

Aus dem Physiologischen Institut
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. U. Pohl
und der
Klinik für Anästhesiologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. K. Peter

Wirkung von Anästhetika auf die Permeabilität von Koronarendothel

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Tim Eiser
aus
Mönchengladbach
2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. B.F. Becker

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Enders
Prof. Dr. E. Fink

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. B. Heindl

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 07.04.2005

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
1. Einleitung.....	5
1.1. Das Endothel.....	5
1.1.1. Das Endothel als regulierende Grenzschicht	5
1.1.2. Versorgung von Geweben durch die basale Permeabilität	5
1.2. Pathologien mit erhöhter mikrovaskulärer Permeabilität	6
1.2.1. Pathophysiologie.....	6
1.2.2. Entzündung, Ischämie und Reperfusion	7
1.2.3. ANP.....	8
1.3. Anästhesie und Permeabilitätserhöhung.....	8
1.3.1. Anästhetisch wirksame Medikamente	8
1.3.2. Klinische Erkenntnisse zu Anästhesie und Permeabilitätsänderungen .	9
1.3.3. Experimentelle Erkenntnisse zu Anästhesie und Permeabilitätsänderungen.....	10
1.4. Fragestellung	11
2. Materialien und Methodik	13
2.1. Materialien.....	13
2.1.1. Substanzen	13
2.1.2. Pufferlösungen	13
2.1.3. Versuchstiere	14
2.2. Methoden	14
2.2.1. Prinzip des isovolumetrisch-schlagenden Herzpräparates (Langendorff- Präparat)	14
2.2.2. Das Langendorff-Modell in dieser Arbeit	15
2.2.3. Präparation der Meerschweinherzen	16
2.2.4. Versuchsprotokolle.....	18
2.2.5. Versuchsprotokoll 1.....	18
2.2.6. Versuchsprotokoll 2.....	20
2.2.7. Versuchsprotokoll 3.....	21
2.2.8. Analytische Aufarbeitung der Effluatproben	22
2.2.9. Statistische Auswertung	23
3. Ergebnisse	24

3.1.	Ergebnisse des Versuchsprotokolls 1	24
3.1.1.	Kontrolle	24
3.1.2.	Thiopental	31
3.1.3.	Ketamin	36
3.1.4.	Sevofluran	39
3.1.5.	Propofol.....	44
3.1.6.	Zusammenfassung des Versuchsprotokolls 1	49
3.2.	Ergebnisse des Versuchsprotokolls 2	50
3.2.1.	Muskarinerge Rezeptor-Hemmung	51
3.2.2.	Auswirkungen auf funktionelle Herzparameter.....	55
3.2.3.	Zusammenfassung.....	57
3.3.	Ergebnisse des Versuchsprotokolls 3	58
3.3.1.	Beeinflussung der Acetylcholin-vermittelten Effekte auf den Transsudatfluß durch Propofol	58
3.3.2.	Beeinflussung der Acetylcholin-vermittelten Effekte auf die funktionellen Herzparameter durch Propofol	60
3.4.	Analytische Auswertung der Effluatproben.....	62
4.	Diskussion	63
4.1.	Methodik.....	63
4.2.	Permeabilität	63
4.2.1.	Physiologische Grundlagen der Permeabilität im Zellverband	63
4.2.2.	Trennung zwischen Intra- und Extravasalraum durch spezialisierte Zellen: Endothelzellen	64
4.2.3.	Erhöhte vaskuläre Permeabilität	66
4.2.4.	Erhöhte Permeabilität am Herzen	67
4.3.	Atriales natriuretisches Peptid (ANP)	68
4.3.1.	Allgemein	68
4.3.2.	Rezeptoren.....	70
4.3.3.	Relevanz zu den Ergebnissen.....	71
4.4.	Ischämie und Reperfusionsschaden	72
4.4.1.	Pathophysiologie.....	72
4.4.2.	Ischämie/Reperfusionsschaden durch Ca ²⁺ -Überladung	73
4.4.3.	Ischämie/Reperfusionsschaden durch Radikale	74
4.4.4.	Schädigung des Endothels durch Ischämie/Reperfusion	75

4.5.	Acetylcholin, muskarinerge Rezeptoren und deren Antagonisten	77
4.5.2.	Rezeptoren.....	78
4.5.3.	Wirkung.....	79
4.5.4.	Relevanz in dieser Arbeit	80
4.6.	Thiopental	81
4.6.1.	Wirkung und Pharmakokinetik.....	81
4.6.2.	Wirkung auf die Permeabilität	81
4.6.3.	Koronarfluß und Herzfrequenz.....	82
4.7.	Ketamin	83
4.7.1.	Wirkung und Pharmakokinetik.....	83
4.7.2.	Wirkung auf die Permeabilität	84
4.7.3.	Koronarfluß und Herzfrequenz.....	84
4.8.	Sevofluran	84
4.8.1.	Wirkung und Pharmakokinetik.....	84
4.8.2.	Wirkung auf die Permeabilität	85
4.8.3.	Koronarfluß und Herzfrequenz.....	86
4.9.	Propofol.....	87
4.9.1.	Wirkung und Pharmakokinetik.....	87
4.9.2.	Einfluß auf die Permeabilität	87
4.9.3.	Koronarfluß und Herzfrequenz.....	93
5.	Zusammenfassung	96
6.	Abkürzungstabelle	99
7.	Literaturverzeichnis	100
8.	Danksagung	111
9.	Bisherige Veröffentlichungen zu dieser Arbeit.....	113
10.	Lebenslauf	114

1. Einleitung

1.1. Das Endothel

1.1.1. Das Endothel als regulierende Grenzschicht

Blutgefäße werden durch ein einschichtiges Plattenepithel ausgekleidet, welches als Endothel bezeichnet wird. Furchgott und Zawadzki konnten 1980 zeigen, daß diese Zellschicht für die Acetylcholin-vermittelte Tonusänderung von Gefäßen verantwortlich ist ³⁸. Die Autoren vermuteten eine Transmittersubstanz für die endothelial-myogene Zell-Zell-Kommunikation, konnten diese Substanz aber nicht definieren. Aus diesem Grund wurde der Botenstoff bis 1987 umschreibend als „endothelium-derived relaxing factor“ (EDRF) bezeichnet. Erst dann gelang zwei unterschiedlichen Gruppen die Identifikation von Stickoxid (NO) als EDRF ^{63;108}. Heute weiß man, daß das Endothel an einer Vielzahl von physiologischen und pathophysiologischen Abläufen beteiligt ist:

- Regulierung der vaskulären Permeabilität
- Lipidtransport
- Regulierung des Vasotonus
- Regulierung der Gerinnung und der Fibrinolyse
- Vermittlung von Entzündungsprozessen
- Gefäßwandveränderungen, wie z. B. Remodeling oder Arteriosklerose ¹⁴⁹.

1.1.2. Versorgung von Geweben durch die basale Permeabilität

Das Endothel bildet im Gefäßaufbau die innerste Schicht und ist auf die Intima beschränkt. Es ist in den Kapillaren für den Stoffaustausch zwischen Gewebe und Blut verantwortlich, der teilweise passiv erfolgt, aber auch durch nichtspezifisch- oder ligandengesteuerte Transcytosis. Somit erfüllt das Endothel einerseits eine wichtige Barrierefunktion, andererseits ist es für die nutritive Versorgung der Gewebe zuständig.

Diese nutritive Versorgung erfordert eine gewisse Grundpermeabilität. So werden Substanzen aktiv oder passiv von intravasal nach extravasal transportiert. Dabei können Wasser sowie andere gelöste Substanzen mitgerissen werden. Somit findet

mit jeder Verschiebung von osmotisch wirksamen Substanzen auch eine Wasserverschiebung statt. Zusätzlich wird Flüssigkeit durch den hydrostatischen Druck im Gefäß durch die Gefäßwand abgepreßt. Dabei ist zu bedenken, daß Plasma kolloidosmotisch-wirksame Bestandteile enthält. Unter physiologischen Bedingungen halten sich onkotischer und hydrostatischer Druck annähernd die Waage (Starling-Kräfte). Damit bleibt auch der Wasserfluß von intra- nach extravasal und umgekehrt im Gleichgewicht¹²⁸. Dieser Wasserfluß kann trans- und/oder parazellulär erfolgen. Der parazelluläre Fluß ist von sogenannten Schlußleisten zwischen den Zellen abhängig. Diese werden hauptsächlich aus „tight junctions“ und *Zonae occludens* gebildet. Für den transzellulären Fluß gibt es mehrere Möglichkeiten, wie die passive Diffusion durch die Zellmembran, passiver Transport mittels Kanälen (Aquaporine), Substrattransport durch Transportproteine und Endo- und Exocytose über Vesikel. Eine Beeinträchtigung der Barrierefunktion des Endothels (unspezifische Permeabilitätserhöhung) kann zu Verlusten von Wasser, unter Umständen auch Proteinen aus dem Intravasaal- in den Extravasaalraum führen und dadurch die Funktion der betroffenen Gewebe oder Organe in hohem Maße beeinflussen.

1.2. Pathologien mit erhöhter mikrovaskulärer Permeabilität

1.2.1. Pathophysiologie

Unter bestimmten pathologischen Zuständen kommt es in der Mikrozirkulation zu Permeabilitätserhöhungen und damit zu Flüssigkeitsverschiebungen in das Gewebe. Ursachen dafür können sein:

- Veränderung der Starling-Kräfte
- Entzündungsreaktionen
- Physikalisch-chemische Schädigung (Hitze, UV-Licht, Strahlung, usw.)
- Inflammatorische Mediatoren (z. B. Bradykinin, Histamin, Tumornekrosefaktor- α (TNF α), usw.)
- Andere permeabilitätserhöhende Transmittersubstanzen, beispielsweise atriales natriuretisches Peptid (ANP)
- Ischämie und Reperfusion.

Die genauen Mechanismen der Permeabilitätserhöhungen für die unterschiedlichen Ursachen sind noch nicht endgültig geklärt (Übersichtsarbeit: Michel et Curry, 1999¹⁰⁰). Es wird diskutiert, daß sowohl rezeptorvermittelte, als auch direkt chemisch-

physikalisch schädigende Mechanismen beteiligt sind. Als Folge der Permeabilitäts-erhöhung können zelluläre, interstitielle und gemischte Ödeme auftreten.

1.2.2. Entzündung, Ischämie und Reperfusion

Entzündungsreaktionen, ob chronisch oder akut, haben klassischerweise eine Permeabilitätserhöhung zur Folge. Diese beruht auf mehreren Mechanismen: Zum einen kommt es zur Ausschüttung von sogenannten Entzündungsmediatoren, wie z. B. Histamin, Serotonin und Bradykinin, aber auch $\text{TNF}\alpha$. So konnte gezeigt werden, daß die frühe Permeabilitätserhöhung (binnen Minuten) in einer Entzündungsreaktion durch histaminerge Rezeptorenblocker verhindert werden kann¹⁶². Histamin und Serotonin verursachen dabei Öffnungen (Gaps) im Endothel, welche für den erhöhten Wasseraustritt verantwortlich sind, wobei sich dieser Prozeß nicht direkt in den Kapillaren, sondern in den postkapillären Venolen abzuspielen scheint^{91;92;100}. Die für die erhöhte Permeabilität mitverantwortlichen Gaps können dabei durch eine Aktin-Myosin-Aktivierung geöffnet werden, wodurch sich das Zytoskelett der Endothelzellen ändert und es zu einer Porenbildung zwischen den Zellen kommt^{29;125}.

Eine weitere wichtige Rolle spielt die Veränderung des interstitiellen Druckes. Durch Entzündung entsteht im Interstitium ein negativer Druck^{76;89;90;117;118}. Dieser ist bedingt durch ein Nachlassen der Fibroblasten-Kollagenfaser-Interaktion und eine damit verbundene „Auflockerung“ des Gewebes. Dadurch entsteht ein Unterdruck im Interstitium, der bei intakter Zirkulation durch einströmende freie Flüssigkeit ausgeglichen wird und so zur Ödembildung beiträgt¹⁶¹.

Ein anderer entscheidender Mechanismus in vivo ist die Expression von Adhäsionsmolekülen auf den Endothelzellen, die eine Migration von Leukozyten (Neutrophilen, Monozyten) ins Gewebe durch die Endothelschicht vermitteln und steuern^{129;139}. Dabei wird einerseits die endotheliale Barriere direkt „perforiert“, andererseits produzieren diese Entzündungszellen Sauerstoffradikale, Lipidmetaboliten und Proteasen, die zu einer weiteren Schädigung der endothelialen Funktion beitragen.

Die geschilderten Prozesse treten auch nach Ischämie/Reperfusion auf. Somit ist der Ischämie/Reperfusionsschaden im weitesten Sinne als Entzündungsreaktion zu verstehen und werten⁴⁶. Sie ist mit verantwortlich für die von Ku 1982 erstmals beschriebene postischämische endotheliale Dysfunktion⁷⁸, die ebenfalls durch eine erhöhte Permeabilität in der Mikrozirkulation gekennzeichnet ist.

Garcia-Dorado und Oliveras haben bereits 1993 in einer Übersichtsarbeit auf die weitreichenden Konsequenzen der erhöhten endothelialen Permeabilität und dem damit verbundenen Gewebsödem hingewiesen⁴⁰. Dieses kann zu einer Beeinträchtigung der Organfunktion führen und ist beim Ischämie/Reperfusionsschaden für das Phänomen des Mikrostonning (mikrovaskuläre Dysfunktion) mit verantwortlich^{13;40}.

1.2.3. ANP

Auch andere Pathomechanismen können bei der Entstehung von Permeabilitätsänderungen im Gefäßsystem eine Rolle spielen. Für ANP, ein hauptsächlich in den atrialen Kardiomyozyten produziertes Hormon, ist erwiesen, daß es die Permeabilität am Endothel erhöht^{85;100}. Es konnte auch demonstriert werden, daß ANP bei Menschen und Ratten eine Erhöhung des Hämatokrits bewirkt, der nicht nur durch eine glomeruläre Wirkung an der Niere erklärt werden kann^{36;158}. Williamson et al. wiesen nach, daß aus dem Intravasalraum eine Wasserverschiebung in das umgebende Gewebe entsteht¹⁶³. Dies ist ein interessanter Aspekt, da eine Vielzahl von systemischen Erkrankungen, die mit einer Schrankenstörung einhergehen, eine erhöhte ANP-Plasmakonzentration aufweisen, wie z. B. Herzinsuffizienz^{26;54;164}, das akute Lungenversagen (ARDS)^{34;138} oder Höhenkrankheit^{6;21}. Aber auch Tachyarrhythmien, essentielle arterielle Hypertonie und kardiale Ischämien sind ein Stimulus für das Herz, vermehrt ANP auszuschütten^{2;24;25;43;104;105;123;133}.

1.3. Anästhesie und Permeabilitätserhöhung

1.3.1. Anästhetisch wirksame Medikamente

Anästhetika stellen eine nicht einheitliche Gruppe von Medikamenten dar, die in der Lage sind, das Bewußtsein von Menschen und Säugetieren zeitlich determiniert auszuschalten. Dabei sind die Wirkungsorte im zentralen Nervensystem heterogen und für viele Anästhetika noch nicht eindeutig geklärt^{51;88;101;146}.

Die Anästhetika lassen sich nach ihrer Darreichungsform in inhalative/volatile und intravenöse Medikamente unterteilen. Die intravenösen Anästhetika lassen sich noch weiter gliedern in die Hypnotika (Barbiturate, Etomidat und Propofol)¹⁰⁷, Sedativa (Benzodiazepine)¹⁵ und, als einziges intravenöses Anästhetikum mit einer analgetischen Komponente, das Ketamin⁵⁵. Dabei werden in der operativen Anästhesie heu-

te hauptsächlich Thiopental (Barbiturat), Etomidat, Propofol und volatile Anästhetika (z. B. Sevofluran) verwendet. Ketamin findet überwiegend Anwendung in der Notfallversorgung im präklinischen Bereich. Für diese Arbeit wurden vier Anästhetika ausgewählt:

- Thiopental ist eines der ältesten intravenösen Anästhetika und auch heute noch weit in der Klinik verbreitet. Die Substanz ist aufgrund der langen Dauer ihrer Anwendung sehr gut erforscht.
- Ketamin ist bezüglich seiner analgetischen und hypnotischen Wirkungen bei gleichzeitigem Erhalt der Spontanatmung ein hervorragendes Analgetikum der Notfallmedizin. In der Klinik findet es aufgrund seiner Eigenschaft, eine dissoziative Anästhesie auszulösen, die vom Patienten als unangenehm empfunden wird, zur Zeit keine breite Verwendung⁵⁵.
- Sevofluran ist ein neuerer Vertreter der volatilen Anästhetika und konnte sich aufgrund seiner kardioprotektiven Eigenschaften und seiner guten Steuerbarkeit in der klinischen Anästhesie auf breiter Ebene durchsetzen.
- Propofol ist als Induktionsanästhetikum weitverbreitet, aber auch zur Aufrechterhaltung von Sedierung und Hypnose geeignet. Zusätzlich zeichnet es sich durch günstige pharmakokinetische Eigenschaften aus und viele Patienten berichten von einer angenehmen Aufwachphase.

Neben ihren zentralnervösen Wirkungen können die unterschiedlichen Anästhetika noch eine Reihe von weiteren erwünschten oder unerwünschten Wirkungen auslösen: Hypotonie (Sevofluran, Thiopental, Propofol), Bradykardie (Propofol), Katecholaminliberation (Ketamin) und Myokardprotektion (Sevofluran). Dabei sind die Rezeptor- und Signalkaskaden dieser Wirkungen noch weitgehend unbekannt. Für Propofol wurde in einigen Arbeiten eine Affinität und Beeinflussung von muskarinergen Rezeptoren beschrieben^{5,57}. So ließ sich die negativ-chronotrope Wirkung von Propofol an isolierten Kardiomyocyten zumindest teilweise durch die Zugabe eines muskarinergen Antagonisten (Methoctramin) aufheben¹⁶⁵.

1.3.2. Klinische Erkenntnisse zu Anästhesie und Permeabilitätsänderungen

Die klinische Anästhesie hat in den letzten Jahrzehnten enorme Fortschritte erzielt und so ist es heute möglich, schwere Eingriffe auch bei Hochrisikopatienten durchzu-

führen. Mit hohem Risiko behaftet sind dabei vor allem Patienten mit vorbestehenden chronischen oder akuten pulmonalen und kardialen Erkrankungen.

Dabei können lokale oder generalisierte Entzündungen, im engeren Sinne auch Ischämie und Reperfusion, sowie ANP-Erhöhungen im Rahmen von kardialen und pulmonalen Erkrankungen, mit Flüssigkeitsverschiebungen einhergehen. Diese Flüssigkeitsverschiebungen können intraoperativ zu erheblichen Problemen führen (z. B. Hypotonien) und eine Flüssigkeitssubstitution erzwingen, die über den meß- oder schätzbaren Flüssigkeitsverlust (Blutung, Urin, Verdunstung über Wundflächen und Atemwege) deutlich hinausgeht. Dieses Phänomen ist besonders bei bestimmten Operationsgebieten und Techniken, wie z. B. der Bypass-Chirurgie festzustellen¹⁸. Das ist für den Anästhesisten von hohem Interesse, da einerseits auf eine ausreichende Flüssigkeitssubstitution zu achten ist, andererseits entstehende Ödeme zu weiteren Problemen, sowohl in der intraoperativen Phase, aber vor allem auch in der postoperativen Phase führen können (Wundverschluß, Herzinsuffizienz).

1.3.3. Experimentelle Erkenntnisse zu Anästhesie und Permeabilitätsänderungen

Bezüglich des Ischämie/Reperfusionsschadens wird insbesondere volatilen Anästhetika eine protektive Wirkung in experimentellen Arbeiten zugeschrieben^{69;120}. Diese benefiziellen Effekte wurden dabei auf biochemische, funktionelle oder histologische Marker, wie Laktatdehydrogenase-Ausschüttung, linksventrikuläre systolische und enddiastolische Drücke und Myokardnekrosen bezogen. Nur die Gruppe um Yoo untersuchte in einer experimentellen Arbeit die Wirkung von Propofol auf die durch Ischämie/Reperfusion bedingte endotheliale Dysfunktion¹⁶⁸. Dabei konnte gezeigt werden, daß Propofol die endotheliale Vasoregulation postischämisch nicht verbessern konnte. Dennoch können Anästhetika das Endothel beeinflussen und haben damit auch eine Auswirkung auf die vaskuläre Permeabilität. Voigtländer et al. demonstrierten vor kurzem, daß Thiopental und Propofol Aquaporine hemmen können und so den Wasserinflux in die Zelle verhindern¹⁵⁴. Aquaporine werden auch auf vaskulären Endothelzellen exprimiert und dienen der Regulation des Wasserhaushaltes. Im selben Jahr demonstrierten Bruegger et al. in einer klinisch-experimentellen Arbeit, daß verschiedene Anästhetika diesen durch das Endothel regulierten Wasserhaushalt unterschiedlich beeinflussen¹⁴: Bei Patienten mit nicht einschränkenden systemischen Erkrankungen, die sich einer elektiven Brustoperation unterzogen,

wurde zur Aufrechterhaltung der Anästhesie nach Einleitung entweder Propofol oder Sevofluran verwendet. Vor, während und nach der Operation wurde der kapilläre Filtrationskoeffizient mittels der venösen Kompressionsplethysmographie bestimmt. Dieser spiegelt direkt das Ausmaß des Flüssigkeitsaustrittes ins Gewebe wider. Dabei konnte festgestellt werden, daß sich der kapilläre Filtrationskoeffizient während der Operation in der Sevofluran-Gruppe signifikant verringerte. In der Propofol-Gruppe dagegen war dieser Effekt – bei gleichen Kreislaufverhältnissen - nicht festzustellen. Daraus läßt sich schließen, daß die beiden Anästhetika einen unterschiedlichen Einfluß auf die intraoperative Extravasation von Flüssigkeit haben. Möglicherweise üben die Anästhetika eine direkte Wirkung am Endothel aus und beeinflussen so die Permeabilität in der Mikrozirkulation. Diese Wirkung von Anästhetika wäre auch in einer pathologischen Situation denkbar und könnte Auswirkungen auf die Wahl des Anästhetikums bei Operationen mit erhöhter endothelialer Permeabilität (wie z. B: Gefäß-Bypass-Chirurgie) haben. Liu et al. konnten an einem isolierten Lungenmodell nachweisen, daß Isofluran und Sevofluran nach Ischämie und Reperfusion einen positiven Einfluß auf die Permeabilität ausüben⁸⁶. Dennoch ist dieses Gebiet weitgehend unerforscht, obwohl die klinischen Studien der Arbeitsgruppe um Christ^{14;18} gezeigt haben, daß dieses Feld auch für den in der operativen Anästhesie tätigen Arzt von Bedeutung sein könnte.

1.4. Fragestellung

Um einen potentiellen Einfluß von Anästhetika auf die endotheliale Permeabilität zu überprüfen, wurde ein isoliertes Organssystem gewählt. Dabei steht mit dem isolierten Herzen nach Langendorff ein Modell zur Verfügung, daß einerseits das Messen an einem intakten und definierten Gefäßsystem ermöglicht (Koronargefäße), andererseits eine Überwachung der Organfunktion erlaubt. Dadurch können toxische Einflüsse frühzeitig detektiert werden. Um die heterogene Gruppe der Anästhetika möglichst umfassend zu erforschen, wurden modellhaft vier Medikamente ausgewählt, nämlich Thiopental, Ketamin, Sevofluran und Propofol. Um nicht nur den Einfluß auf die basale Permeabilität, die in jedem Gefäßsystem besteht, untersuchen zu können, wurde das Koronarsystem zudem zwei unterschiedlichen pathophysiologischen Bedingungen ausgesetzt:

- Gabe von ANP
- Ischämie/Reperfusion in Anwesenheit von ANP

Somit konnte auch der Einfluß von Anästhetika auf eine erhöhte endotheliale Permeabilität nach Stimulation untersucht werden.

Desweiteren galt es gegebenenfalls einen möglichen Mechanismus für den Einfluß von Anästhetika auf die Permeabilität herauszufinden. Dabei schienen muskarinerge Rezeptoren, die ubiquitär im Organismus vorhanden sind und bei einer Reihe von physiologischen und pathophysiologischen Prozessen eine wichtige Rolle am Gefäßsystem spielen, ein potentielles Ziel für Anästhetika zu sein. Gestützt wird diese Vermutung durch einige Veröffentlichungen, die vor allem in Verbindung mit Propofol einen Zusammenhang aufweisen konnten (siehe oben).

