious pigs.“ *J Clin Invest*, 95, 388–403.

Sun, JZ, Tang, XL, Park, SW, Qiu, Y, Turrens, JF, Bolli, R (1996):

“Evidence for an essential role of reactive oxygen species in the genesis of late preconditioning against myocardial stunning in conscious pigs.“ *J Clin Invest*, 97, 562–576.

Sweitzer, RA, Ghneim, GS, Gardner, IA, Vuren, D van, Gonzales, BJ, Boyce, WM (1997):

“Immobilization and physiological parameters associated with chemical restraint of wild pigs with Telazol and xylazine hydrochloride.“ *J Wildl Dis*, 33, 198–205.

Swindle, MM (1984):

“Swine as replacements for dogs in the surgical teaching and research laboratory.“ *Lab Anim Sci*, 34, 383–385.

Swindle, MM, Horneffer, PJ, Gardner, TJ, Gott, VL, Hall, TS, Stuart, RS, Baumgartner, WA, Borkon, AM, Galloway, E, Reitz, BA (1986):

“Anatomic and anesthetic considerations in experimental cardiopulmonary surgery in swine.“ *Lab Anim Sci*, 36, 357–361.

Swindle, MM, Smith, AC, Hepburn, BJ (1988):

“Swine as models in experimental surgery.“ *J Invest Surg*, 1, 65–79.

Tang, XL, Qiu, Y, Park, SW, Sun, JZ, Kalya, A, Bolli, R (1996):

“Time course of late preconditioning against myocardial stunning in conscious pigs.“ *Circ Res*, 79, 424–434.

Tang, XL, Qiu, Y, Turrens, JF, Sun, JZ, Bolli, R (1997):

“Late preconditioning against stunning is not mediated by increased antioxidant defenses in conscious pigs.“ *Am J Physiol*, 273, 1651–1657.

Tsuda, M, Suzuki, T, Misawa, M, Nagase, H (1996):

“Involvement of the opioid system in the anxiolytic effect of diazepam in mice.“ *Eur J Pharmacol*, 307, 7–14.

Valtchanova-Matchouganska, A und Ojewole, JA (2002):

“Involvement of opioid delta (delta)- and kappa (kappa)-receptors in ischemic preconditioning in a rat model of myocardial infarction.“ *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 24, 139–144.

Verdouw, PD, Doel, MA van den, Zeeuw, S de, Duncker, DJ (1998):

“Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes.“ *Cardiovasc Res*, 39, 121–135.

Villemagne, PS, Dannals, RF, Ravert, HT, Frost, JJ (2002):

“PET imaging of human cardiac opioid receptors.“ *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 29, 1385–1388.

Wang, GY, Wu, S, Pei, JM, Yu, XC, Wong, TM (2001):

“Kappa- but not delta-opioid receptors mediate effects of ischemic preconditioning on both infarct and arrhythmia in rats.“ *Am J Physiol*, 280, 384–391.

Weber, TP, Raufbake, C, Grosse Hartlage, MA, Rolf, N, Stypmann, J, Aken, H van, Berendes, E, Meissner, A (2002):

“Naloxone prevents increased atrial natriuretic peptide release during regional myocardial ischaemia and stunning in awake dogs.“ *Br J Anaesth*, 88, 87–93.

Weber, TP, Stypmann, J, Meissner, A, Hartlage, MG, Aken, H van, 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, 545–549.

White, FC, Carroll, SM, Magnet, A, Bloor, CM (1992):

“Coronary collateral development in swine after coronary artery occlusion.“ *Circ Res*, 71, 1490–1500.

Wirth, KJ, Maier, T, Busch, AE (2001):

“NHE1-inhibitor cariporide prevents the transient reperfusion-induced shortening of the monophasic action potential after coronary ischemia in pigs.“ *Basic Res Cardiol*, 96, 192–197.

Wong, TM und Lee, AY (1987):

“Chronic morphine treatment reduces the incidence of ventricular arrhythmias in the isolated rat heart induced by dynorphin1-13 or myocardial ischemia and reperfusion.“ *Neurosci Lett*, 77, 61–65.

Wu, D, Soong, Y, Zhao, GM, Szeto, HH (2002):

“A highly potent peptide analgesic that protects against ischemia-reperfusion-induced myocardial stunning.“ *Am J Physiol*, 283, 783–791.

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, 1273–1277.

Zeeuw, S de, Trines, SA, Krams, R, Verdouw, PD, Duncker, DJ (2000):

“Cardiovascular profile of the calcium sensitizer EMD 57033 in open-chest anaesthetized pigs with regionally stunned myocardium.“ *Br J Pharmacol*, 129, 1413–1422.

Zhan, ZY, Lee, AY, Wong, TM (1985):

“Naloxone blocks the cardiac effects of myocardial ischaemia and reperfusion in the rat isolated heart.“ *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 12, 373–378.



## **9 Danksagung**

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben und an deren Gelingen beteiligt sind.

Frau Prof. Dr. med. vet. Ulrike Matis möchte ich für die Übernahme der Betreuung der Dissertation an der Tierärztlichen Fakultät München danken.

Herrn Prof. Dr. med. Thomas Weber danke ich für die Überlassung des Themas und für die Hilfestellung sowie die treffsichere Darstellung der Situationen während der Durchführung.

Herrn Dr. med. Marc Theisen möchte ich besonders für die fachliche und persönliche Unterstützung bei der Abfassung und Korrektur dieser Arbeit danken.

Besonderer Dank gilt Jochen, der mich immer wieder motiviert hat.

Meiner Familie danke ich besonders für die Unterstützung und den Rückhalt, den sie mir auf meinem Lebensweg immer gegeben hat.