Ziel war es demnach, folgende Fragen in dieser Arbeit zu beantworten:

1. Haben Anästhetika einen Einfluß auf die basale endotheliale Permeabilität?
2. Beeinflussen Anästhetika die Permeabilität in pathophysiologischen Situationen, die mit einer erhöhten endothelialen Schrankenstörung einhergehen?
3. Existiert für einen möglichen Einfluß von Anästhetika ein spezifischer Mechanismus?

2. Materialien und Methodik

2.1. Materialien

2.1.1. Substanzen

Botenstoffe:

- Atriales natriuretisches Peptid (**ANP**); Atriopeptin III, Ratte (Calbiochem, San Diego, USA)
- Acetylcholin (Sigma, München)

Intravenöse Anästhetika:

- Propofol (AstraZeneca, Wedel), gelöst in DMSO (Sigma, Steinheim)
- Thiopental (Byk Gulden, Konstanz)
- Ketamin (Parke-Davis, Berlin)

Volatiles Anästhetikum:

- Sevofluran (Abbott, Wiesbaden)

Muskarine Antagonisten:

- 4-DAMP (4-Diphenylacetoxy-N-methylpiperidin Methiodid) (**DAMP**) (Sigma, München)
- Methoctramin (Methoctramin Tetrahydrochlorid) (Sigma, München)

Übrigen Chemikalien:

- Alle übrigen Chemikalien wurden von der Firma Merck, Darmstadt bezogen

2.1.2. Pufferlösungen

- modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer:

NaCl 126 mmol/l; NaHCO₃ 24 mmol/l; KCl 4,7 mmol/l; MgSO₄ × 7H₂O 0,6 mmol/l; CaCl₂ × 2H₂O 1,25 mmol/l; KH₂PO₄ 1,2 mmol/l; Pyruvat 0,3 mmol/l; Glucose 5,5 mmol/l; Insulin 5 IU/l.

- Tyrode-Lösung:

NaCl 137 mmol/l; KCl 2,6 mmol/l; MgCl₂ × 6H₂O 1,0 mmol/l; CaCl₂ × 2H₂O 3,0 mmol/l; Tris 1,0 mmol/l; Glucose 0,1%.

2.1.3. Versuchstiere

Für die Organentnahmen wurden ausschließlich männliche Kurzhaar-Albino-Meerschweine mit einem Lebendgewicht zwischen 200 und 350 g verwendet (Harlan & Winkelmann, Borken). Bis zum jeweiligen Versuchsbeginn wurden die Tiere gemäß den Bestimmungen des Tierschutzgesetzes mit freiem Zugang zu Wasser und standardisierter Diät mit Trockenfutter gehalten. Da es sich bei den Versuchen um Organentnahmen und nicht um Tierversuche im Sinne des Tierschutzgesetzes handelte, entfiel eine Antragstellung bei den zuständigen Behörden. Die getöteten Tiere wurden gemäß den Bestimmungen registriert.

2.2. Methoden

2.2.1. Prinzip des isovolumetrisch-schlagenden Herzpräparates (Langendorff-Präparat)

Die Methode der isolierten Perfusion von Herzen nach Langendorff ist seit ihrer Erstbeschreibung⁸⁰⁻⁸² nur in Details verändert worden²⁸ und stellt eine weltweit anerkannte Methode zur Durchführung von Versuchen mit Beurteilung der Herz- und Koronarfunktion⁸³ dar und wird im folgenden kurz beschrieben:

Das isolierte Langendorff-Herz wird retrograd über die Aorta perfundiert, dabei kann Blut oder eine protein- und zellfreie Lösung, in der Sauerstoff physikalisch gelöst ist, verwendet werden. Die Perfusion erfolgt dabei volumen- oder druckkonstant. Bei retrograder Perfusion bleibt die Aortenklappe geschlossen und es kommt bei regelrechter Anatomie zu keinem Übertritt von Perfusat in den linken Ventrikel. Dieser muß demnach keine Volumenarbeit verrichten. Das Perfusat gelangt aus der Aorta über die Koronarostien in das koronare Gefäßbett und versorgt damit das Myokard mit Sauerstoff und Energieträgern. Im Gegenzug werden von der Herzmuskulatur Metabolite an das koronare Perfusat abgegeben. Der hauptsächliche versorgungstragende Austausch findet dabei im Kapillarnetz statt. Anschließend wird das Perfusat über die Koronarvenen und den Sinus coronarius in das rechte Atrium transportiert und von dort über den rechten Ventrikel und den kanülierten Truncus pulmonalis nach außen abgeleitet.

Bei der Perfusion des Koronarsystems wird Flüssigkeit durch die Gefäßwand ins Gewebe abgepreßt. Diese sammelt sich als Ödem und Lymphe im Gewebe und wird

an der Herzoberfläche als Transsudat abgegeben und kann dort durch Sammeln quantitativ bestimmt werden. Die Menge des gebildeten Transsudats ist bei konstant niedrigem kolloidosmotischem Druck abhängig vom Perfusionsdruck im koronaren System und von der Integrität des Endothels. Es stellt ein direktes Maß für die Nettofiltration von Flüssigkeit im Koronarsystem dar.

Durch diese Versuchsanordnung steht ein definiertes komplettes Gefäßsystem (von Arterien über Kapillaren bis zum venösen Abtransport) zur Verfügung, in welchem Auswirkungen äußerer Einflüsse und gezielter Schädigung auf das Endothel anhand der Permeabilitätsänderung quantitativ bestimmt werden können.

2.2.2. Das Langendorff-Modell in dieser Arbeit

Die Perfusion der Meerschweinschenherzen erfolgte in einem druckkonstanten Modus (mittlerer Aortendruck: 80 cm H₂O) mittels eines protein- und zellfreien modifizierten Krebs-Henseleit-Puffers. 20 min vor Präparationsbeginn und während der koronaren Perfusion erfolgte eine kontinuierliche Äquilibration des Puffers bei 37°C mit einem Gasgemisch, bestehend aus 94,4% O₂ und 5,6% CO₂ (Gasmischpumpe, Fa. Wösthoff, Bochum), wodurch sich ein pH-Wert zwischen 7,40 und 7,45 einstellte. Zusätzlich wurde durch die Begasung ein Sauerstoffpartialdruck von 500-600 mmHg in der Perfusatlösung erreicht, der die Oxygenierung des Herzens garantierte.

Die quantitative Bestimmung des Koronarflusses erfolgte mittels kontinuierlicher dopplersonographischer Messung in einem Flußmeßkopf, der am distalen Ende der Pulmonaliskanüle befestigt wurde (Transsonic Systems Inc., Ithaca, USA). Der Koronarfluß wurde mit Hilfe eines Computers kontinuierlich aufgezeichnet, aus dem pulsatilem Fluß erfolgte die Bestimmung der Herzfrequenz. Eine Rezirkulation des Effluats wurde nicht durchgeführt.

Die Zuführung der verwendeten Medikamente und Substanzen, mit Ausnahme von Gasen, erfolgte direkt oberhalb der Aortenkanüle mittels Infusionspumpen (Infors, Basel, Ch). Die Medikamentenkonzentrationen wurden durch Steuerung der Infusionspumpen entsprechend dem Koronarfluß (CF) konstant gehalten.

ANP und Acetylcholin wurden dafür in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Lösung der intravenösen Anästhetika und der muskarinergen Antagonisten erfolgte aufgrund ihres Löslichkeitsverhaltens jeweils in Aqua dest.. Sevofluran wurde – durch die volatile Eigenschaft bedingt - in anderer Form zugeführt. Es kam ein zweiter Perfusatbehälter (siehe Abbildung 1) zur Anwendung, in den Sevofluran über ei-

nen geeichten Verdampfer zusammen mit der beschriebenen Begasung zugeführt wurde. Um eine Äquilibration im Perfusat zu gewährleisten, wurde damit 20 min vor dem Versuch begonnen. Über einen Dreiwegehahn konnte nun zwischen sevofluranhaltigem und sevofluranfreiem Perfusat gewählt werden.

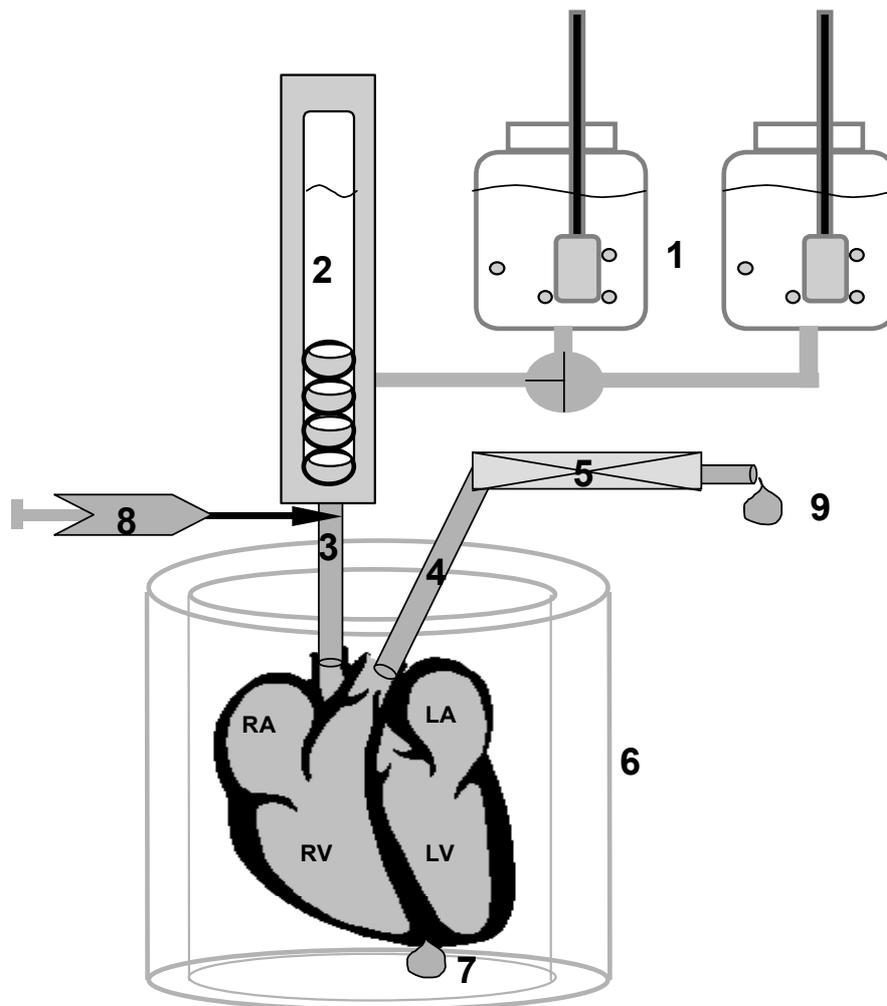


Abbildung 1: Schema der Perfusionsapparatur nach Langendorff

1: Perfusionslösung in thermokonstant-gehaltenen Vorratsbehältern, mit O_2 - CO_2 -Begasung zur pH-Einstellung und zur Erreichung eines ausreichenden Sauerstoffpartialdruckes. Zusätzlich kann die Lösung eines Behälters mit einem Narkosegas angereichert werden; 2: thermokonstantes Steigrohr zur Einstellung des hydrostatischen Druckes; 3: Aortenkanüle; 4: Pulmonaliskanüle; 5: Sonde zur kontinuierlichen dopplersonographischen Messung des Koronarflusses; 6: thermokonstanter Glaszylinder, um eine Auskühlung des Herzens zu verhindern; 7: Transsudatfluß; 8: Spritzenpumpe zu Applikation der Medikamente (außer Sevofluran), 9: Koronarfluß.

2.2.3. Präparation der Meerschweinherzen

Die Meerschweinchen wurden durch zervikale Dislokation mittels eines Federbolzengerätes getötet. Es erfolgte die sofortige Fixierung des getöteten Tieres auf dem

Präpariertisch. Die Carotiden wurden mit einem Skalpell beidseits eröffnet, um eine partielle Ausblutung zu erreichen. Anschließend wurde mit einer Schere eine zügige Thorakotomie durchgeführt, wobei Sternum und Rippen großzügig entfernt wurden. Sobald freier Zugang zum Herz bestand, wurde durch eine zweite Person das Herz durch Kühlung mit 4°C kalter physiologischer Kochsalzlösung zum Stillstand gebracht. Daraufhin erfolgte die Entfernung der beiden Lungenflügel und des Perikards. Sobald dies geschehen war, wurde die Aorta ascendens freipräpariert, mobilisiert und mit einer Schere eingeschnitten. Über diese Inzision erfolgte die Einführung einer Stahlkanüle (Innendurchmesser 1,5-2,0 mm) in das Gefäß, über die der verbleibende Aortenstumpf distal der Koronarostien mittels einer Ligatur festgebunden wurde. Über diese Kanüle wurde das Herz mit modifizierter Krebs-Henseleit-Lösung druckkonstant (80 cm Wassersäule) retrograd perfundiert. Wenige Sekunden nach Beginn der Perfusion begann das Herz wieder zu schlagen. Daraufhin wurden Aorta, Truncus pulmonalis, Venae cavae, die Vena azygos und die Venae pulmonales nacheinander durchtrennt, so daß nun das Herz en bloc aus dem Situs entnommen und an der Langendorff-Anlage aufgehängt werden konnte, um dort autonom weiterzuschlagen. Über den Truncus pulmonalis wurde eine weitere Stahlkanüle eingebracht und erneut mittels einer Ligatur fixiert, um das Effluat abzuleiten und somit den Koronarfluß messen zu können. Alle anderen Gefäße (Vv. pulmonales, Vv. cavae, V. azygos) wurden mit Fäden ligiert, um Leckagen zu minimieren. Zuletzt wurde das Herz in einem thermostabilen Glaszylinder aufgehängt, um eine Auskühlung, die sich negativ auf die Funktionalität des Herzens auswirken könnte, zu vermeiden. Zusätzlich trug diese Vorgehensweise dazu bei, die Umgebungstemperatur des isolierten Herzens auch bei schwankenden Raumtemperaturen konstant zu halten.

Nach der Präparation der Herzen erfolgte eine 20-minütige Stabilisierungsphase, um eine stabile Herzfrequenz zu etablieren. Konnte diese nicht erreicht werden, so wurde der Versuch vor Beginn des Protokolls abgebrochen. Ebenso wurden Herzen, die postischämisch oder im übrigen Versuchsverlauf so stark arrhythmisch wurden, daß der Koronar- oder Transsudatfluß davon beeinflusst war, ausgeschlossen.

Um stabile Versuchsbedingungen zu erreichen und präparationsbedingte Leckagen zu vermeiden, wurden nur Herzen mit einem basalen Transsudatfluß unter 300 µl/min akzeptiert.

2.2.4. Versuchsprotokolle

Die Dosierungen der verwendeten Anästhetika und Substanzen wurden durch Vorversuche (die hier nicht weiter aufgeführt werden) oder mittels Literaturrecherche ermittelt. Dabei ist Wert darauf gelegt worden, daß mit der gewählten klinisch relevanten Dosierung ein weitgehend solitärer Effekt auf die Permeabilität erreicht wurde ohne die funktionellen Parameter wie Koronarfluß oder Herzfrequenz relevant zu beeinflussen. Die verwendeten Dosierungen waren im folgenden:

- Thiopental: 2 µg/ml Koronarfluß
- Ketamin: 2,4 µg/ml Koronarfluß
- Sevofluran: 1 Vol. %
- Propofol: 1 µg/ml Koronarfluß
- ANP: 0,3 – 3 nM/ml Koronarfluß
- 4-DAMP: 100 nM/ml Koronarfluß
- Methoctramin: 100 nM/ml Koronarfluß
- Acetylcholin: 10-100 nM/ml Koronarfluß

Für die Fragestellungen dieser Arbeit wurden drei Versuchsprotokolle entwickelt.

2.2.5. Versuchsprotokoll 1

Durch das erste Versuchsprotokoll sollten zwei Fragen geklärt werden:

1. Haben Anästhetika einen Einfluß auf die ANP-induzierte Permeabilität im Koronarsystem?
2. Wie wirken sich diese Anästhetika weiter auf die Permeabilität aus, wenn ein zweiter Leckage steigernder Effekt – nämlich eine zehnmündige „no-flow“-Ischämie, gefolgt von einer Reperfusionsphase - eingebracht wird?

Aus diesem Grund wird das Versuchsprotokoll 1 in einen präischämischen und einen postischämischen Abschnitt unterteilt. Dies trägt zur leichteren Beurteilung der Daten bei.

Präischämische Phase:

Um Änderungen des Transsudates erfassen zu können, mußte in einer „Baseline“ Periode der Ausgangswert des Transsudatflusses ohne Anästhetikum bestimmt werden (Baseline₁). Dies erfolgte in der 3. min. Um einen solitären Einfluß der Anästhetika auf das Endothel und die Permeabilität zu registrieren, wurden in den Versuchs-

gruppen ab der 4. min die Anästhetika infundiert und in der 9. min ein zweiter Baseline-Wert (Baseline₂) mit Anästhetikum gemessen. Anschließend folgte die Verabreichung von ANP in steigenden Dosierungen (0,3-3 nM CF) in An- oder Abwesenheit eines Anästhetikums für je 7 min, wobei jeweils nach 5 min der Transsudatfluß bestimmt wurde (16., 23. und 30. min). Um die Reversibilität des ANP-Effektes zu überprüfen, folgte nach der höchsten ANP-Dosis (3 nM) eine Auswaschphase von 15 min, in der am Ende das Transsudat bestimmt wurde (45. min). Anschließend erfolgte eine „No-Flow“-Ischämie für 10 min, in der das Herz, um Auskühlung und Austrocknung zu vermeiden, in 37°C warme Tyrodelösung getaucht wurde. Zusätzlich konnte durch dieses Vorgehen ein konstanter Druck auf das Herz ausgeübt werden, um ein zusätzliches ischämiebedingtes Ödem zu vermeiden.

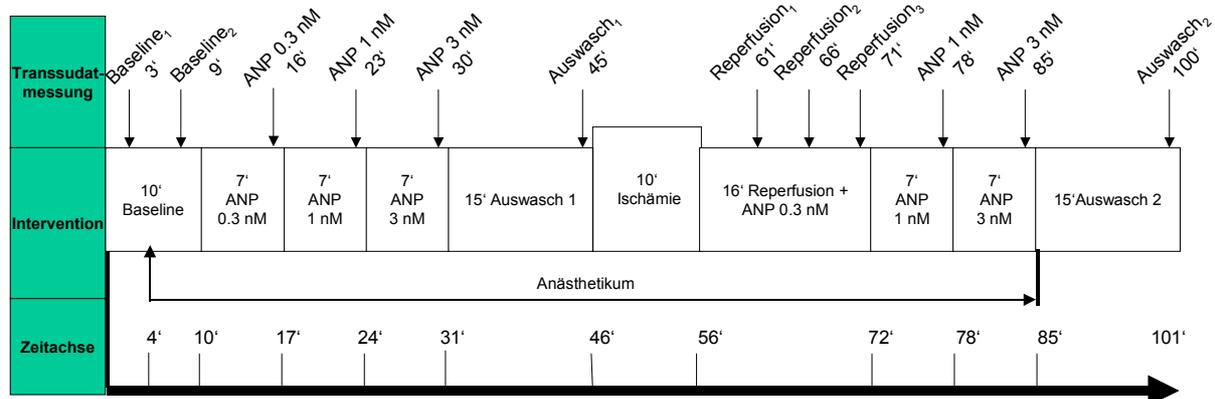


Abbildung 2: Versuchsprotokoll 1

Abgebildet sind die einzelnen Ereignisblöcke. Die Transsudat-Abnahmen sind durch die Beschriftungen oberhalb der Blöcke gekennzeichnet, einschließlich der Minutenangaben. Der schmale Pfeil unterhalb der Blöcke signalisiert die Dauer der Zufuhr des jeweiligen Anästhetikums. Auf der durchlaufenden Zeitachse (dicker Pfeil unten) wird durch die Minutenangaben der Zeitpunkt des jeweiligen Ereignisses dargestellt.

Postischämische Phase:

Mit Beginn der Reperfusion wurde dem Herz wieder ANP (0,3 nM) in An- (Versuchsgruppen) oder Abwesenheit eines Anästhetikums (Kontrolle) zugeführt. In dieser 16-minütigen initialen Reperfusionsphase wurde das Transsudat insgesamt dreimal im Zeitverlauf bestimmt (61., 66. und 71. min) und somit die Permeabilität der frühen Reperfusion bestimmt. Anschließend wurde die ANP-Dosis wieder bis auf einen Wert von 3 nM schrittweise gesteigert und jeweils einmal der Transsudatfluß bestimmt (78.

und 85. min). Nach Beendigung der ANP- und ggf. Anästhetika-Infusion wurde erneut in einer 15-minütigen Auswaschphase überprüft, ob die ANP-Effekte reversibel waren (100. min).

Mit Abschluß des Versuches wurden die Vorhöfe im Bereich der Herzklappenebene abgesetzt und die verbleibenden Ventrikel leicht mit Laborpapier abgetupft, um das Naßgewicht zu bestimmen. Nach einer Trocknung in einem 80°C heißen Ofen wurde das Trockengewicht bestimmt. Somit war es möglich, mit relativ einfachen Mitteln die Ödemfraktion zu bestimmen ⁴⁰:

Ödemfraktion = 1 - Quotient aus Trocken- und Naßgewicht

Dabei ist der Wert umso größer, je mehr Ödem sich im Gewebe angesammelt hat.

Zusätzlich wurde zu jedem Transsudat-Meßzeitpunkt eine Effluatprobe aus der Truncus pulmonalis-Kanüle entnommen. Sowohl die Transsudat-, als auch die Effluatproben wurden unmittelbar nach Abnahme unbehandelt auf Eis gelagert und nach Versuchsende bei -20°C für weitere analytische Untersuchungen eingefroren.

2.2.6. Versuchsprotokoll 2

Mit dem Versuchsprotokoll 2 sollte folgende Frage überprüft werden:

Wird ein (eventueller) Effekt von Anästhetika auf die Permeabilität mittels muskarinerner Rezeptoren vermittelt?

Dafür wurde das präischämische Versuchsprotokoll aus Abbildung 2 abgeändert. Auf die Ischämie wurde ganz verzichtet, um nur eine definierte Einflußkomponente auf die Permeabilität zu haben, nämlich das ANP.

Den Herzen wurde über einen definierten Zeitraum, wie in Abbildung 3 dargestellt, zusätzlich ein muskarinerner Antagonist zugeführt. Dies waren ein selektiver M₂-Antagonist (Methoctramin) und ein selektiver M₃-Antagonist (4-DAMP). Die dabei vorgenommene Abänderung des Protokolls hatte das Ziel, potentielle Einflüsse der muskarinernen Antagonisten auf die endotheliale Permeabilität per se zu erfassen. Dafür wurde die Baseline-Periode um 10 min verlängert, um eine zusätzliche Transsudatabnahme in Anwesenheit des Antagonisten vornehmen zu können. Daher gab es in diesem Protokoll drei Baseline-Messungen, wobei die erste Transsudat-Messung (Baseline₁: 3. min), wie schon in Versuchsprotokoll 1, der Grundwertbestimmung diente. In der zweiten Transsudat-Messung (Baseline₁: 10. min) wurde der erwähnte potentielle Einfluß der muskarinernen Antagonisten auf die endotheliale

Permeabilität bestimmt, die dritte Baseline-Messung (Baseline₂: 18. min) diene der Quantifizierung eines Anästhetikumeffektes in Anwesenheit der muskarinergen Antagonisten. Anschließend erfolgte die ANP-Dosis-Steigerung mit ihren jeweiligen Transsudat-Bestimmungen (25., 32. und 39. min). Daraufhin wurde der jeweilige muskarinerge Rezeptorblocker in Anwesenheit der höchsten ANP-Konzentration für 15 min ausgewaschen und im Abstand von jeweils 6 min der Transsudatfluß bestimmt (48. und 55. min), um einen Anhalt dafür zu bekommen, ob die M₂- bzw. M₃-Blockierung reversibel ist. Am Schluß wurden sowohl die Zufuhr von ANP, als auch die des Anästhetikums gestoppt, um eine Reversibilität der Effekte beider Substanzen zu überprüfen (70. min).

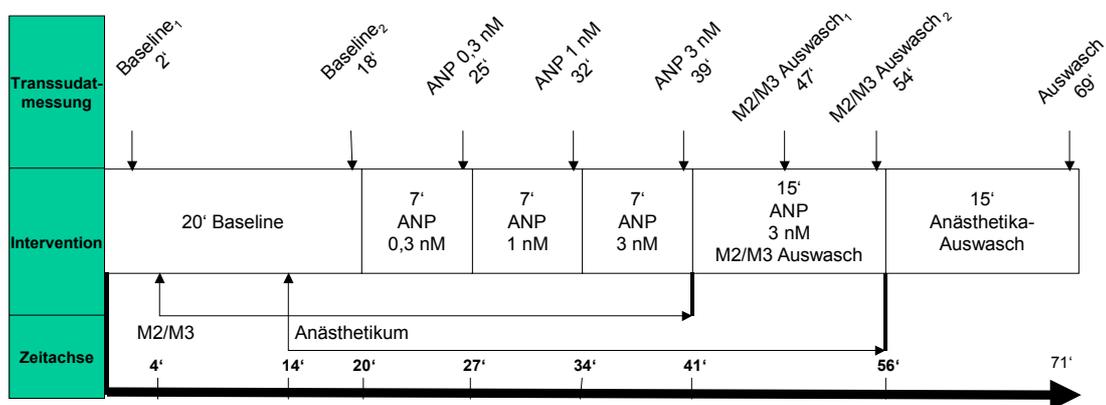


Abbildung 3: Versuchsprotokoll 2

Abgebildet sind die Ereignisblöcke. Der Unterschied zum Versuchsprotokoll 1 besteht in der verlängerten Baseline-Periode, um einen möglichen Einfluß der muskarinergen Antagonisten auf die Grundpermeabilität quantifizieren zu können.

2.2.7. Versuchsprotokoll 3

Um die potentielle Wirkung von Anästhetika auf muskarinerge Rezeptoren weiter zu beleuchten, wurde das Versuchsprotokoll 3 erstellt. Es galt dabei folgende Frage zu prüfen:

Verstärkt das Anästhetikum die Wirkung des physiologischen muskarinen Rezeptoragonisten Acetylcholin, wenn man diesen exogen zuführt?

Das Versuchsprotokoll 3 ist in Abbildung 4 dargestellt.

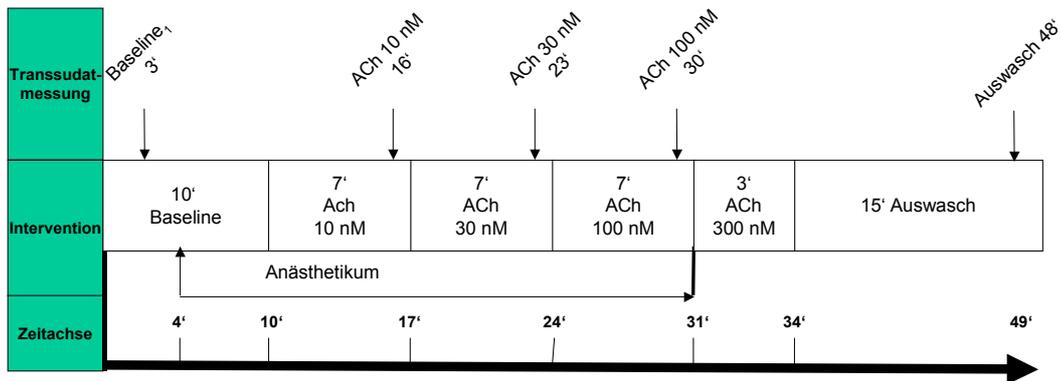


Abbildung 4: Versuchsprotokoll 3

Auch in diesem Protokoll sind Ereignisblöcke aufgetragen. Der Versuch startete mit einer Baseline-Periode, um die Grundmessungen vorzunehmen. Anschließend folgte eine Acetylcholinzufuhr in steigender Dosierung (10 nM – 100 nM). Die nachfolgende Dosis von 300 nM Acetylcholin diente der Überprüfung der Schwellendosis. Der Versuch endete mit einer Auswaschphase von 15 min.

Das Protokoll begann mit einer 10-minütigen Baseline-Periode und einer Baseline₁-Messung (3. min), wie im Versuchsprotokoll 1. Anschließend wurde Acetylcholin in aufsteigender Konzentrationen (10 nM – 100 nM) für jeweils 7 min infundiert, wobei jeweils eine Transsudat-Messung durchgeführt wurde (16., 23. und 30. min). Um zu zeigen, daß der Bereich der endothelialen Wirkung sich in einem relativ engen Rahmen bewegt, wurde nun die Acetylcholinkonzentration auf 300 nM gesteigert. Dies ist in unserem Modell als Schwellenkonzentration anzusehen, da ab dieser Konzentration die Acetylcholinwirkung nicht mehr auf das Endothel beschränkt bleibt und sich zunehmend Arrhythmien entwickeln können. War dies der Fall, so wurde die Konzentration sofort reduziert, längstensfalls wurde diese Konzentration für 3 min verabreicht, gefolgt von einer 15-minütigen Auswaschphase, um die Reversibilität der Effekte zu überprüfen.

2.2.8. Analytische Aufarbeitung der Effluatproben

cGMP spielt sowohl im ANP-, als auch im Acetylcholintransduktionsweg eine wichtige Rolle. Außerdem wird diesem second messenger eine wichtige Rolle bei der Permeabilitätssteigerung durch ANP zugesprochen¹⁶⁷. Aus diesem Grund haben wir versucht, diese Substanz in unserem Modell nachzuweisen. Zur Analyse der vom Endothel ins Effluat abgegebenen cGMP-Menge wurden Effluatproben mittels zweier

Testsysteme in ELISA-Technik (R&D Systems, Wiesbaden; Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) untersucht. Die Auswahl der Effluatproben richtete sich nach dem zu erwartenden cGMP-Anstieg:

- Effluatproben der Kontroll- und Propofolgruppe des Versuchprotokolls 1 aus der 3., 9. und 30. min (siehe Abbildung 1)
- Effluatproben der Antagonisierungsversuche in Anwesenheit von Propofol des Versuchprotokolls 2 aus der 10., 18. und 39. min (siehe Abbildung 3)
- Effluatproben der Acetylcholinversuche in An- oder Abwesenheit von Propofol des Versuchprotokolls 3 aus der 30. min (siehe Abbildung 4).

2.2.9. Statistische Auswertung

Die Daten wurden jeweils auf Normalverteilung geprüft. Im Falle einer Normalverteilung wurde beim Vergleich von zwei Gruppen mittels t-Test geprüft. Wurden mehrere Gruppen miteinander verglichen, so wurde ein One-Way-ANOVA verwendet. Bei signifikanten Unterschieden wurde mit einem Bonferroni-Test („all pairwise“) fortgeföhren, um statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen. Bei Daten die keine Normalverteilung zeigten, wurde auf einen ANOVA on ranks zurückgegriffen und im Falle von signifikanten Unterschieden mit dem Dunns-Test geprüft. Wurden Vergleiche bzw. Änderungen innerhalb einer Gruppe statistisch untersucht, so wurde ein gepaarter t-Test verwendet. Um eine potentielle Abhängigkeit des Transsudatflusses vom Koronarfluß zu überprüfen, kam ein Spearman Rank Order-Test zur Anwendung. Die Ergebnisse in dieser Arbeit werden als Mittelwert \pm Standardabweichung (SEM) angegeben, als Signifikanz-Niveau wurde $p < 0,05$ angesehen.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse des Versuchsprotokolls 1

3.1.1. Kontrolle

3.1.1.1. Wirkung auf die Permeabilität

Um die Wirkung von steigenden ANP-Konzentrationen und Ischämie auf die Permeabilität der Koronargefäße zu analysieren, werden im folgenden nur die Versuche der Kontrollgruppe dargestellt.

Präischämische Phase:

In der 3. min wurde, um einen Grundwert für den basalen Transsudatfluß zu ermitteln, $Baseline_1$ gemessen. Der Mittelwert von $Baseline_1$ in der Kontrollgruppe betrug $173 \pm 22 \mu\text{l}/\text{min}$ (siehe Tabelle 1). Alle weiteren Werte wurden als Abweichung von $Baseline_1$ berechnet, stellen also Δ -Werte dar ($X - Baseline_1 = \Delta X$). Da in der Kontrollgruppe keine Anästhetika zugeführt wurden, sollte sich $Baseline_2$ in der 9. min nicht wesentlich von $Baseline_1$ unterscheiden, also Δ gegen null gehen. Dies war auch der Fall: $\Delta-Baseline_2 = 0 \pm 4 \mu\text{l}/\text{min}$ (siehe Tabelle 1 und Abbildung 5). Anschließend erfolgte die Gabe aufsteigender Konzentrationen von ANP von 0,3 – 3 nM, die die Permeabilität und damit den Transsudatfluß konzentrationsabhängig steigern sollten. Dieser Anstieg wurde ab der ANP-Konzentration von 1 nM statistisch signifikant: der Transsudatfluß war bei der höchsten ANP-Konzentration von 3 nM um $69 \pm 12 \mu\text{l}/\text{min}$ höher als $Baseline_1$. Danach folgte eine Auswaschphase, in der die Zufuhr von ANP gestoppt wurde, um die Reversibilität der Effekte zu überprüfen. Dafür wurde in der 45. min der Wert $Auswasch_1$ gemessen. Dieser war in der Kontrollgruppe um $22 \pm 5 \mu\text{l}/\text{min}$ statistisch signifikant erhöht gegenüber $Baseline_1$.

	Baseline₁ (Absolutwerte)	Baseline₂ (Δ-Werte)	ANP 0,3nM (Δ-Werte)	ANP 1nM (Δ-Werte)	ANP 3nM (Δ-Werte)	Auswasch₁ (Δ-Werte)
Kontrolle (n=10)	173±22	0±4	7±4	31±9 #	69±12 #	22±5 #

Tabelle 1: Präischämische Transsudatflußänderungen in der Kontrollgruppe

In dieser Tabelle sind die präischämischen Transsudatänderungen in µl/min der Kontrollgruppe aufgelistet. Die Werte von Baseline₁ sind Absolutwerte, alle anderen Werte geben die Δ-Steigerung gegenüber Baseline₁ an.

= signifikante Steigerung gegenüber dem Baseline₁-Wert

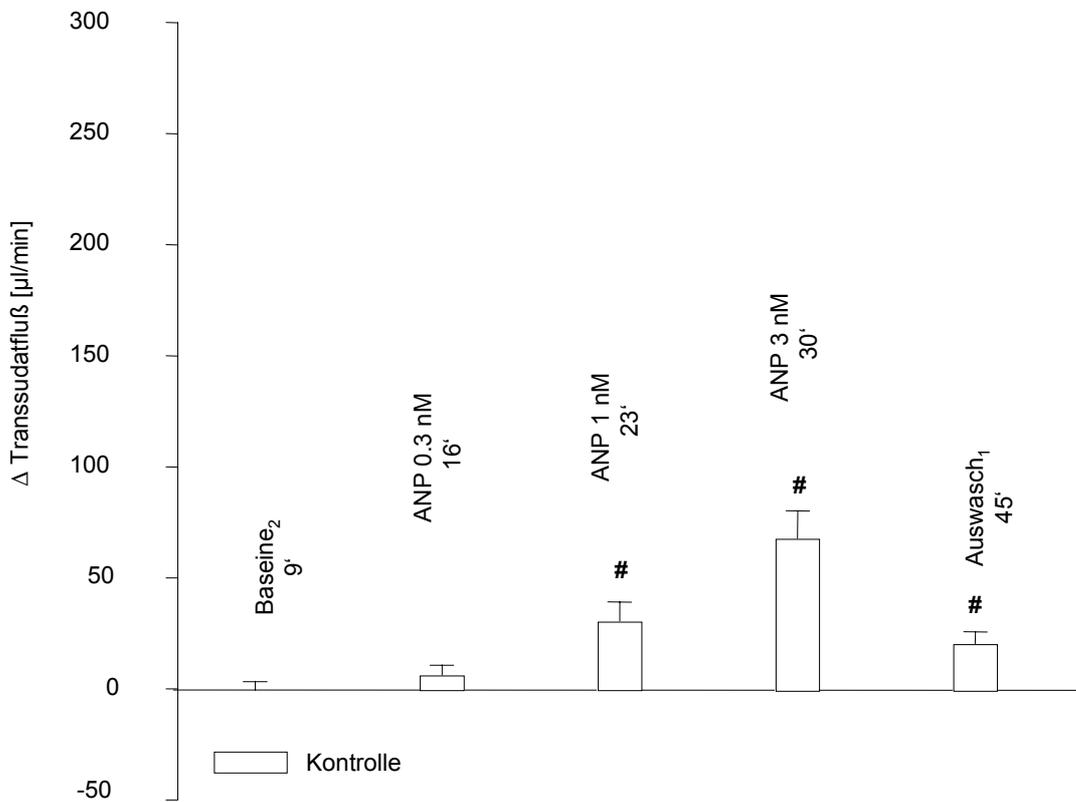


Abbildung 5: Präischämischer Δ Transsudatfluß (= Wert – Baseline₁) in der Kontrollgruppe

Da in der Kontrollgruppe noch keine Anästhetika zugesetzt worden sind, ist bei Baseline₂ kein Unterschied zur Baseline₁ festzustellen: Die Transsudatsteigerung ist in diesem Punkt nahezu Null. Anschließend nimmt der Transsudatfluß ANP-dosisabhängig zu. Dieser Effekt ist auch nach einer 15-minütigen Auswaschphase nicht völlig verschwunden (Auswasch₁).

= Absolutwerte sind statistisch signifikant höher als Baseline₁.

Postischämische Phase:

Nach einer 10-minütigen No-Flow-Ischämie wurden in der 16-minütigen Reperfusionphase in Anwesenheit von ANP 0,3 nM im Abstand von jeweils 5 min drei Transsudatmessungen (Reperfusion₁ bis Reperfusion₃) vorgenommen (siehe Abbildung 6). Dabei war bei Reperfusion₁ in der 61. min eine signifikante Transsudatsteigerung um $70 \pm 9 \mu\text{l}/\text{min}$ festzustellen. Diese näherte sich dann aber im weiteren Verlauf wieder dem Ausgangswert an: Reperfusion₂ (66. min) $-2 \pm 17 \mu\text{l}/\text{min}$ und Reperfusion₃ (71. min) $-4 \pm 17 \mu\text{l}/\text{min}$. Anschließend wurde die ANP-Konzentration wieder schrittweise bis auf 3 nM erhöht, was wiederum zu einer konzentrationsabhängigen Transsudatsteigerung führte: ANP 1 nM (78. min) $17 \pm 13 \mu\text{l}/\text{min}$, ANP 3 nM (85. min) $62 \pm 15 \mu\text{l}/\text{min}$. Die Differenz wurde aber erst mit der höchsten ANP-Konzentration signifikant. Ab der 85. min wurde mit der Auswaschphase₂ begonnen. Der Transsudatfluß zum Zeitpunkt Auswasch₂ blieb gegenüber Baseline₁ nicht statistisch signifikant erhöht.

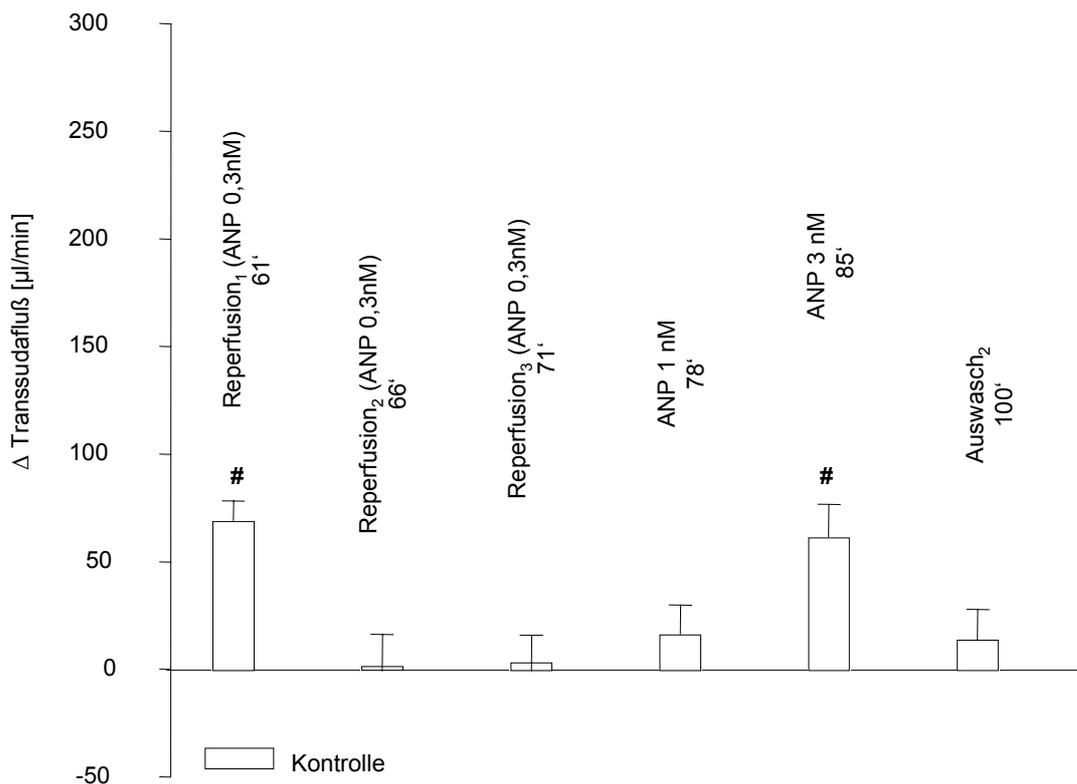


Abbildung 6: Postischämischer Δ Transsudatfluß in der Kontrollgruppe

In der frühen Reperusionsphase ist in der 61. min eine signifikante Transsudatsteigerung festzustellen. Im weiteren Verlauf nähert sich der Transsudatfluß wieder dem Ausgangsniveau an, um dann mit steigender ANP-Konzentration wieder zuzunehmen, was bei ANP 3 nM in der 85. min zu einer signifikanten Steigerung führt. Dieser Effekt läßt sich durch eine 15-minütige Auswaschphase (Auswasch₂) wieder beseitigen.

= Absolutwerte sind statistisch signifikant höher als Baseline₁.

Die postischämischen Werte (bezogen auf Baseline₁) sind auch tabellarisch aufgelistet (Tabelle 2):

	Reperfusion₁ (Δ-Werte)	Reperfusion₂ (Δ-Werte)	Reperfusion₃ (Δ-Werte)	ANP 1nM (Δ-Werte)	ANP 3nM (Δ-Werte)	Auswasch₂ (Δ-Werte)
Kontrolle (n=10)	70±9 #	-2±17	-4±17	17±13	62±15 #	15±14

Tabelle 2: Postischämische Transsudatflußänderungen in der Kontrollgruppe

In dieser Tabelle sind die postischämischen Transsudatänderungen in µl/min der Kontrollgruppe gegenüber Baseline₁ aufgelistet.

= signifikante Steigerung gegenüber dem Baseline₁-Wert

Ödemfraktion:

Eine weitere Möglichkeit die gesteigerte Permeabilität zu quantifizieren ist die Bestimmung des Wasseranteils des Gewebes, oder der Ödemfraktion⁴⁰, die sich aus dem Quotienten des Trocken- und Naßgewichts ergibt und somit keine Einheit trägt (= 1 – Trockengewicht/Naßgewicht *100). In der Kontrollgruppe betrug das durchschnittliche Naßgewicht der Ventrikel 1025±50 mg, das durchschnittliche Trockengewicht betrug 119±4 mg. Die daraus errechnete Ödemfraktion betrug 88,3 ± 0,2 %.

3.1.1.2. Wirkung auf die funktionalen Parameter Koronarfluß und Frequenz

Um eine mögliche Wirkung von ANP auf die Funktionalität der Herzen zu erkennen, wurden im Folgenden die Veränderungen des Koronarflusses und der Herzfrequenz unter den Bedingungen des Versuchsprotokolls 1 dargestellt. Dies ist von Interesse, da Änderungen von beiden Parametern sich indirekt auf den Transsudatfluß auswirken könnten.

Dabei wurde zur Darstellung des Koronarfluß und der Herzfrequenz mit Δ-Werten gearbeitet, wobei sich Δ auf die Änderung zum Ausgangswert in der 1. min bezieht. Die Ausgangswerte sind als Absolutwerte angegeben.

Koronarfluß:

Der durchschnittliche Koronarfluß in der Kontrollgruppe betrug in der 1. min 6,3 ± 0,5 ml/min. Wie in Abbildung 7 dargestellt, ist in der präischämischen Phase nur eine

leichte Reduktion des Koronarflusses zu sehen, die aber unabhängig vom zugeführten ANP war.

Postischämisch unter der Zufuhr von ANP in der Konzentration von 0,3 nM war eine 10 min dauernde reaktive Hyperämie von maximal etwa 30 % zu beobachten, anschließend normalisierte sich der Koronarfluß, um sich dann auf präischämischem Niveau bis Versuchsende zu halten.

Um zu überprüfen, ob die Transsudatflußerhöhung vom Koronarfluß abhängig ist, wurde zu jedem Meßzeitpunkt ein Korrelationstest durchgeführt. Dieser ergab sowohl im präischämischen Teil, als auch im postischämischen keine statistisch signifikante Abhängigkeit. Ein Beispiel dieser fehlenden Korrelation ist in Abbildung 8 dokumentiert.

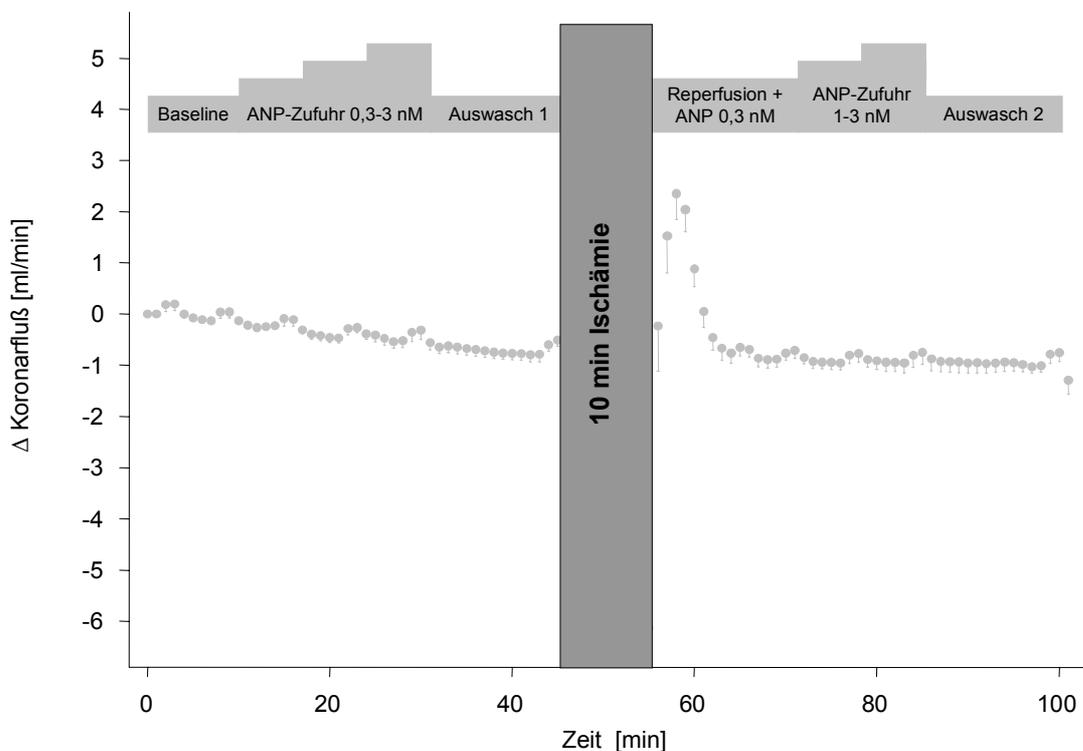


Abbildung 7: Koronarfluß der Kontrollgruppe

Abgebildet ist die Koronarflußänderung bezogen auf den Ausgangswert (1. min: $6,3 \pm 1,6$ ml/min, $n = 10$) über die gesamte Versuchsdauer. In der prä- und postischämischen Phase ist keine ANP-abhängige Änderung des Koronarflusses zu erkennen. Postischämisch erfolgte eine ca. 10-minütige reaktive Hyperämie, anschließend fielen die Werte auf Ausgangsniveau und blieben über den restlichen Versuch konstant.

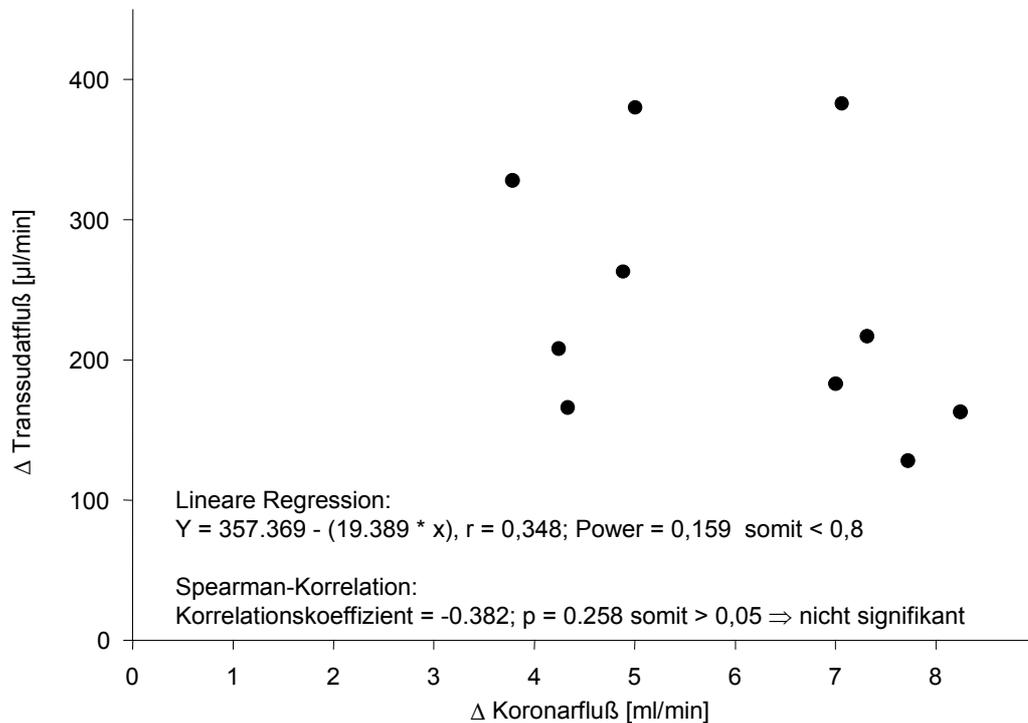


Abbildung 8: Beispielhafte Korrelationsprüfung in der Kontrollgruppe

Für dieses Beispiel wurden die Transsudat- und Koronarflußwerte zum Zeitpunkt der präischämischen Transsudatbestimmung bei der ANP-Konzentration 0,3 nM herangezogen. Wie die Berechnungen in der Graphik beweisen, ist keine Korrelation zwischen Transsudat- und Koronarfluß gegeben.

Herzfrequenz:

Die durchschnittliche Herzfrequenz zum Ausgangszeitpunkt betrug in der Kontrollgruppe $198 \pm 19 \text{ min}^{-1}$. In der präischämischen Phase konnte unter Zugabe von ANP keine Änderung der Herzfrequenz festgestellt werden.

Postischämisch zeigte sich parallel zum Koronarfluß in den ersten 10 min der Reperfusion ein deutlicher Frequenzanstieg um maximal 50%. Danach fiel die Frequenz wieder ab, um bis zum Versuchsende auf dem Ausgangsniveau zu bleiben (Abbildung 9).

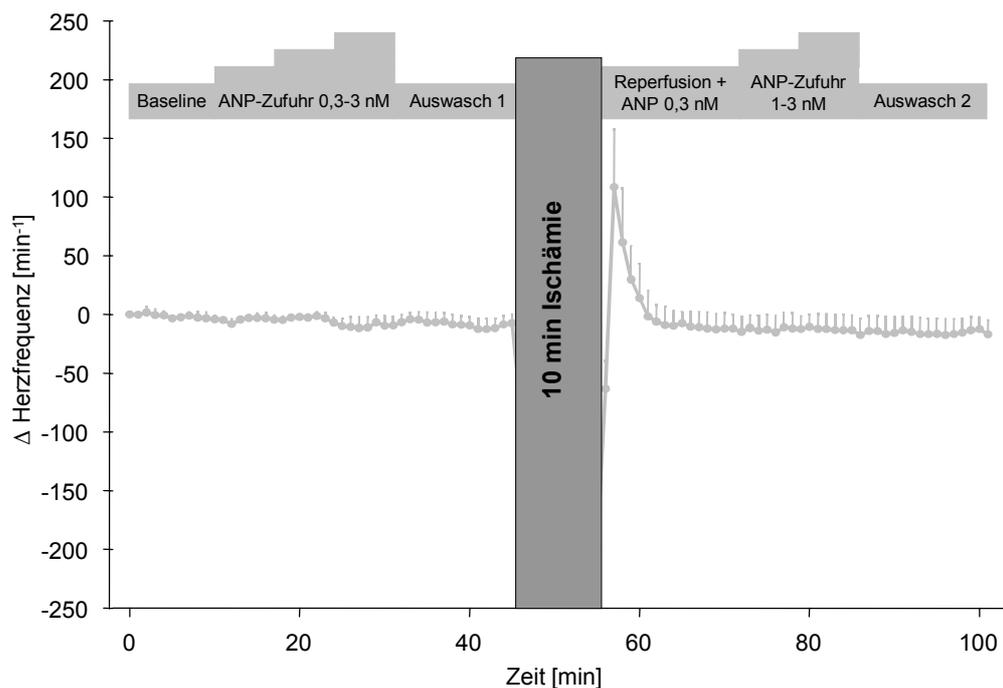


Abbildung 9: Herzfrequenz in der Kontrollgruppe

Abgebildet ist die Herzfrequenzänderung über die komplette Versuchsdauer. Dabei ist zu sehen, daß ANP prä- und postischämisch keinen Einfluß auf die Herzfrequenz hat. Postischämisch ist eine kurze Frequenzsteigerung in der frühen Reperfusion zu beobachten, welche sich aber nach 10 min wieder normalisiert. Bis zum Versuchsende verharret die Frequenz auf dem Ausgangsniveau.

3.1.1.3. Zusammenfassung

Es wurde gezeigt, daß in unserem Modell in der präischämischen Phase durch ANP dosisabhängig eine Steigerung des Transsudatflusses erzielt werden konnte, die ab einer Konzentration von 1 nM signifikant war. Dieser Effekt wurde nach einer Auswaschphase von 15 min zwar reduziert, blieb aber signifikant erhöht.

Postischämisch war unter ANP 0,3 nM nach 5 min ein signifikanter Anstieg im Transsudatfluß festzustellen, der sich aber nach weiteren 10 min dem Ausgangswert näherte. Mit anschließend steigender ANP-Konzentration konnte postischämisch erst ab einer Konzentration von 3 nM wieder ein signifikanter Effekt erreicht werden. Dieser verschwand jedoch im Vergleich zur präischämischen Phase fast vollständig nach 15-minütigem Auswaschen.

Bei den gezeigten Effekten auf die Permeabilität beeinflusste ANP präischämisch weder den Koronarfluß, noch die Herzfrequenz. Postischämisch war bei beiden funktionellen Herzparametern ein ca. 10-minütiger reaktiver Anstieg zu verzeichnen, der Ausdruck der postischämischen Reperfusion ist und bei beiden Parametern im weiteren Verlauf wiederum unabhängig von der Zufuhr von ANP war. Somit bestand kein

direkter Zusammenhang zwischen ANP-induzierter Permeabilitätsänderung und möglichen Veränderungen am Koronarfluß und der Herzfrequenz.

3.1.2. Thiopental

Das intravenöse Anästhetikum Thiopental wurde in einer dem Koronarfluß angepaßten Konzentration von 2 µg/ml von der 4. bis zur 85. min nach dem Protokoll 1 infundiert. Der Mittelwert des Transsudatflusses für Baseline₁ betrug in der Thiopental-Gruppe 192 ± 13 µl/min und unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (173 ± 22 µl/min).

3.1.2.1. Wirkung auf die Permeabilität

Präischämische Phase:

Der Einfluß von Thiopental auf die durch ANP induzierte Permeabilitätssteigerung ist in Abbildung 10 dargestellt. Dabei ist zu erkennen, daß das Barbiturat nahezu keinen Einfluß hatte. In Anwesenheit von 3 nM ANP wurde der Transsudatfluß in der Thiopentalgruppe um 77 ± 24 µl/min gesteigert, was in etwa dem Wert der Kontrollgruppe entspricht (siehe Tabelle 3).

	Baseline ₁ (Absolutwerte)	Baseline ₂ (Δ-Werte)	ANP 0,3nM (Δ-Werte)	ANP 1nM (Δ-Werte)	ANP 3nM (Δ-Werte)	Auswasch ₁ (Δ-Werte)
Kontrolle (n=10)	173±22	0±4	7±4	31±9 #	69±12 #	22±5 #
Thiopental (n=6)	192±13	-3±10	-5±6	50±4 #	77±24 #	24±6 #
Ketamin (n=9)	184±17	-6±5	26±10 #	52±9 #	89±10 #	46±11 #
Sevofluran (n=5)	168±34	0±4	-2.0±5	31±6 #	56±9 #	12±6
Propofol (n=8)	210±18	-14±4 *#	22±5 *#	64±12 *#	144±15 *#	66±11 *#

Tabelle 3: Präischämische Transsudatflußänderungen des Versuchsprotokolls 1

Die angegebenen Werte tragen die Einheit [µl/min] und stellen die Veränderung gegenüber dem jeweiligen Baseline₁-Wert dar.

= signifikante Steigerung gegenüber dem Baseline₁-Wert der jeweiligen Gruppe

* = signifikant gegenüber dem Kontrollwert zum entsprechenden Zeitpunkt

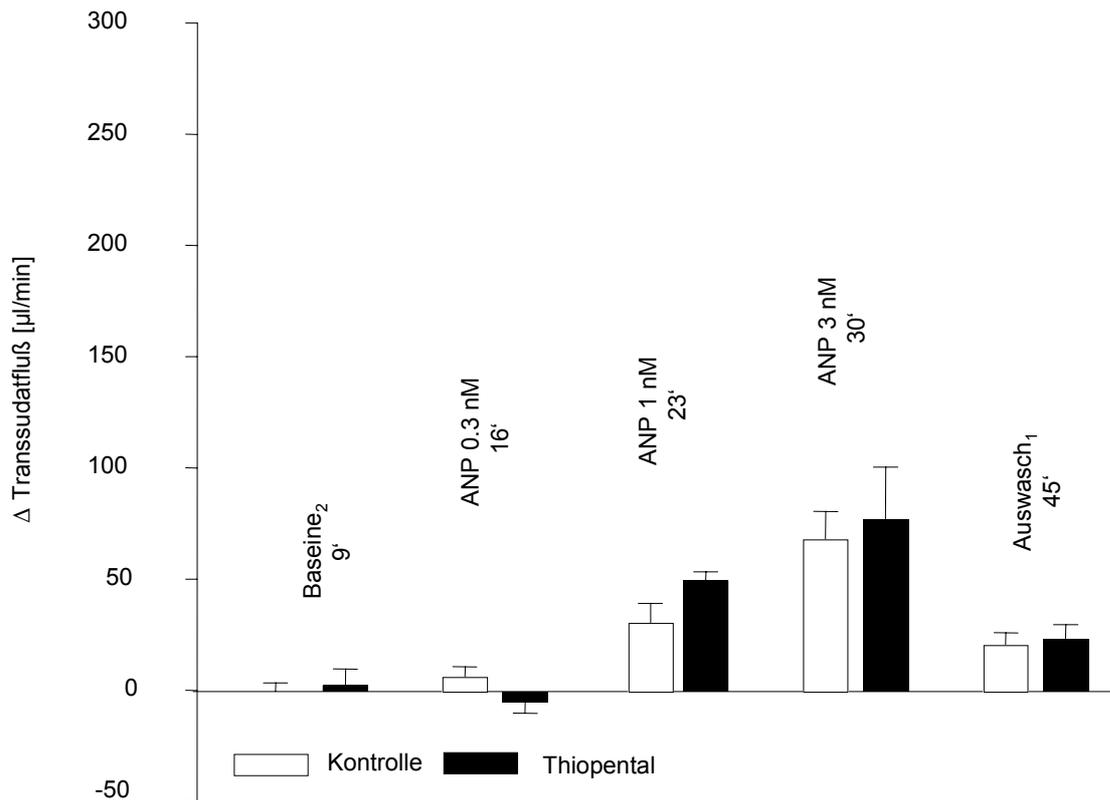


Abbildung 10: Präischämischer Δ Transsudatfluß in der Thiopentalgruppe

In der präischämischen Phase hat Thiopental keinen Einfluß auf die ANP-induzierte Permeabilität.

Postischämische Phase:

Auch nach einer 10-minütigen no-flow-Ischämie übte Thiopental - verglichen mit der Kontrollgruppe - keinen Einfluß auf die Transsudatflußänderung aus (siehe Abbildung 11). Die Transsudatflußsteigerung 5 min nach Ischämie zum Zeitpunkt Reperfusion₁ betrug 75 ± 6 µl/min und unterscheidet sich nicht von der Kontrollgruppe. In der weiteren Reperfusion war ein kurzfristiger permeabilitätssenkender Effekt zu beobachten, der sich aber von der Kontrolle statistisch nicht signifikant unterschied. Auch im restlichen Versuchsverlauf gleichen sich beide Gruppen bezüglich ihres Transsudatflusses (siehe Tabelle 4) an.

Ergebnisse

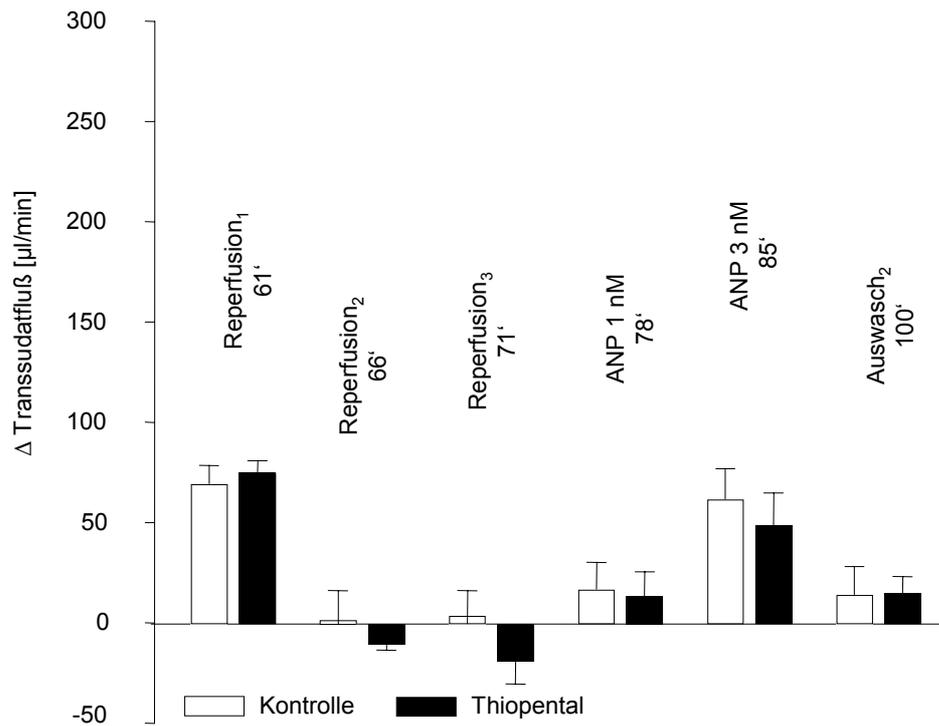


Abbildung 11: Postischämischer Δ Transsudatfluß in der Thiopentalgruppe

Auch postischämisch hat Thiopental keinen Einfluß auf die ANP-induzierte Permeabilität im Vergleich zur Kontrollgruppe.

	Reperfusion ₁ (Δ-Werte)	Reperfusion ₂ (Δ-Werte)	Reperfusion ₃ (Δ-Werte)	ANP 1nM (Δ-Werte)	ANP 3nM (Δ-Werte)	Auswasch ₂ (Δ-Werte)
Kontrolle (n=10)	70±9 #	-2±17	-4±17	17±13	62±15 #	15±14
Thiopental (n=6)	75±6 #	-10±3	-19±12	14±12	49±16 #	15±8
Ketamin (n=9)	94±30 #	37±30	57±50	97±65	95±41 #	34±30
Sevofluran (n=5)	70±15 #	-9±11	12±33	15±18	26±12	-2±13
Propofol (n=8)	225±39 **	96±21 **	79±16 **	103±23 **	159±29 **	57±28 *

Tabelle 4: Postischämische Transsudatflußänderungen des Versuchsprotokolls 1

Die angegebenen Werte tragen die Einheit [µl/min] und stellen die Veränderung gegenüber dem jeweiligen Baseline₁-Wert dar.

= signifikante Steigerung gegenüber dem Baseline₁-Wert der jeweiligen Gruppe

* = signifikant gegenüber dem Kontrollwert zum entsprechenden Zeitpunkt

Ödemfraktion:

Nach Versuchsende betrug das durchschnittliche Naßgewicht der Ventrikel in der Thiopentalgruppe 1220 ± 57 mg. Nach Trocknung wogen die Ventrikel noch 136 ± 4 mg. Die daraus berechnete Ödemfraktion war $88,8 \pm 0,3\%$. Dieser Wert ist statistisch nicht signifikant unterschiedlich zur Kontrollgruppe ($88,3 \pm 0,2\%$).

3.1.2.2. Wirkung auf die funktionellen Herzparameter Koronarfluß und Frequenz

Koronarfluß:

Präischämisch war (siehe Abbildung 12) kein Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe festzustellen. Postischämisch stieg der Koronarfluß mit Beginn der Reperfusion in der Thiopentalgruppe in den ersten 3 min signifikant an, anschließend glichen sich die Werte sehr schnell wieder denen der Kontrollgruppe an.

Mittels Korrelationsprüfung konnte kein Zusammenhang zwischen Transsudatfluß und Koronarfluß für Thiopental ermittelt werden.

Herzfrequenz:

Bezüglich der Frequenz war weder prä-, noch postischämisch (siehe Abbildung 13) ein Unterschied zwischen der Kontroll- und der Versuchsgruppe mit Thiopental festzustellen.

3.1.2.3. Zusammenfassung

Es wurde sowohl im präischämischen, als auch im postischämischen Teil deutlich, daß Thiopental keinen signifikanten Einfluß auf die Transsudatbildung hat. Dies wird auch durch die unveränderte Ödemfraktion der Herzen untermauert. Auch die funktionellen Herzparameter Frequenz und Koronarfluß wurden durch Thiopental in der applizierten Konzentration nicht beeinflusst, mit Ausnahme einer signifikant gesteigerten reaktiven Hyperämie.

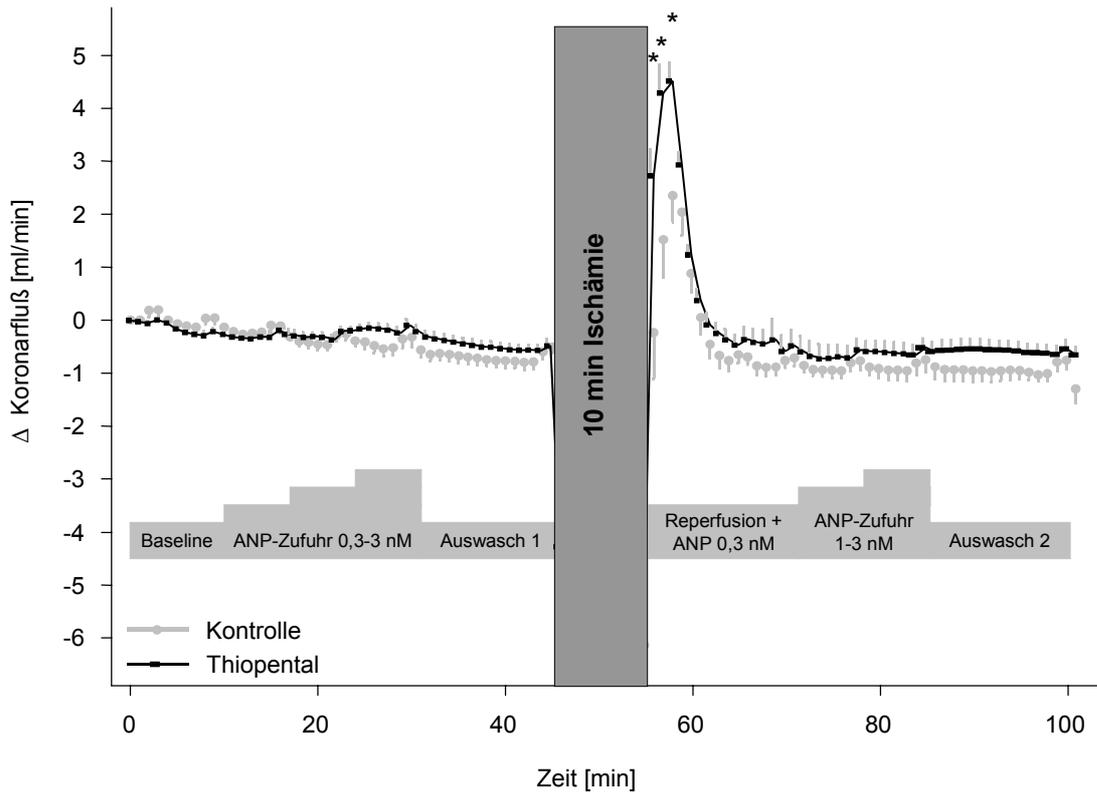


Abbildung 12: Koronarfluß der Thiopentalgruppe

Präischämisch hat Thiopental im Vergleich zur Kontrollgruppe keine Auswirkung auf den Koronarfluß. Postischämisch ist nur in der frühen Reperfusion eine vermehrte Koronarflußsteigerung in der Thiopentalgruppe zu verzeichnen.

* = signifikant gegenüber Kontrolle

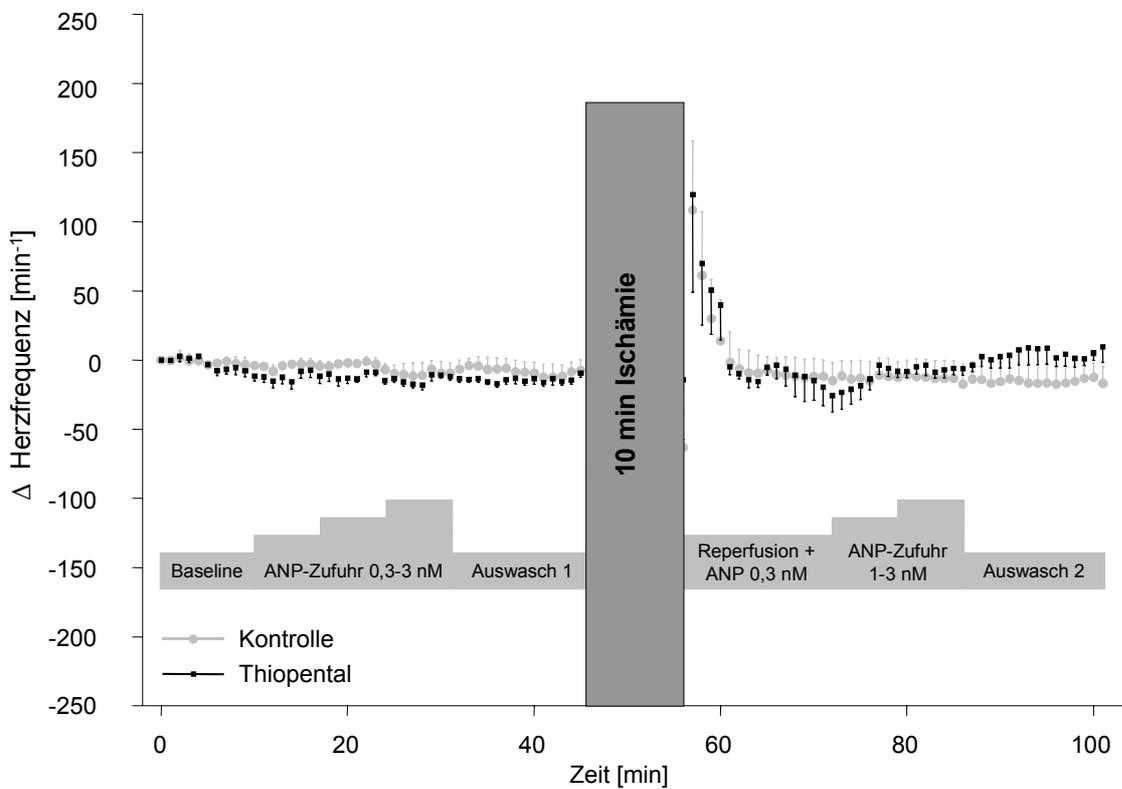


Abbildung 13: Herzfrequenz in der Thiopentalgruppe

Bezüglich der Herzfrequenz hat Thiopental prä- und postischämisch im Vergleich zur Kontrollgruppe keinen Einfluß.

3.1.3. Ketamin

Das intravenöse Anästhetikum Ketamin wurde in einer dem Koronarfluß angepaßten Konzentration von 2,4 µg/ml von der 4. bis zur 85. min nach dem Versuchsprotokoll 1 zugeführt. Der Mittelwert des Transsudatflusses für Baseline₁ betrug in der Ketamin-Gruppe 184 ± 17 µl/min und unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

3.1.3.1. Wirkung auf die Permeabilität

Präischämische Phase:

Der Einfluß des Razemats von R- und S-Ketamin auf die ANP-induzierte Permeabilität ist in Abbildung 14 und Tabelle 3 dargestellt. Dabei fällt auf, daß Ketamin in Anwesenheit von ANP eine geringfügige Transsudatflußsteigerung zu bewirken scheint. In Anwesenheit der höchsten ANP-Konzentration betrug die Transsudatflußsteigerung in der Ketamingruppe 89 ± 10 µl/min, gegenüber 69 ± 12 µl/min in der Kontrollgruppe (Tabelle 3). Der Transsudatfluß unterschied sich aber zu keinem Meßzeitpunkt signifikant von der Kontrollgruppe.

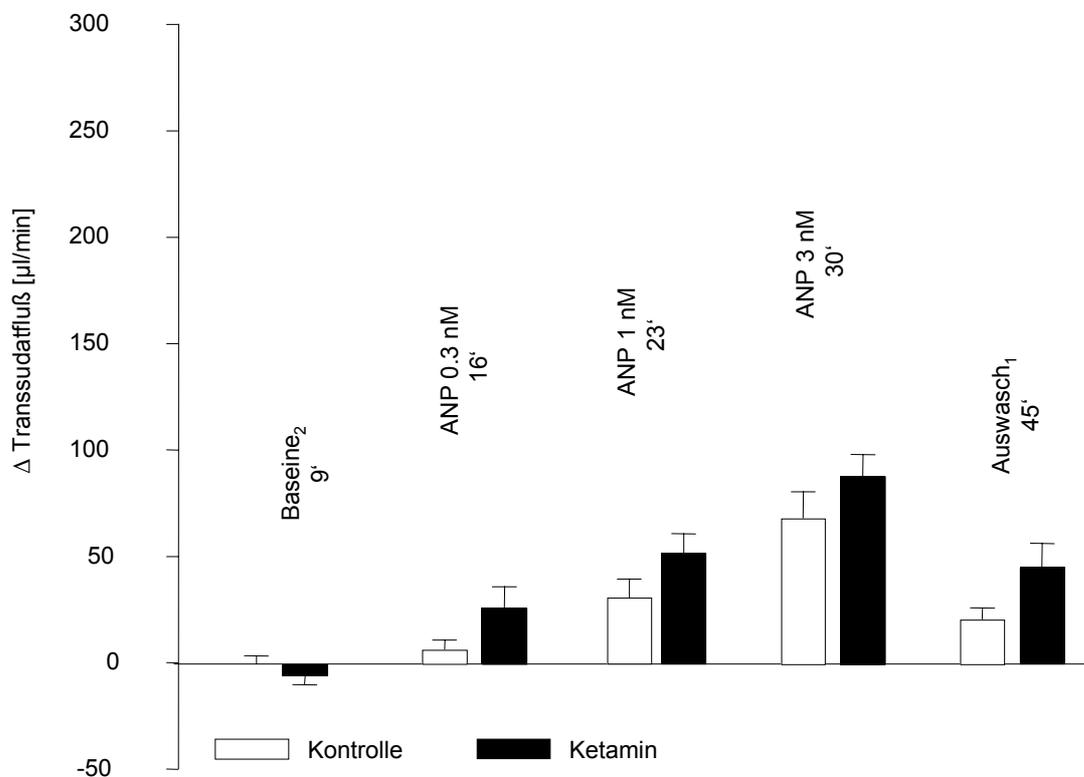


Abbildung 14: Präischämischer Δ Transsudatfluß in der Ketamingruppe

Die durchschnittliche Transsudatflußsteigerung ist zu jedem Meßzeitpunkt in Anwesenheit von ANP gegenüber der Kontrollgruppe höher. Dieser Effekt ist aber in der statistischen Berechnung nicht signifikant.

Postischämische Phase:

Postischämisch setzte sich der Trend der erhöhten Durchschnittswerte gegenüber der Kontrollgruppe in der Versuchsgruppe mit Ketamin fort (siehe Abbildung 15 und Tabelle 4). 5 min nach der Ischämie betrug die Transsudatflußsteigerung in Anwesenheit von Ketamin $94 \pm 30 \mu\text{l}/\text{min}$, bei den Kontrollen $70 \pm 9 \mu\text{l}/\text{min}$. Aufgrund der Heterogenität der einzelnen Versuchswerte ist die Streuung in der Ketamingruppe so groß, daß ein signifikanter Effekt auf die Permeabilität nicht gefunden werden konnte und somit davon auszugehen ist, daß Ketamin keinen einheitlichen Einfluß auf den Transsudatfluß hat.

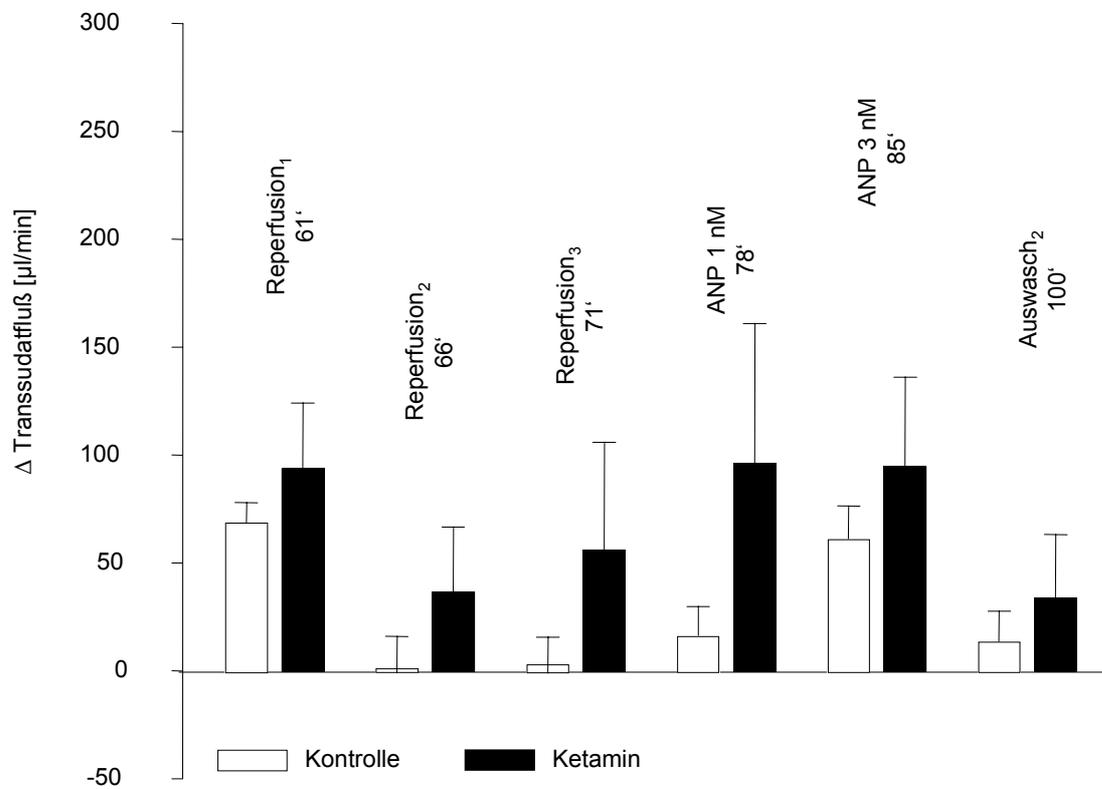


Abbildung 15: Postschämischer Δ Transsudatfluß in der Ketamingruppe

Deutlich zu sehen ist in der postschämischen Phase die große Variabilität in der Ketamingruppe, so daß auch bei durchgehend erhöhten Durchschnittswerten bei der Transsudatsteigerung kein signifikanter Effekt auf die Permeabilität gefunden werden kann.

Ödemfraktion:

Nach Versuchsende betrug das durchschnittliche Naßgewicht der Ventrikel in der Ketamingruppe $1178 \pm 89 \text{ mg}$. Nach der Trocknung wogen die Ventrikel noch $132 \pm 9 \text{ mg}$. Die daraus berechnete Ödemfraktion war $88,8 \pm 0,1 \%$: Dieser Wert ist annähernd mit dem der Kontrollgruppe ($88,3 \pm 0,2 \%$) identisch und weist auch bei der statistischen Berechnung keinen signifikanten Unterschied auf.

3.1.3.2. Wirkung auf die funktionellen Herzparameter Koronarfluß und Frequenz

Koronarfluß:

Sowohl in der präischämischen, als auch in der postischämischen Phase hatte Ketamin keinen Einfluß auf den Koronarfluß (siehe Abbildung 16).

Eine mögliche Abhängigkeit des Transsudatflusses vom Koronarfluß konnte durch eine Korrelationsprüfung ausgeschlossen werden.

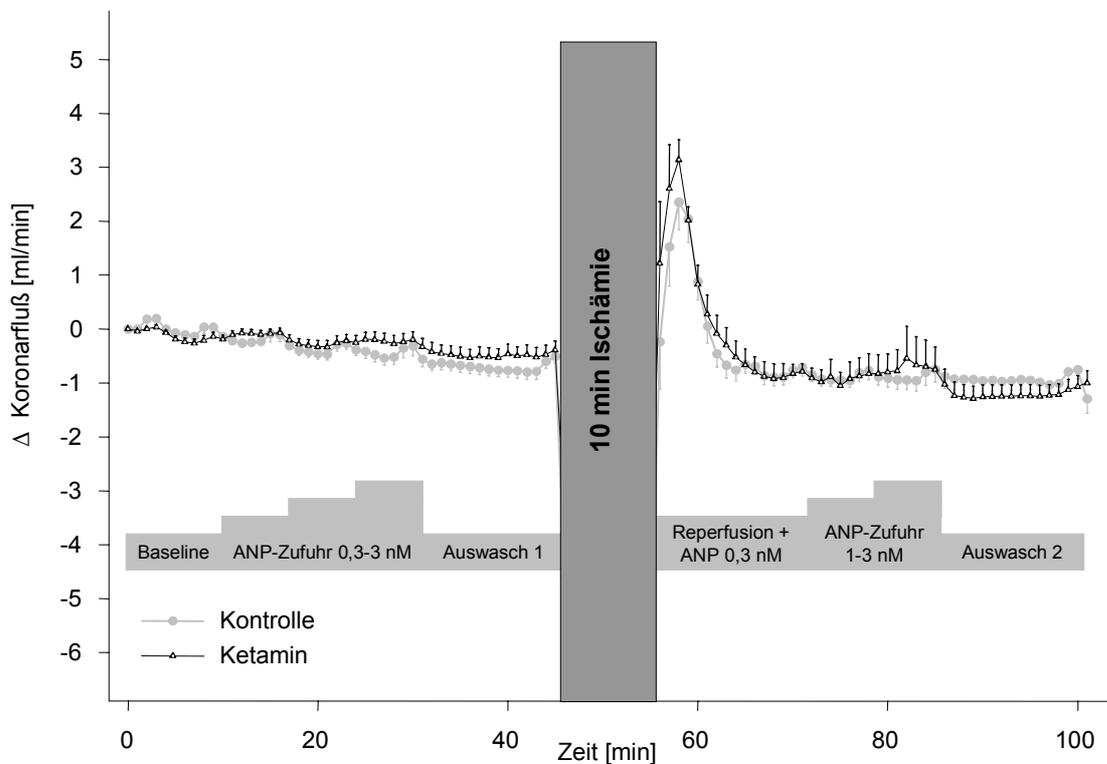


Abbildung 16: Koronarfluß in der Ketamingruppe

Ketamin hat weder in der präischämischen Phase, noch in der postischämischen einen Einfluß auf den Koronarfluß.

Herzfrequenz:

Ketamin hatte auch auf die Herzfrequenz (siehe Abbildung 17) keinen Einfluß. Weder präischämisch, noch postischämisch war zwischen der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe mit Ketamin ein signifikanter Unterschied festzustellen.

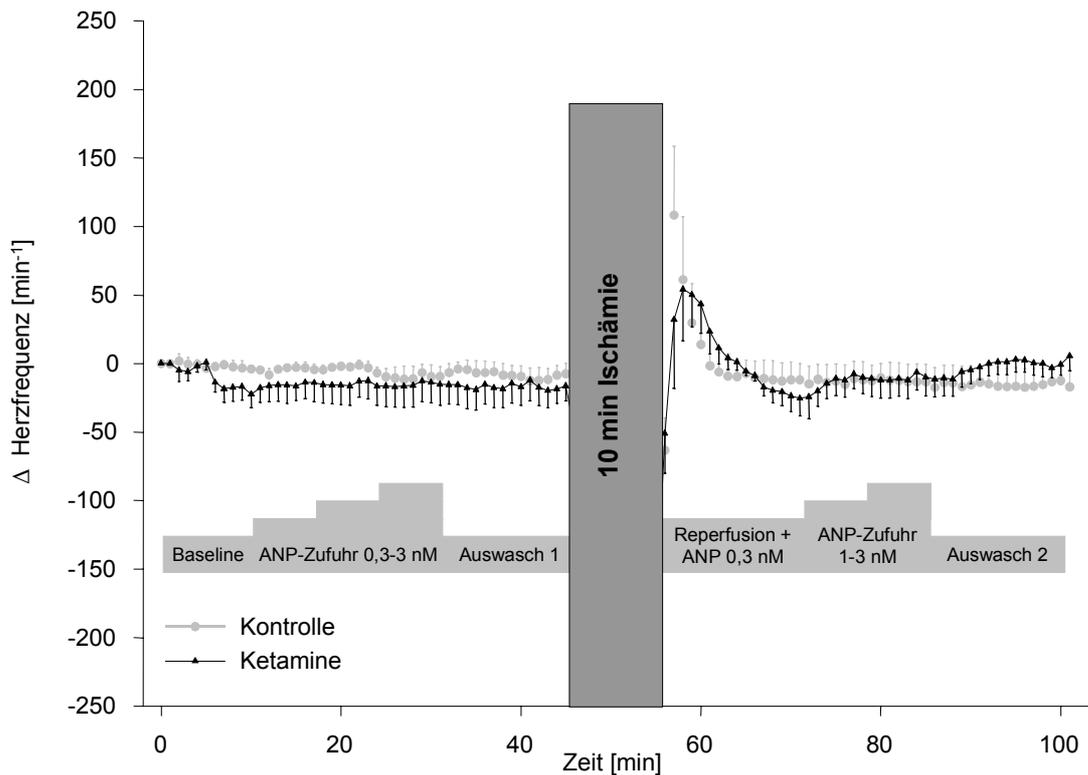


Abbildung 17: Herzfrequenz in der Ketamingruppe

Ketamin hat sowohl prä-, als auch postischämisch keinen Einfluß auf Herzfrequenzänderungen.

3.1.3.3. Zusammenfassung

Gezeigt wurde, daß die ANP-bedingte Steigerung des Transsudatflusses in der Ketamingruppe gegenüber der Kontrollgruppe geringfügig erhöht war. Diese Erhöhung war aber zu keinem Zeitpunkt signifikant, so daß bezüglich der Permeabilität kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen besteht. Diese Beobachtung wird auch durch die Bestimmung der Ödemfraktion gestützt.

Die funktionellen Herzparameter Koronarfluß und Herzfrequenz wurden durch Ketamin zu keinem Zeitpunkt signifikant beeinflusst.

3.1.4. Sevofluran

Das volatile Anästhetikum Sevofluran wurde in einer Konzentration von 1 Vol% über einen zweiten Perfusatbehälter (siehe Abbildung 1) von der 4. bis zur 85. min nach dem Versuchsprotokoll 1 infundiert. Der Mittelwert des Transsudatflusses für Baseline₁ betrug in der Sevofluran-Gruppe $168 \pm 34 \mu\text{l}/\text{min}$ und unterschied sich nicht von dem der Kontrollgruppe.

3.1.4.1. Wirkung auf die Permeabilität

Präischämische Phase:

Der Einfluß von Sevofluran auf die ANP-induzierte Transsudatflußsteigerung ist in Abbildung 18 und Tabelle 3 dargestellt. Dabei verhielten sich die Transsudatflußänderungen in der Sevoflurangruppe nahezu identisch zu denen der Kontrollgruppe. In Anwesenheit von 3 nM ANP wurde der Transsudatfluß durch das volatile Anästhetikum um $56 \pm 9 \mu\text{l}/\text{min}$ gesteigert. Somit war durch Sevofluran kein Effekt auf die Permeabilität festzustellen.

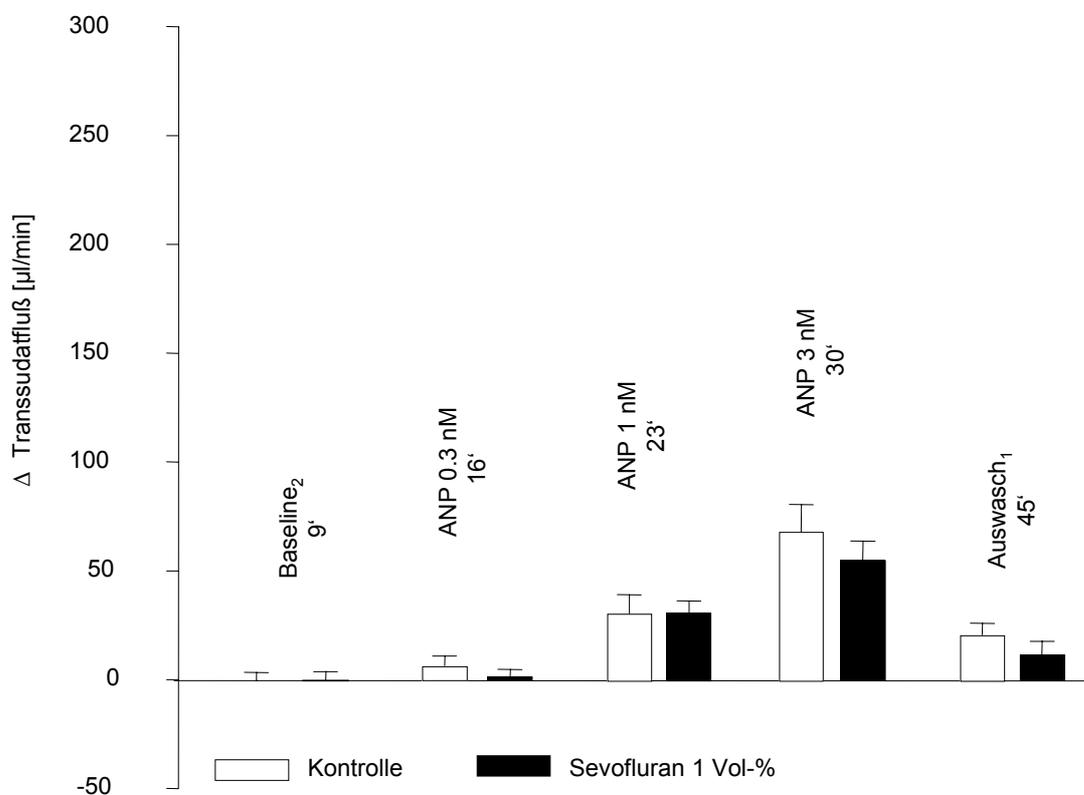


Abbildung 18: Präischämischer Δ Transsudatfluß in der Sevoflurangruppe

Sevofluran hat keinen Einfluß auf die ANP-induzierte Steigerung des Transsudatflusses in der präischämischen Phase

Postischämische Phase:

Auch postischämisch ließ sich keine Beeinflussung des Transsudatflusses durch Sevofluran in der verwendeten Konzentration erkennen (siehe Abbildung 19 und Tabelle 4). Beispielsweise betrug die Steigerung zum Zeitpunkt der Reperfusion₁ (5 min. nach Ischämie) in der Sevoflurangruppe $70 \pm 15 \mu\text{l}/\text{min}$ und unterschied sich nicht von der Transsudatflußzunahme in der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 4). Bei der

ANP-Konzentration von 3 nM schien Sevofluran die Transsudatflußsteigerung zwar zu minimieren, dies war aber nicht signifikant (Abbildung 19).

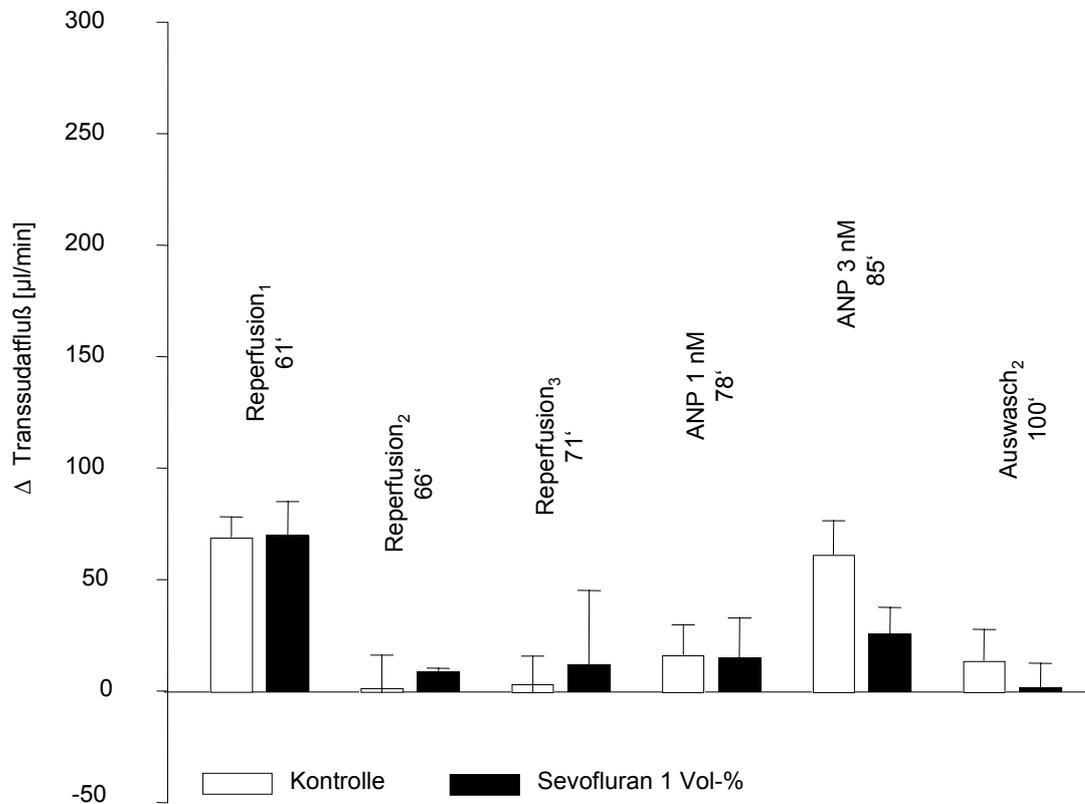


Abbildung 19: Postischämischer Δ Transsudatfluß in der Kontrollgruppe

In der postischämischen Phase ist keine signifikante Beeinflussung des Transsudatflusses durch Sevofluran festzustellen.

Ödemfraktion:

Nach Versuchsende betrug das durchschnittliche Naßgewicht der Ventrikel in der Sevoflurangruppe 1009 ± 52 mg. Nach der Trocknung wogen die Ventrikel noch 121 ± 5 mg. Die daraus berechnete Ödemfraktion war $88,0 \pm 0,2$ %: Dieser Wert ist mit dem der Kontrollgruppe ($88,3 \pm 0,2$ %) nahezu identisch.

3.1.4.2. Wirkung auf die funktionellen Herzparameter Koronarfluß und Frequenz

Sevofluran stellt die einzige Versuchsgruppe dar, die bereits unter basalen Bedingungen einen signifikant niedrigeren Koronarfluß aufwies als die übrigen Gruppen, nämlich $4,2 \pm 0,2$ ml/min, im Gegensatz zu $6,3 \pm 0,5$ ml/min in der Kontrollgruppe ($p=0,018$). Dennoch wird in der weiteren Darstellung der Ergebnisse genauso verfahren wie mit den übrigen Gruppen und ein Vergleich bezüglich der Steigerungen zwi-

schen Sevofluran-Gruppe und der Kontrollgruppe gezogen. Dies dient einerseits dazu, die Darstellung der Ergebnisse in einem einheitlichen Bild zu belassen. Andererseits konnte durch Korrelationsberechnung auch hier kein Zusammenhang zwischen Koronarfluß und Transsudatfluß gefunden werden.

Koronarfluß:

Abbildung 20 zeigt, daß Sevofluran in der verabreichten Konzentration einen Effekt auf die Koronarflußänderung hatte. Präischämisch bewirkte das volatile Anästhetikum während der Anwesenheit von ANP, daß der Koronarfluß nicht in dem Maß abfällt wie in der Kontrollgruppe, also auf einem höheren Niveau verharrt. Postischämisch war in der Sevoflurangupe eine deutliche Steigerung des Koronarflusses zu verzeichnen. Dies wirkte sich sowohl über weite Strecken der reaktiven Hyperämie, als auch erneut bei der ANP-Steigerung aus. Somit ist festzustellen, daß Sevofluran gegenüber der Kontrollgruppe eine Steigerung des Koronarflusses bewirkte.

Die Korrelationsberechnung ergab zu keinem Zeitpunkt einen Zusammenhang von Transsudatfluß und Koronarfluß.

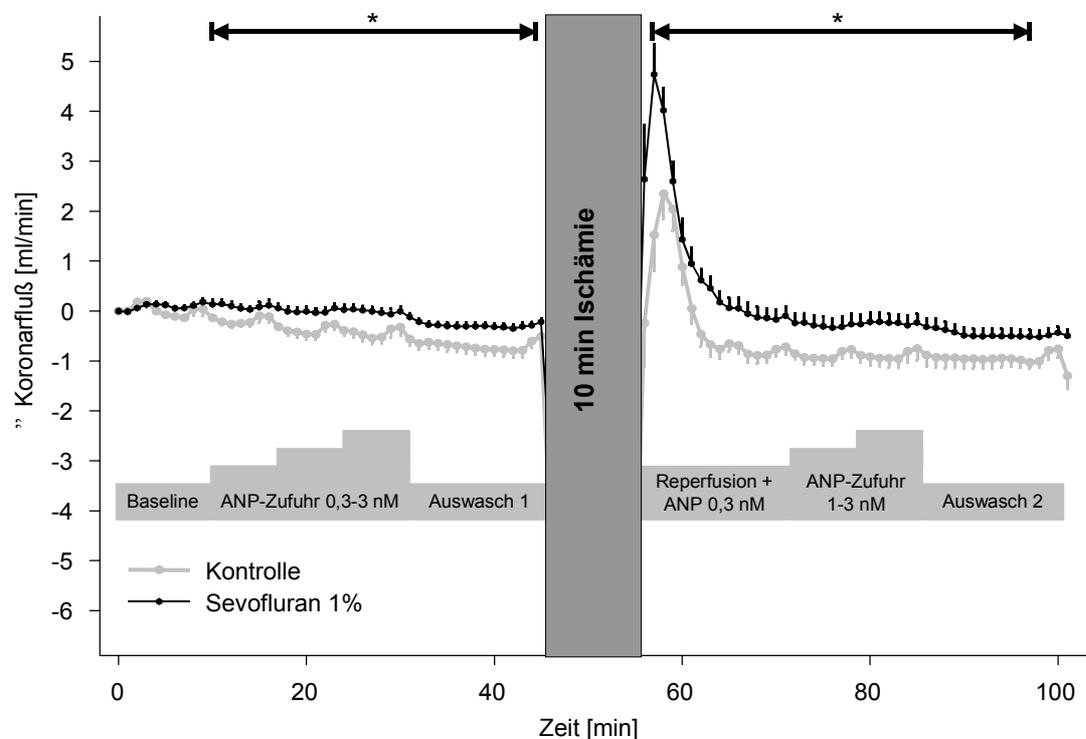


Abbildung 20: Koronarfluß in der Sevoflurangupe

Sevofluran bewirkt über weite Strecken des Versuches in Anwesenheit von ANP eine vermehrte Steigerung des Koronarflusses, verglichen mit der Kontrollgruppe. Dieser Effekt ist sowohl in der präischämischen Phase, als auch in der postischämischen festzustellen.

* = signifikant gegenüber der Kontrolle

Herzfrequenz:

In Abbildung 21 ist die Änderung der Herzfrequenz graphisch dargestellt. Sevofluran bewirkte in der verabreichten Konzentration weder im präischämischen Teil des Versuches, noch im postischämischen eine Herzfrequenzänderung.

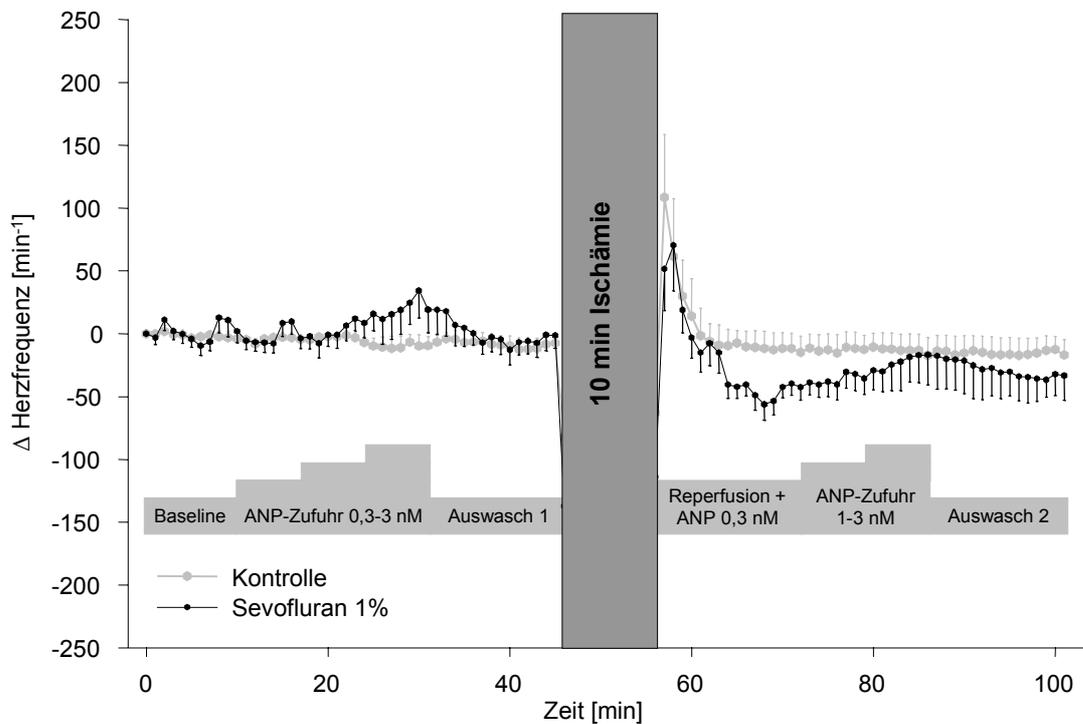


Abbildung 21: Herzfrequenz in der Sevoflurangruppe

Bei der Herzfrequenz ist zu erkennen, daß Sevofluran keinen signifikanten Einfluß gegenüber der Kontrolle ausübt.

3.1.4.3. Zusammenfassung

Der Transsudatfluß wurde durch die Zugabe des volatilen Anästhetikums Sevofluran in einer Konzentration von 1 Vol% gegenüber der Kontrollgruppe zu keinem Zeitpunkt des Versuches beeinflusst. Diese Beobachtung wurde auch durch die Bestimmung der Ödemfraktion am Ende des Versuches bestätigt, so daß gefolgert werden darf, daß Sevofluran in diesem Modell keinen Einfluß auf die Permeabilität hat.

Bezüglich der funktionellen Herzparameter konnte eine Wirkung gezeigt werden: Sevofluran vermag den Koronarfluß gegenüber der Kontrolle auf einem höheren Niveau zu halten. Die Herzfrequenz wird dabei durch das volatile Anästhetikum nicht beeinflusst. Es handelt sich also um einen solitär vasodilatativen Effekt.

3.1.5. Propofol

Das intravenöse Anästhetikum Propofol wurde in einer dem Koronarfluß angepassten Konzentration von 1 µg/ml von der 4. bis zur 85. min nach dem Versuchsprotokoll 1 infundiert. Der Mittelwert des Transsudatflusses für Baseline₁ betrug in der Propofol-Gruppe 210 ± 18 µl/min und unterschied sich nicht von der Kontrollgruppe (Tabelle 3).

3.1.5.1. Wirkung auf die Permeabilität

Präischämische Phase:

In der präischämischen Phase (Abbildung 22 und Tabelle 3) zeigte sich nun ein anderes Bild, als bei der Kontrollgruppe und den übrigen Versuchsgruppen zuvor. Ohne

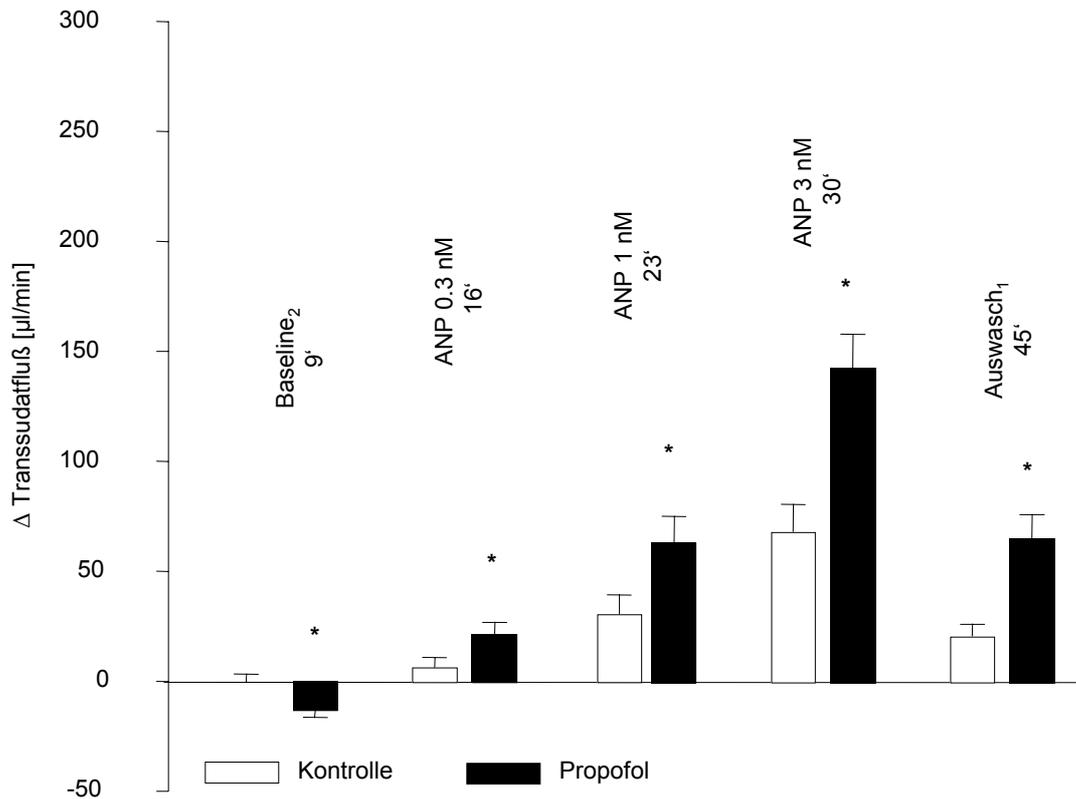


Abbildung 22: Präischämischer Δ Transsudatfluß in der Propofolgruppe

Propofol hat in der präischämischen Phase zwei unterschiedliche Effekte:

Unter basalen Bedingungen vermag es den Transsudatfluß zu senken, also die Permeabilität zu verringern. Mit Beginn der ANP-Infusion verstärkt Propofol in der verabreichten Konzentration die permeabilitätssteigernde Wirkung des Peptids.

den Zusatz von ANP bewirkte Propofol eine signifikante Verminderung des basalen Transsudatflusses (Propofol: -14 ± 4 µl/min, bei Baseline₁ gegenüber Baseline₂) im Vergleich zur Kontrollgruppe (0 ± 4 µl/min). Ab der niedrigsten ANP-Konzentration

(0,3 nM) erhöhte sich der Transsudatfluß in der Versuchsgruppe mit Propofol gegenüber der Kontrollgruppe um das Dreifache (Propofol: 22 ± 5 µl/min, Kontrolle: 7 ± 4 µl/min). Diese Entwicklung zog sich bis zur höchsten ANP-Konzentration fort und erreichte hier doppelt so hohe Steigerungswerte als in der Kontrollgruppe (Propofol: 144 ± 15 µl/min, Kontrolle: 69 ± 12 µl/min). Auch durch die 15-minütige Auswaschphase verschwand der Propofol-Effekt nicht vollständig, so daß dieser Wert immer noch signifikant gegenüber dem Kontrollwert erhöht war (Propofol: 66 ± 11 µl/min, Kontrolle: 22 ± 5 µl/min). Somit zeigte sich bereits in der präischämischen Phase in Anwesenheit von ANP eine durch Propofol verursachte deutliche Schrankenstörung des Endothels.

Postischämische Phase:

Postischämisch erhöhte Propofol (Abbildung 23 und Tabelle 4) die Transsudatflußsteigerung in der frühen Reperfusion um das Dreifache des Kontrollkollektivs (Propofol: 225 ± 39 µl/min, Kontrolle: 70 ± 9 µl/min), obwohl sich dieser initiale Anstieg des Transsudatflusses im weiteren Verlauf der Reperfusion abschwächte, verblieb die Nettofiltration auf einem signifikant höheren Niveau, als bei der Kontrollgruppe. Mit steigender ANP-Konzentration zeigte sich wieder das, aus der präischämischen Phase bekannte Bild einer Transsudatfluß-Steigerung, wobei das Transsudatfluß-Niveau in der Propofol-Gruppe weiterhin signifikant erhöht blieb. Bei der höchsten ANP-Konzentration betrug der Wert mehr als das Doppelte des vergleichbaren Kontrollwertes (Propofol: 158 ± 29 µl/min, Kontrolle: 62 ± 48 µl/min). Diese Erhöhung des Transsudatflusses ließ sich, ebenso wie in der präischämischen Phase, durch 15-minütiges Auswaschen nicht beheben (Propofol: 57 ± 28 µl/min, Kontrolle: 15 ± 14 µl/min). Somit galt auch für die postischämische Phase, daß Propofol in Anwesenheit von ANP die Schrankenstörung des Endothels weiter verstärkt.

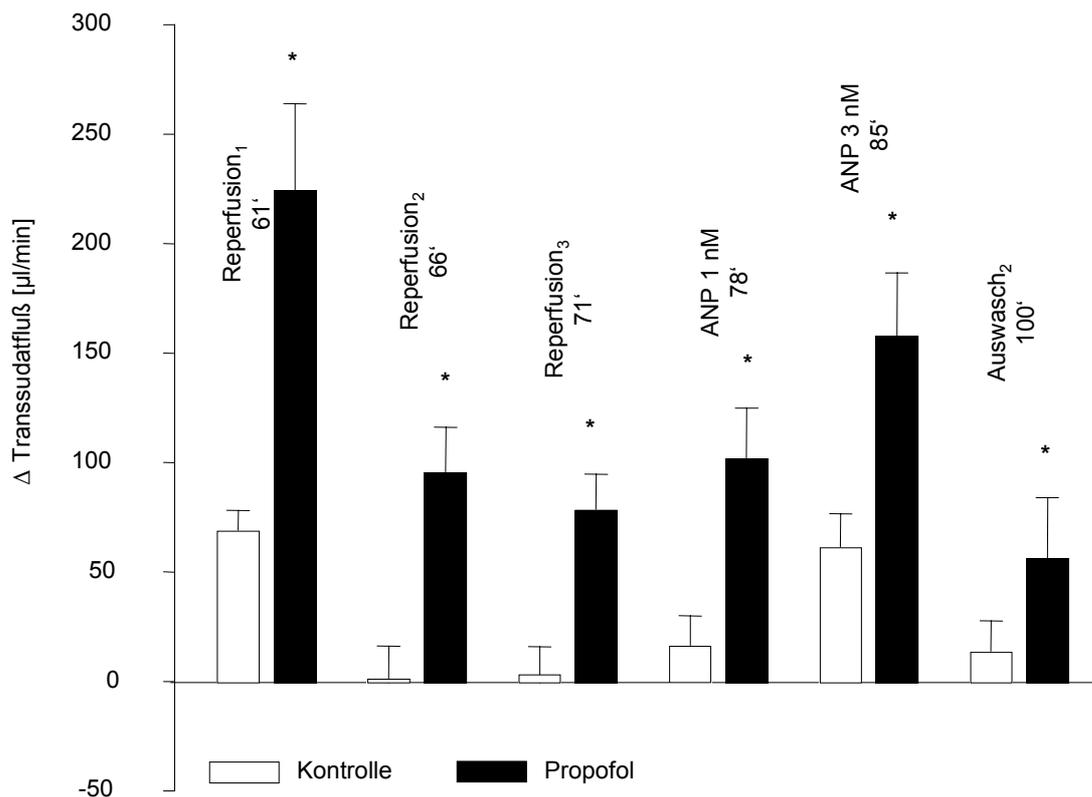


Abbildung 23: Postischämischer Δ Transsudatfluß in der Propofolgruppe

Auch postischämisch bewirkt Propofol sowohl in der frühen Reperusionsphase, als auch mit erneuter Steigerung von ANP eine signifikante Zunahme des Transsudatflusses gegenüber der Kontrollgruppe. Dieser Effekt ist nicht vollständig reversibel.

Ödemfraktion:

Diese permeabilitätssteigernden Befunde ließen sich auch durch die Ermittlung der Ödemfraktion stützen. Hierbei betrug die Ödemfraktion in der Kontrollgruppe $88,3 \pm 0,2$ %, in der Propofolgruppe lag dieser Wert nach Versuchsende signifikant höher bei $89,1 \pm 0,2$ % ($p < 0,05$).

3.1.5.2. Wirkung auf die funktionellen Herzparameter Koronarfluß und Frequenz

Koronarfluß:

Wie in der Abbildung 24 graphisch dargestellt, übte Propofol einen Effekt auf die Änderung des Koronarflusses aus. Präischämisch waren mit Einsetzen der ANP-Zugabe nahezu alle Werte in der Propofolgruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Dieser Effekt hielt bis zum Ende der ersten Auswaschphase an. Postischämisch erhöhte Propofol die Koronarflußsteigerung vor allem in der frühen Reperusionsphase. Dies hielt bis zur 83. min an, dann glichen sich die Propofol- und die Kontrollgruppe einander an und es war kein signifikanter Unterschied mehr feststellbar.

Hinsichtlich einer möglichen Abhängigkeit des Transsudatflusses vom Koronarfluß konnte zu keinem Meßzeitpunkt eine signifikante Korrelation nachgewiesen werden.

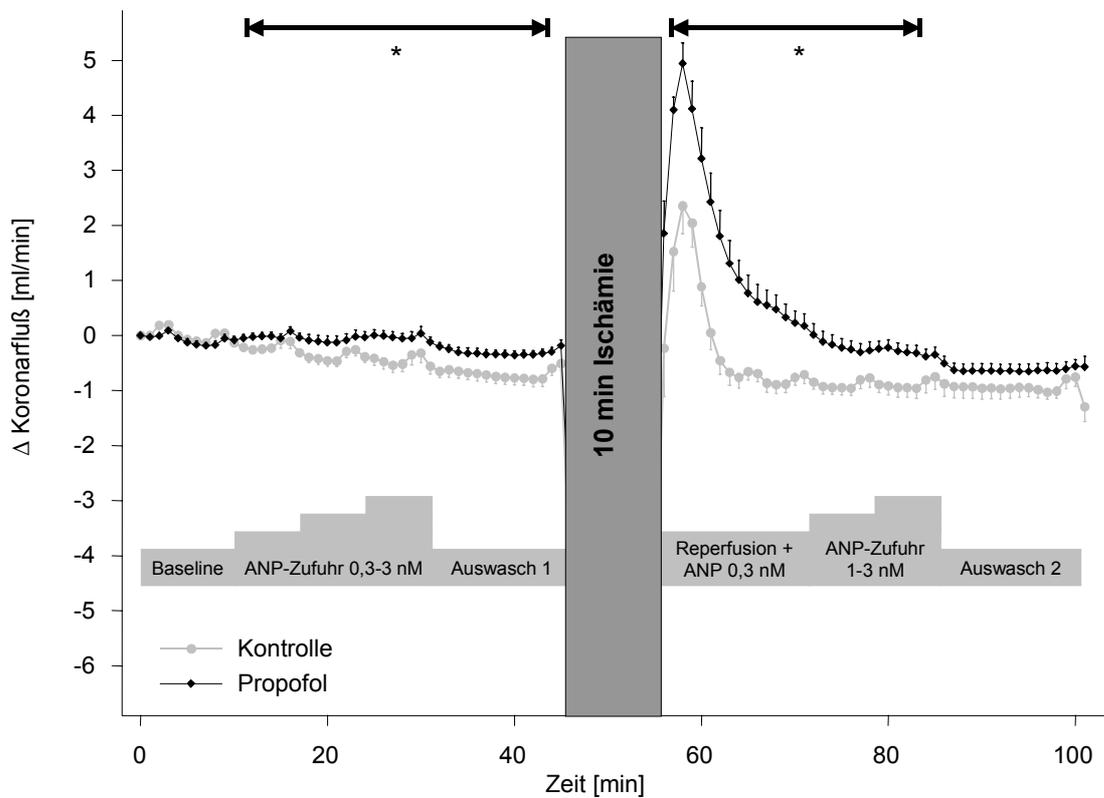


Abbildung 24: Koronarfluß in der Propofolgruppe

Das Anästhetikum Propofol bewirkt präischämisch eine vermehrte Steigerung des Koronarflusses in der Anwesenheit von ANP. Postischämisch ist in der Reperusionsphase bis zum Ende der ANP-Zugabe ebenfalls eine signifikante Steigerung durch Propofol festzustellen.

Herzfrequenz:

Die Propofolgruppe zeigte sowohl prä-, als auch postischämisch einen Trend zu einer Verringerung der Herzfrequenz, wobei dieser Befund zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant war (Abbildung 25). Propofol hatte also unter diesen Versuchsbedingungen keinen signifikanten Einfluß auf die Herzfrequenz.

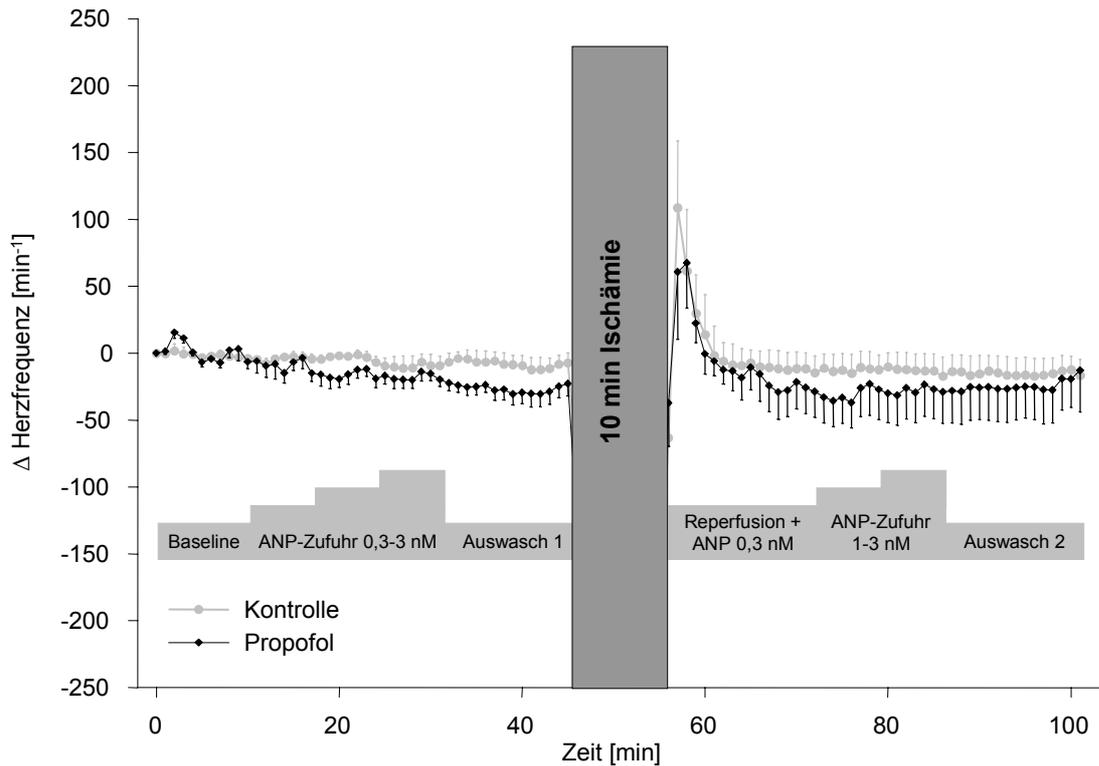


Abbildung 25: Herzfrequenz in der Propofolgruppe

Propofol hat unter diesen Versuchsbedingungen keinen statistisch signifikanten Einfluß auf die Änderung der Herzfrequenz.

3.1.5.3. Zusammenfassung

In diesem Modell konnte sowohl in der präischämischen, als auch in der postischämischen Phase in Anwesenheit eines endothelaktivierenden Agens (ANP, bzw. ANP + Ischämie) ein permeabilitätssteigernder Effekt für das intravenöse Anästhetikum Propofol gezeigt werden. Dieser Befund wird zusätzlich durch die verstärkte Ödemfraktion in der Propofolgruppe untermauert.

Der Koronarfluß wurde durch Propofol in Anwesenheit von ANP sowohl prä-, als auch postischämisch verstärkt. Dieser Effekt war unabhängig von der Herzfrequenz, da hier kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachweisbar war.

3.1.6. Zusammenfassung des Versuchsprotokolls 1

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse aller Gruppen mit Anästhetika gegenüber der Kontrollgruppe zusammenfassend dargestellt:

Gruppe	Transsudatfluß		Koronarfluß		Herzfrequenz		Ödemfraktion
	präischämisch	postischämisch	präischämisch	postischämisch	präischämisch	postischämisch	
Thiopental	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Ketamin	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Sevofluran	∅	∅	↑	↑	∅	∅	∅
Propofol	↑	↑	↑	↑	∅	∅	↑

Tabelle 5: Zusammenfassung des Versuchsprotokolls 1

∅ = keine signifikante Änderung gegenüber der Kontrollgruppe

↑ = signifikante Steigerung gegenüber der Kontrollgruppe

3.2. Ergebnisse des Versuchsprotokolls 2

Durch die Ergebnisse des Versuchsprotokolls 1 wurde deutlich, daß nur Propofol einen Effekt auf die Permeabilität ausübt. Daher wurde im Versuchsprotokoll 2 und 3 nur noch das Anästhetikum Propofol untersucht. Um festzustellen, ob dessen Wirkung durch einen modulierenden Einfluß auf muskarinerge Rezeptoren bedingt ist, wurde ein zweites Versuchsprotokoll ausgearbeitet (siehe Abbildung 3). Es wurden spezifische muskarinerge Antagonisten für M₂- (Methoctramin) und M₃-Rezeptoren (4-DAMP) kontinuierlich in maximalen Hemmkonzentrationen (jeweils 100 nM) zugeführt. Die ansteigenden Konzentrationen für ANP (0,3-3 nM) und die Konzentration von Propofol (1µg/ml) wurden beibehalten. Unter dieser Konstellation wurde wieder der Einfluß von Propofol auf die Permeabilität untersucht. Auskunft über die gemessenen Werte des Versuchsprotokolls 2 gibt Tabelle 6.

	Baseline₁ (Absolutwerte)	Baseline₂ (Δ-Werte)	ANP 0,3nM (Δ-Werte)	ANP 1nM (Δ-Werte)	ANP 3nM (Δ-Werte)
Kontrolle (n=10)	173±22	0±4	7±4	31±9 #	69±12 #
Propofol (n=8)	210±18	-14±4 #*	22±5 #	64±12 #	144±15 #*
Methoctramin (n=4)	167±23	-15±5 #*	-15±6 *	5±10	44±11 #
Methoctramin + Propofol (n=6)	166±16	-14±7	12±12	43±16 #	93±13 #
4-DAMP (n=4)	111±20	-8±3	3±5	18±10	52±10 #
4-DAMP + Propofol (n=6)	162±35	-26±7 #	-7±6 \$	27±9 #	73±16 #§

Tabelle 6: Transsudatflußsteigerungen des Versuchsprotokolls 2

Dargestellt sind die jeweiligen Transsudatänderungen in µl/min aller Gruppen des Versuchsprotokolls 2 gegenüber Baseline₁.

= signifikante Veränderung gegenüber dem Baseline₁-Wert innerhalb einer Gruppe

* = signifikante Veränderung gegenüber der Kontrolle zum entsprechenden Zeitpunkt

\$ = signifikant gegenüber Propofol zum entsprechenden Zeitpunkt

3.2.1. Muskarinerge Rezeptor-Hemmung

3.2.1.1. Auswirkung auf den Transsudatfluß in Anwesenheit von Propofol

Wie schon durch Versuchsprotokoll 1 festgestellt, erhöhte Propofol die durch ANP-induzierte Permeabilitätssteigerung signifikant. Dies war auch für Versuchsprotokoll 2 in Anwesenheit der höchsten ANP-Konzentration festzustellen. Wie aus den Abbildungen 26 und 27 ersichtlich, hatten die muskarinergen Antagonisten Methoctramin und 4-DAMP hierbei eine hemmende Wirkung auf den Propofoleffekt. Dieser hemmende Einfluß war aber für beide Substanzen nicht gleich ausgeprägt. Methoctramin hemmte als selektiver M₂-Antagonist tendenziell den Propofol-Effekt auf den Transsudatfluß (siehe Abbildung 26), jedoch wurde bei keiner der eingesetzten ANP-Konzentrationen ein statistisch signifikantes Niveau erreicht. Die Transsudatflußzunahme bei der höchsten ANP-Konzentration betrug für die Kontrolle 69 ± 12 µl/min, für Propofol 144 ± 15 µl/min und für Propofol+Methoctramin 93 ± 13 µl/min. 4-DAMP als selektiver M₃-Antagonist hemmte den Propofol-Effekt auf den ANP-induzierten Transsudatfluß nahezu vollständig (Abbildung 27). In Anwesenheit der höchsten ANP-Konzentration war die Hemmung des Transsudatflusses statistisch signifikant (Kontrolle: 69 ± 12 µl/min, Propofol: 144 ± 15 µl/min, Propofol+4-DAMP: 73 ± 16 µl/min).

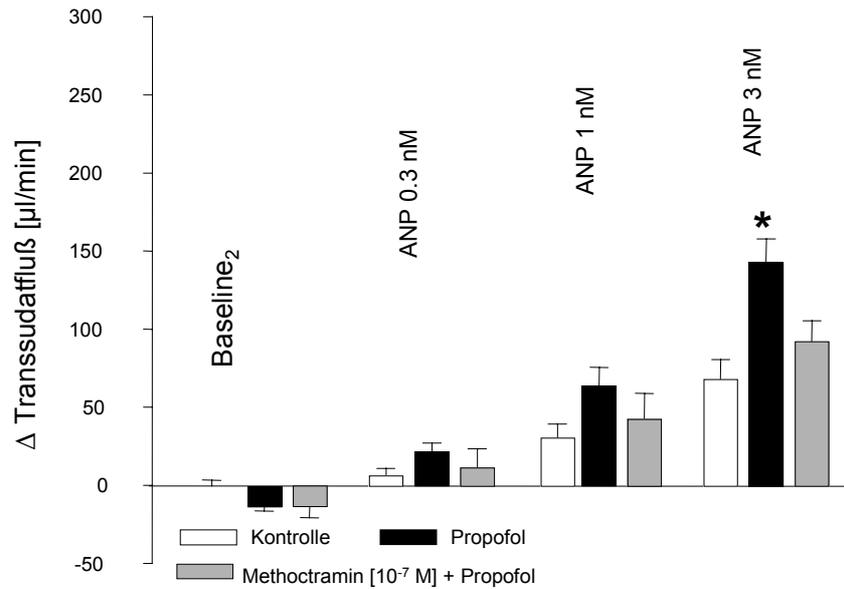


Abbildung 26: Einfluß von Methoctramin + Propofol auf die Permeabilität

Der Propofol-Effekt wird durch Methoctramin tendenziell gehemmt, der Unterschied ist aber zu keinem Meßzeitpunkt signifikant.

* = $p < 0.05$ zur Kontrolle

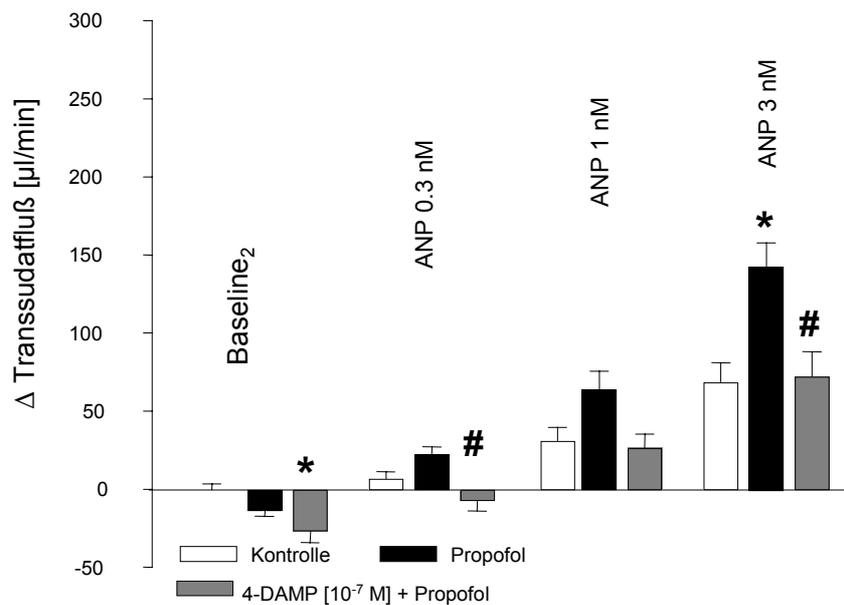


Abbildung 27: Einfluß von 4-DAMP + Propofol auf die Permeabilität

Der Antagonist 4-DAMP vermag den Propofol vermittelten Effekt auf die Permeabilität in Anwesenheit der höchsten ANP-Konzentration signifikant zu reduzieren.

* = $p < 0.05$ zur Kontrolle

= $p < 0.05$ zu Propofol

3.2.1.2. Auswirkung auf den Transsudatfluß in Abwesenheit von Propofol

Um einen möglichen Effekt der beiden muskarinergen Antagonisten auf die durch ANP verursachte Permeabilitätssteigerung zu detektieren, wurden die Inhibitoren jeweils in der oben genannten Konzentration von 10^{-7} M in Abwesenheit von Propofol zugeführt. Methoctramin (M_2) verringerte unter basalen Bedingungen die Permeabilität im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant (Kontrolle: 0 ± 4 $\mu\text{l}/\text{min}$, Methoctramin: -15 ± 5 $\mu\text{l}/\text{min}$) (Abbildung 28). Auch im weiteren Verlauf blieb die durch ANP provozierte Permeabilitätssteigerung in der Methoctramin Gruppe deutlich hinter der der Kontrollgruppe zurück, auch wenn sich dies ab der zweithöchsten ANP-Konzentration nicht mehr statistisch belegen ließ (Abbildung 28).

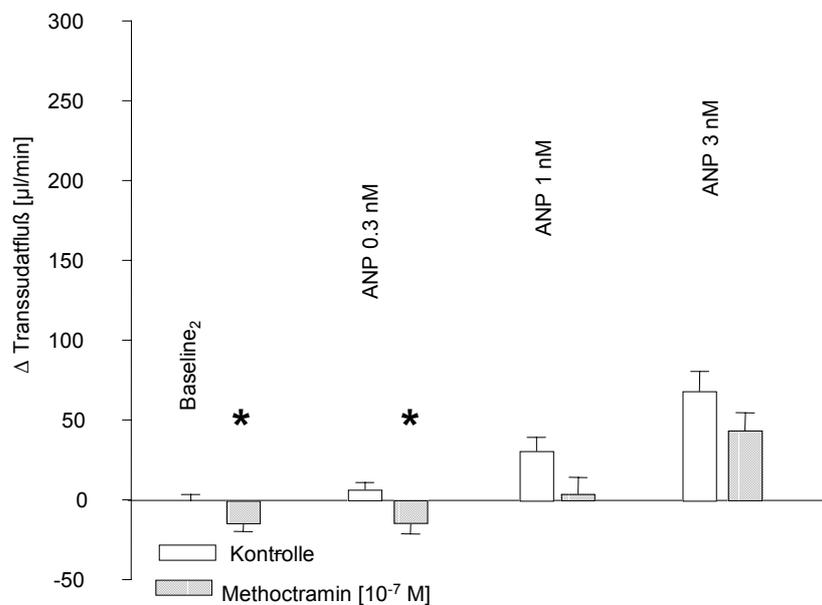


Abbildung 28: Wirkung von Methoctramin auf die Permeabilität
Methoctramin reduziert schon unter basalen Bedingungen signifikant den Transsudatfluß, so daß eine Zugabe von ANP nicht mehr zu dem erwarteten Permeabilitätsanstieg führt.
* = $p < 0.05$ zur Kontrolle

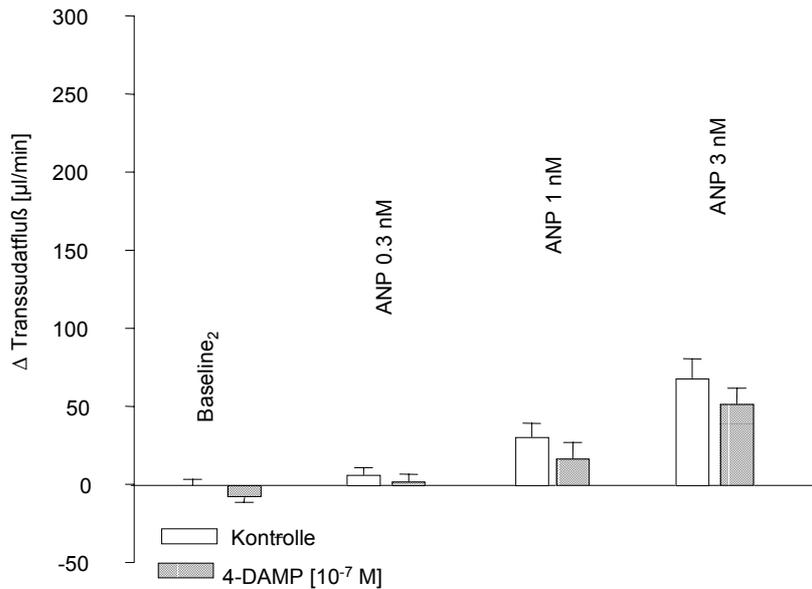


Abbildung 29: Wirkung von 4-DAMP auf die Permeabilität
 4-DAMP hat in Abwesenheit von Propofol nahezu keinen Effekt auf die Permeabilität, sowohl unter basalen Bedingungen, als auch mit ansteigenden ANP-Konzentrationen.

In Abbildung 29 ist der alleinige Effekt von 4-DAMP auf die Permeabilität dargestellt. Sowohl unter basalen Bedingungen (Transsudatfluß: Kontrolle: 0 ± 4 µl/min, 4-DAMP: -8 ± 3 µl/min), als auch unter den steigenden ANP-Konzentrationen, einschließlich der höchsten ANP-Konzentration (Zunahme des Transsudatflusses bei Kontrolle: 69 ± 12 µl/min, mit 4-DAMP: 52 ± 10 µl/min), war kein Unterschied zwischen der Kontroll- und der 4-DAMP-Gruppe festzustellen und somit ein basaler Einfluß von 4-DAMP auf die Permeabilität auszuschließen.

3.2.1.3. Direkter Vergleich zwischen Methoctramin und 4-DAMP

Um einen direkten Vergleich zwischen den beiden Antagonisten ziehen und jeweils deren Einfluß auf die Permeabilität darstellen zu können, wurden diese beiden Gruppen in An- oder Abwesenheit von Propofol einander gegenübergestellt. In Abbildung 30 ist der permeabilitätssteigernde Effekt von Propofol noch deutlich vorhanden. Dabei vermag Methoctramin zwar eine Reduzierung des Transsudatflusses zu bewirken, dieser Effekt war aber unspezifisch und unabhängig von der Propofol-induzierten Permeabilitätssteigerung.

Dagegen wurde der Effekt von Propofol auf den Transsudatfluß in Anwesenheit von 4-DAMP bei steigender ANP-Konzentration nahezu vollständig aufgehoben (Abbildung 30). Daraus ist zu schließen, daß der festgestellte Propofol-Effekt auf die Per-

meabilität hauptsächlich über M_3 -Rezeptoren vermittelt wird und durch einen selektiven Antagonisten fast vollständig aufgehoben werden kann.

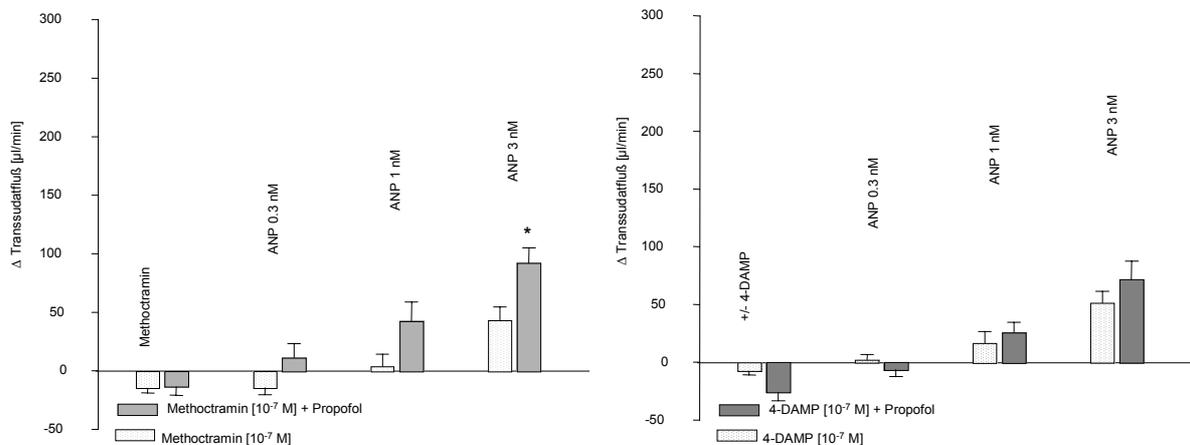


Abbildung 30: Gegenüberstellung von Methoctramin und 4-DAMP

In der linken Graphik ist deutlich zu erkennen, daß trotz der Anwesenheit von Methoctramin (M_2) der Propofoleffekt auf die Permeabilität immer noch vorhanden ist, bei der höchsten ANP-Konzentration sogar statistisch signifikant.

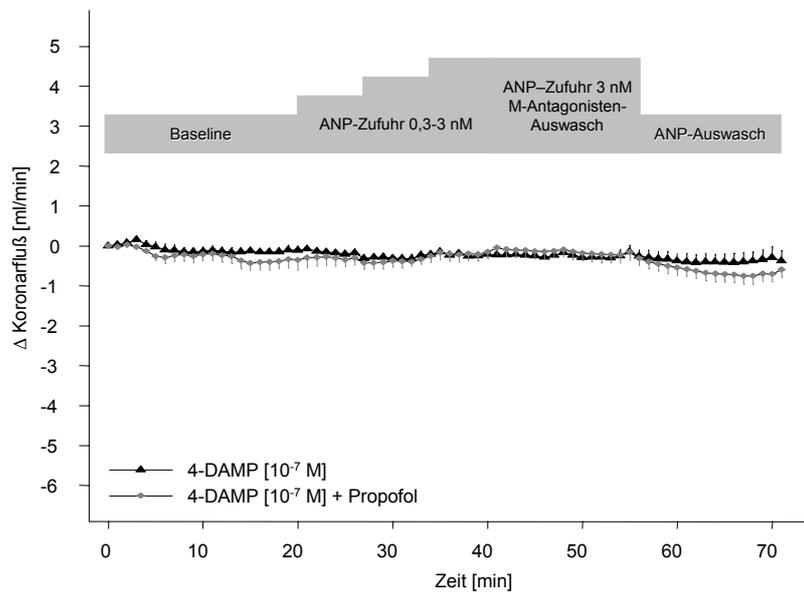
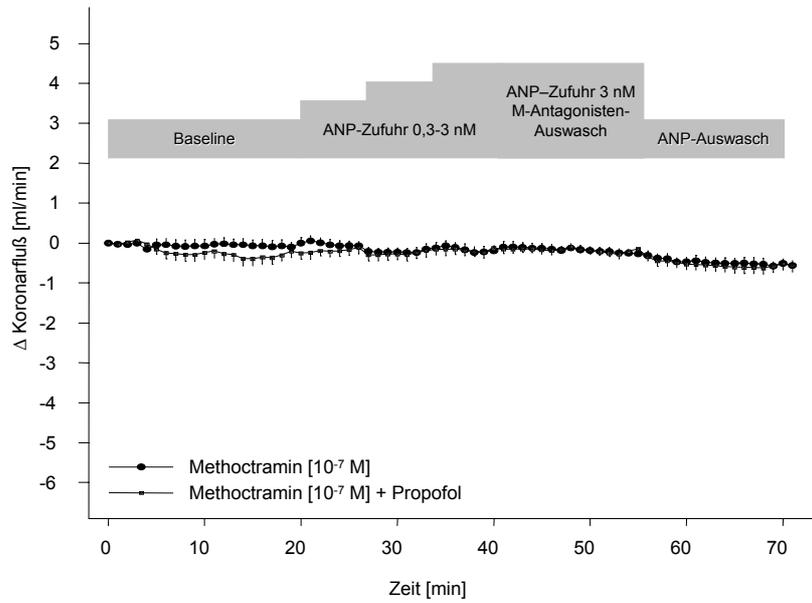
In der rechten Graphik ist dieser Propofoleffekt auf die Permeabilität durch 4-DAMP (M_3) fast vollständig aufgehoben

* = $p < 0,05$ gegenüber Methoctramin ohne Propofol

3.2.2. Auswirkungen auf funktionelle Herzparameter

Um auszuschließen, daß die beiden muskarinergen Rezeptorantagonisten einen Einfluß auf die funktionellen Herzparameter haben, wurde auch in deren Anwesenheit der Koronarfluß und die Herzfrequenz bestimmt.

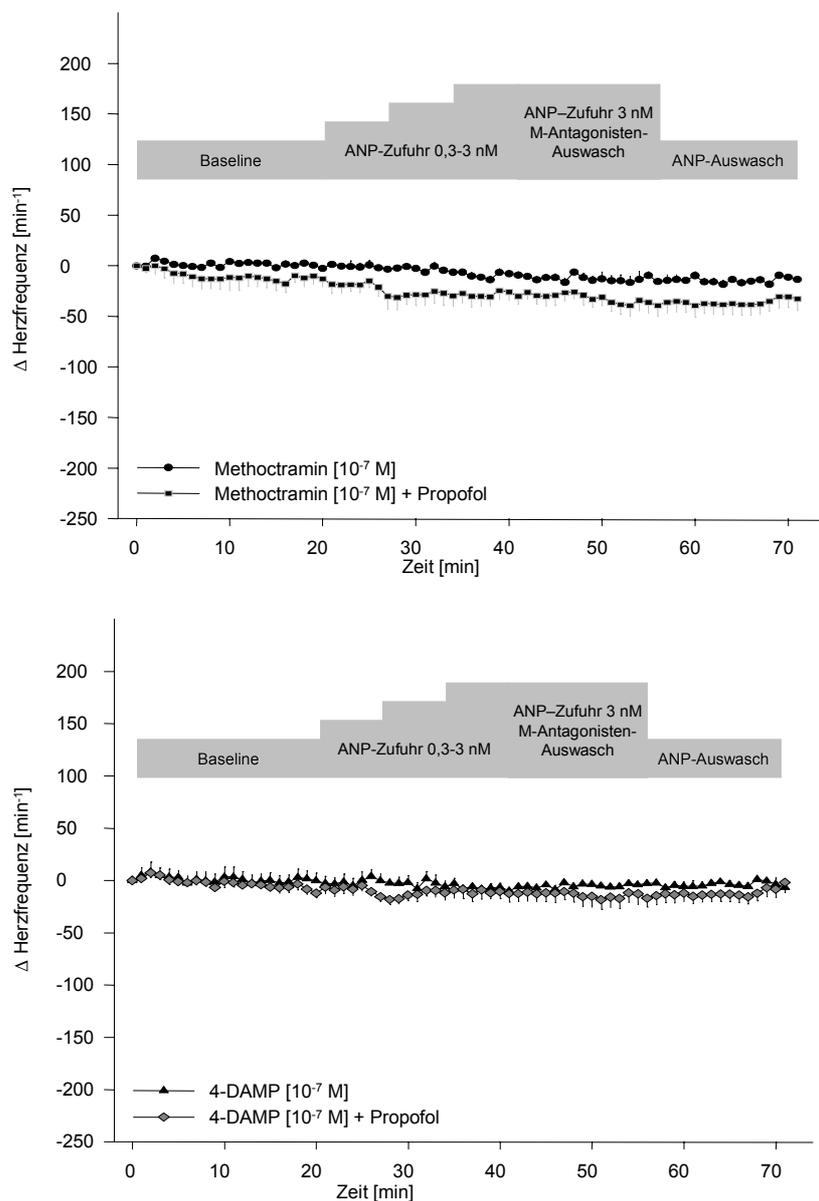
In den Abbildungen 31 und 32 ist der Einfluß von Methoctramin und 4-DAMP auf den Koronarfluß in An- und Abwesenheit von Propofol aufgezeichnet. Beide Substanzen führten weder in An-, noch in Abwesenheit von Propofol zu einer Veränderung des Koronarflusses.



Abbildungen 31 und 32

Wie zu erkennen ist, haben weder Methoctramin, noch 4-DAMP einen Einfluß auf den Koronarfluß in Anwesenheit von Propofol, verglichen mit den Versuchsbedingungen ohne Propofol.

Die Herzfrequenz wurde durch die Zugabe von Propofol in Anwesenheit von Methoctramin über fast den gesamten Versuchszeitraum gesenkt, allerdings nicht statistisch signifikant (Abbildung 33). 4-DAMP dagegen rief keine derartigen Veränderungen hervor (Abbildung 34).



Abbildungen 33 und 34

In Abbildung 32 zeichnet sich ab, daß Methoctramin die Herzfrequenz tendenziell, aber nicht statistisch signifikant senkt.

In Abbildung 33 besteht zwischen beiden Versuchsgruppen kein Unterschied bezüglich der Herzfrequenz.

3.2.3. Zusammenfassung

Beide muskarinergen Antagonisten hemmten in Anwesenheit von ANP die durch Propofol verstärkte Permeabilität. Der Effekt des selektiven M_2 -Antagonisten Methoctramin scheint deutlich unspezifischer zu sein, als der des selektiven M_3 -Antagonisten 4-DAMP. Folglich wurde der permeabilitätssteigernde Effekt von Propofol wahrscheinlich über M_3 -Rezeptoren vermittelt. Auf die funktionellen Herzparameter hatten die beiden muskarinergen Antagonisten keinen nennenswerten Einfluß.

3.3. Ergebnisse des Versuchsprotokolls 3

Die bisherigen Ergebnisse konnten über den hemmenden Effekt von 4-DAMP (und in Teilen auch von Methoctramin) zeigen, daß Propofol einen modulierenden Effekt am M₃-Rezeptor hat. Um festzustellen, ob Propofol auch eine direkt verstärkende Wirkung in Anwesenheit von Acetylcholin, dem physiologischen Agonisten an muskarinergen Rezeptoren hat, wurden weitere Versuche nach dem in Abbildung 4 beschriebenen Versuchsprotokoll 3 durchgeführt.

	Baseline ₁ (Absolutwerte)	Ach 10 nM (Δ-Werte)	Ach 30 nM (Δ-Werte)	Ach 100 nM (Δ-Werte)
Acetylcholin (n=6)	114±18	20±3 #	60±5 #	129±9 #
Acetylcholin + Propofol (n=6)	94±22	23± 7 #	85±17 #	184±36 #

Tabelle 7: Transsudatflußsteigerungen des Versuchsprotokolls 3

Dargestellt sind die jeweiligen Transsudatflußänderungen (in µl/min) aller Gruppen des Versuchsprotokolls 3.

Bezüglich beider Gruppen besteht bei keinem Meßpunkt ein statistisch signifikanter Unterschied.

= signifikante Veränderung gegenüber dem Baseline₁-Wert innerhalb einer Gruppe

3.3.1. Beeinflußung der Acetylcholin-vermittelten Effekte auf den Transsudatfluß durch Propofol

3.3.1.1. Veränderung in Abwesenheit von Propofol

Acetylcholin erhöht die Permeabilität des Endothels. In unserem Versuchsmodell wurden zur Endothelaktivierung Acetylcholinkonzentrationen von 10 nM bis 300 nM eingesetzt. Dabei konnte mit der Acetylcholinkonzentration von 100 nM ein Transsudatanstieg von 129 ± 9 µl/min erreicht werden (Abbildung 35). Anschließend wurde mit der Zufuhr von Acetylcholin in der Konzentration von 300 nM überprüft, ob die

endotheliale Wirkungsschwelle überschritten wird, da dann ein Effekt an den glatten Muskelzellen der Gefäße und an den Kardiomyozyten zu erwarten wäre. In unseren Versuchen führte die Erhöhung auf 300 nM zu erheblichen Arrhythmien. Mit Eintreten der Arrhythmien wurde die Konzentration des infundierten Acetylcholins sofort reduziert und ein Auswaschversuch unternommen. Dieser zeigte eine partielle Reversibilität der Effekte, also sowohl ein Rückgang des Transsudatflusses, als auch ein Sistieren der Arrhythmien. Nach der Auswaschphase war noch eine durchschnittliche Erhöhung des Transsudatflusses um $25 \pm 10 \mu\text{l}/\text{min}$ zu verzeichnen.

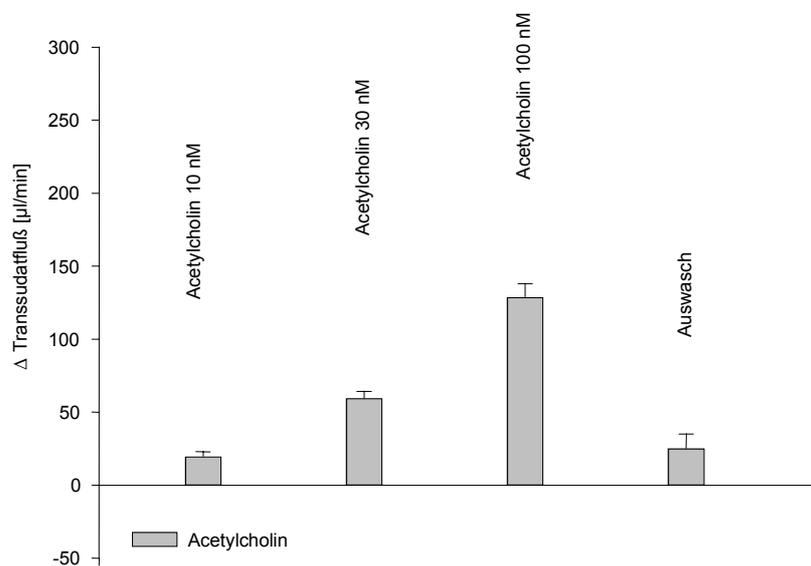


Abbildung 34: Transsudatflußsteigerung durch Acetylcholin
Acetylcholin bewirkt eine dosisabhängige Zunahme des Transsudatflusses.

3.3.1.2. Veränderung in Anwesenheit von Propofol

Durch die Zugabe von Propofol war eine trendmäßige Verstärkung der Permeabilität zu beobachten (siehe Tabelle 4 und Abbildung 36). Dieser Effekt war jedoch aufgrund der erheblichen Variabilität der Einzelversuche nicht statistisch signifikant.

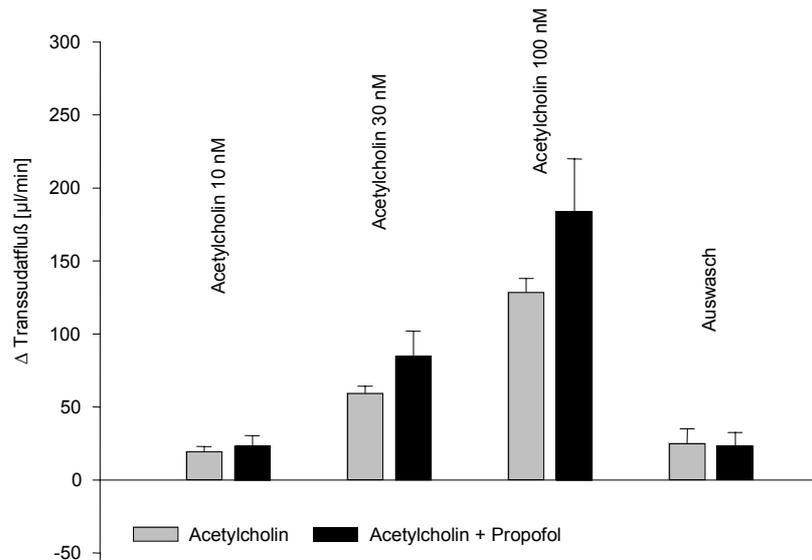


Abbildung 36: Transsudatflußsteigerung durch Acetylcholin in Anwesenheit von Propofol

Propofol verstärkt tendenziell den permeabilitätssteigernden Effekt von Acetylcholin, allerdings wird kein statistisch signifikantes Niveau erreicht.

3.3.2. Beeinflussung der Acetylcholin-vermittelten Effekte auf die funktionellen Herzparameter durch Propofol

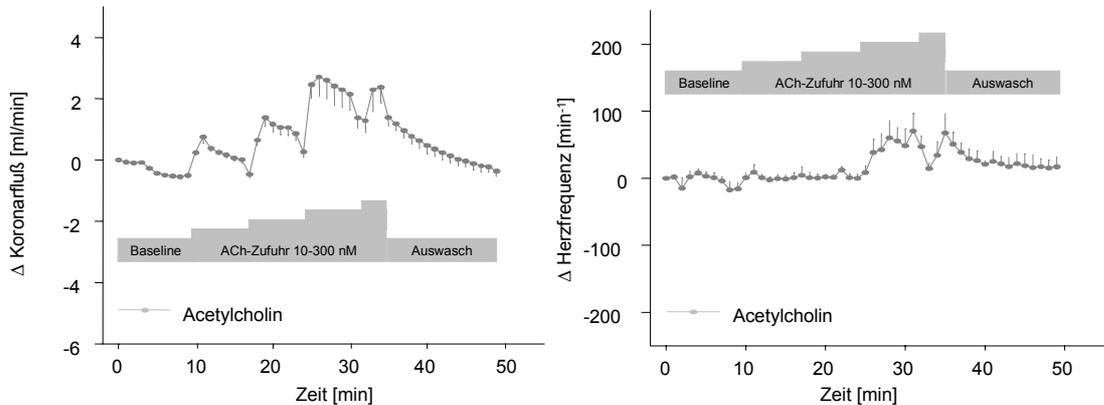
3.3.2.1. Veränderungen durch Acetylcholin in Abwesenheit von Propofol

Bei Zugabe von Acetylcholin ist eine endothelvermittelte Vasodilatation des Koronarsystems zu erwarten. Dies ist in Abbildung 37 auch deutlich zu erkennen:

Mit jeder schrittweisen Erhöhung der Acetylcholinkonzentration war eine Koronarfluß-Steigerung verbunden, bei der niedrigsten Konzentration um maximal $0,8 \pm 0,2$ ml/min, bei der höchsten Acetylcholinkonzentration um maximal $2,7 \pm 0,6$ ml/min. Die transitorischen Abnahmen des Koronarflusses zwischen den steigenden Acetylcholinkonzentrationen waren durch den Wechsel der Infusionsspritze bei jeder Konzentrationszunahme bedingt. Die kurze Halbwertszeit von Acetylcholin führte dabei zu einem schnellen Nachlassen des Effektes.

Bis zur 25. min war keine Änderung der Herzfrequenz festzustellen. Mit Zugabe von Acetylcholin in einer Konzentration von 100 nM stieg mit zunehmenden Koronarfluß auch die Herzfrequenz, um beim letzten Spritzenwechsel nochmals kurz abzufallen und bei der Acetylcholinkonzentration von 300 nM nochmals anzusteigen. Anschließend findet eine Annäherung an die Ausgangssituation statt. Die Frequenzsteigerungen verliefen jeweils parallel zu den Koronarflußzunahmen. Hieraus kann geschlos-

sen werden, daß die Frequenzeffekte indirekter Natur sind, mitunter Temperaturbedingt: Ein höherer Koronarfluß hat an der hier verwendeten Perfusionsapparatur eine gewisse Erwärmung des Herzpräparates zur Folge, mit einer Zunahme der spontanen Sinusknotenerregung (Abbildung 38).



Abbildungen 37 und 38: Einfluß von Acetylcholin auf die funktionellen Herzparameter

In Abbildung 37 ist zu erkennen, daß Acetylcholin den Kononarfluß dosisabhängig verstärkt. Die Abfälle sind dabei technisch durch den Spritzenwechsel und die kurze Halbwertszeit von Acetylcholin zu erklären.

In Abbildung 38 ist die Änderung der Herzfrequenz dargestellt. Diese bleibt bis zur 25. min konstant. Mit Einsetzen der Acetylcholinkonzentration von 100 nM steigt die Herzfrequenz mit zunehmendem Koronarfluß an. Mit Beginn der Auswaschphase gleichen sich die Werte wieder dem Ausgangsniveau an.

3.3.2.2. Veränderungen durch Acetylcholin in Anwesenheit von Propofol

Propofol hatte keinen Effekt auf die durch Acetylcholin induzierte Koronarflußsteigerung (Abbildung 39).

Anders dagegen das Bild in Abbildung 40. Hier scheint Propofol den indirekt frequenzsteigernden Effekt der hohen Acetylcholinkonzentrationen zu verhindern. Dies ließ sich aber nicht statistisch signifikant belegen.

3.3.2.3. Zusammenfassung

Es besteht ein Trend, daß Propofol den Acetylcholin-Effekt auf den Transsudatfluß verstärkt, dies ist aber zu keinem Meßzeitpunkt signifikant. Bei der Betrachtung der Koronarflußänderungen ergaben sich keine Unterschiede bezüglich der An- oder Abwesenheit von Propofol. Die Herzfrequenzsteigerung mit Beginn der Acetylcholinkonzentration von 100 nM in Abwesenheit von Propofol scheint durch die Anwesenheit von Propofol verhindert zu werden, aber auch hier sind die Schwankungen der einzelnen Meßergebnisse so groß, daß der Effekt nicht statistisch signifikant war.

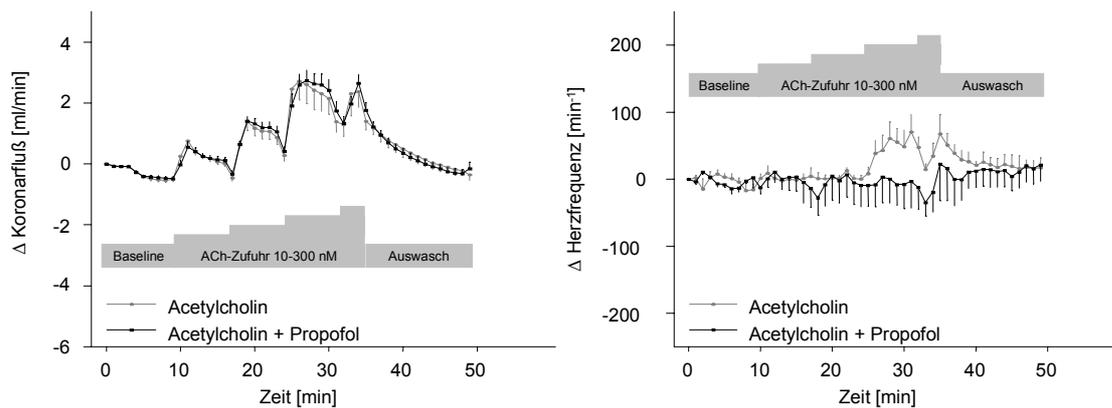


Abbildung 39 und 40: Einfluß von Acetylcholin auf die funktionellen Herzparameter in Anwesenheit von Propofol

Propofol hat keinen Einfluß auf die acetylcholininduzierte Koronarflußsteigerung. Der Anstieg der Herzfrequenz, der in Abbildung 38 zu sehen war, scheint durch Propofol gemindert zu werden.

3.4. Analytische Auswertung der Effluatproben

Es wurde mit zwei unterschiedlichen ELISA-Systemen versucht, cGMP in Effluatproben aus dem Koronarsystem zu messen. Die von den Herzen abgegebenen Mengen an cGMP waren allerdings zu gering, um detektiert zu werden. Alle Meßwerte bewegten sich unterhalb der Nachweisgrenzen beider Testsysteme (ca. 35 fmol/ml). Auf eine Darstellung der Meßwerte wurde daher verzichtet.

4. Diskussion

4.1. Methodik

Das Modell des isoliert perfundierten Herzens wurde 1895 erstmals von Oskar Langendorff beschrieben⁸⁰⁻⁸³ und ist bis heute nur in Details verändert worden²⁸. Es ist eine weltweit anerkannte Methode, um die Wirkung von externen Einflüssen auf die Herzfunktionalität und das Koronarsystem zu erforschen. Dabei ist die Autonomie des Herzens von großem Vorteil, denn dadurch entfallen störende humorale oder nervöse Einflüsse des Gesamtorganismus, die in einem in situ Modell eine Rolle spielen könnten. Daher kann, wie in dieser Arbeit, ein pharmakologisches Agens isoliert in einem definierten Organ und seinem Gefäßbett untersucht werden und somit Aussagen über spezifische Wirkungsmechanismen in dem betreffenden Organ getroffen werden.

Allerdings ist zu beachten, daß Erkenntnisse, die aus einer ex vivo Präparation stammen, nicht direkt auf klinische Situationen übertragbar sind. In einer klinischen Situation ist man mit einem komplexen Organismus konfrontiert, in dem sämtliche Organsysteme einen Einfluß auf die Wirkung und Pharmakokinetik der eingesetzten Substanzen haben. Dabei spielen sowohl physiologische, als auch molekularbiologische Systeme auf zellulärer Ebene eine Rolle, die auch im isolierten Organ gelten.

Eine weitere entscheidende Einschränkung in dieser Arbeit ist das Fehlen von Blutbestandteilen wie Erythrozyten, Thrombozyten und Neutrophilen, da diese bei dem untersuchten Pathomechanismus der Ischämie/Reperfusion eine entscheidene Rolle spielen können. Andererseits ist im Herzmodell eine Fokussierung auf das Endothel möglich. Insbesondere gelingt es, durch Bestimmung des Transsudatflusses, direkt ein quantitatives Maß für die Nettofiltration in einem intakten Gefäßbett zu erhalten. Dies ist in keinem anderen Modell möglich

4.2. Permeabilität

4.2.1. Physiologische Grundlagen der Permeabilität im Zellverband

Zellen, die sich zu einem Zellverband zusammengeschlossen haben, grenzen sich in der Regel nach außen ab. Dennoch ist es für diese Zellen wichtig, mit anderen Zell-

verbänden oder dem Intravasalraum zu kommunizieren, um einerseits Reize weiterzuvermitteln oder zu beantworten, andererseits die eigene Zell- und Organfunktion durch Austausch von organischen und anorganischen Substanzen aufrecht zu erhalten. Dieser Austausch von Substanzen kann dabei auf zwei unterschiedliche Arten erfolgen:

- parazellulär
- transzellulär

Der parazelluläre Austausch ist von Schlussleisten abhängig, die zwischen den einzelnen Zellen bestehen. Diese Schlussleisten werden hauptsächlich durch sogenannte tight junctions und Zonula occludens gebildet. Diese sind für kleine Moleküle mehr oder weniger passierbar, je nach Art des Zellverbandes und der Anzahl der tight junctions und Zonae occludens, für Makromoleküle unter physiologischen Bedingungen in der Regel jedoch unpassierbar.

Für den transzellulären Fluß sind eine Vielzahl von Möglichkeiten vorhanden:

- passive Diffusion durch die Zellmembranen entlang von Konzentrationsgefällen
- passiver Transport mittels Kanälen (z. B. Ionenkanäle, Aquaporine)
- passiver Transport von Molekülen mittels Transportproteinen, sogenannte Carrier
- primär-aktiver Transport von Ionen mittels Ionenpumpen, die ATP-abhängig sind
- sekundär-aktiver Transport von Molekülen durch Koppelung an passive Ionenströme (Symport und Antiport)
- tertiär-aktiver Transport von Proteinen durch Ionenströme
- Zytose, unterteilt in Endo- und Exocytose, mittels sogenannter Vesikel ¹²⁸

4.2.2. Trennung zwischen Intra- und Extravasalraum durch spezialisierte Zellen: Endothelzellen

Endothelzellen sind differenzierte Epithelzellen und kleiden Blutgefäße aus. Dabei übernehmen sie mehrere wichtige Rollen:

- Regulierung der Permeabilität zwischen intra- und extravasalem Raum
- Regulierung der Vasomotorik
- Regulierung der Hämostase

Durch die Regulierung der Permeabilität tragen die Endothelzellen in hohem Maße Verantwortung für die nutritive Versorgung einzelner Organsysteme. Dabei kommen alle oben besprochenen Möglichkeiten zum Einsatz. Aber auch Wasser muß zwischen dem intra- und extravasalen Raum transportiert werden. Dabei kommen zwei unterschiedliche Wege in Betracht:

- Osmose
- Filtration

Die Osmose ist abhängig von Konzentrationsunterschieden zwischen den Räumen. Der Wasserfluß ist dabei dem Konzentrationsgefälle entgegengerichtet. Die hierfür nötigen Konzentrationsgefälle können durch die oben beschriebenen Transportmechanismen aktiv aufgebaut werden. Zusätzlich wird der Wassertransport durch spezielle Wasserkanäle, die die Zellmembranen durchziehen, gesteuert. Diese Wasserkanäle werden Aquaporine genannt und sind durch komplexe Regelmechanismen steuerbar.

Die Filtration ist abhängig von einem hydrostatischen Druckgefälle zwischen Gefäß und Interstitium. Auf Grund der Semipermeabilität von biologischen Membranen kann dabei zwischen intra- und extravasalem Raum ein Gleichgewicht zwischen Osmose und Filtration entstehen. Dies ist unter physiologischen Bedingungen der Fall.

Durch Filtration und Osmose können gelöste Teile zwischen intra- und extravasalem Raum „mitgerissen“ werden, man spricht dann von einem „solvent drag“. Für diesen solvent drag spielt die Semipermeabilität von biologischen Membranen (wie z. B. dem Endothel) eine wichtige Rolle, da diese über die Menge der „mitgerissenen“ Substanzen entscheidet ¹²⁸.

Für die Permeabilität von größeren Substanzen wie Proteinen zwischen intra- und extravasalem Raum gibt es zwei unterschiedliche Theorien ¹⁰⁰:

- konvektiver Transport mittels großer Poren ¹¹⁶
- nicht-konvektiver Transport mittels selektiver Transcytose ¹⁵⁵

Dabei scheint die Permeabilität für größere Peptide, egal welches Modell man nun favorisiert, von den Druckverhältnissen in der Mikrozirkulation abzuhängen ¹⁰⁰.

Zu bedenken ist, daß eine Grundpermeabilität vom intra- zum extravasalen Raum und umgekehrt immer vorhanden ist. Diese ist notwendig, um die nutritive Versorgung von Geweben und Organen sicherzustellen.

4.2.3. Erhöhte vaskuläre Permeabilität

Es gibt eine Vielzahl von systemischen Erkrankungen die mit einer erhöhten Gefäßpermeabilität einhergehen¹⁰⁰, deren Entstehungsmechanismen bis heute noch nicht vollständig verstanden sind:

- Diabetes mellitus
- Hypertension
- Rheumatische Arthritis
- Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS)
- Höhenkrankheit.

Klassische Auslöser für eine erhöhte Permeabilität sind :

- Toxische und phyikalische Schädigungen
- Entzündungsreaktionen (darunter fallen im weitesten Sinne auch Ischämie- und Reperfusionsschäden⁴⁶)
- ANP-Ausschüttung
- Erhöhte Schubspannung (shear stress), als Folge erhöhter intravasaler Flußwerte.

Diese Auslöser sind in den letzten Jahren intensiv erforscht worden, dennoch sind die kausalen Mechanismen noch nicht abschließend geklärt.

Für die klassische Entzündungsreaktion sind Mediatoren bekannt, die auch solitär verabreicht zu einer Permeabilitätssteigerung führen, wie z. B. Histamin, Bradykinin und Serotonin. Dabei konnten einige Autoren durch Elektronenmikroskopie zeigen, daß diese Mediatoren Öffnungen (Gaps) in den Endothelzellen verursachen^{22;91}. Es wird diskutiert, daß diese Gaps durch eine Veränderung im Zytoskelett der Endothelzelle geöffnet werden^{29;125}. Diese Veränderungen des Zytoskelettes werden durch Aktivierung von Myosin und Aktin durch die Myosinleichtketten-Kinase (MLCK) hervorgerufen. Initiiert wird dieser Prozess durch eine intrazelluläre Ca^{2+} -Erhöhung¹⁴⁰, welche sowohl durch Entzündungsmediatoren, als auch durch „shear stress“ verursacht sein kann. Als Mediator der Schubspannungs-induzierten Wirkung dürfte Stickoxid (NO) wesentlich sein. Als Veranschaulichung dient das Flußdiagramm aus Abbildung 41. Auf Schritte der Signaltransduktion, die bei der Induktion von vaskulärer Permeabilität durch Reperfusion/Ischämie und ANP beteiligt sind, soll später genauer eingegangen werden.

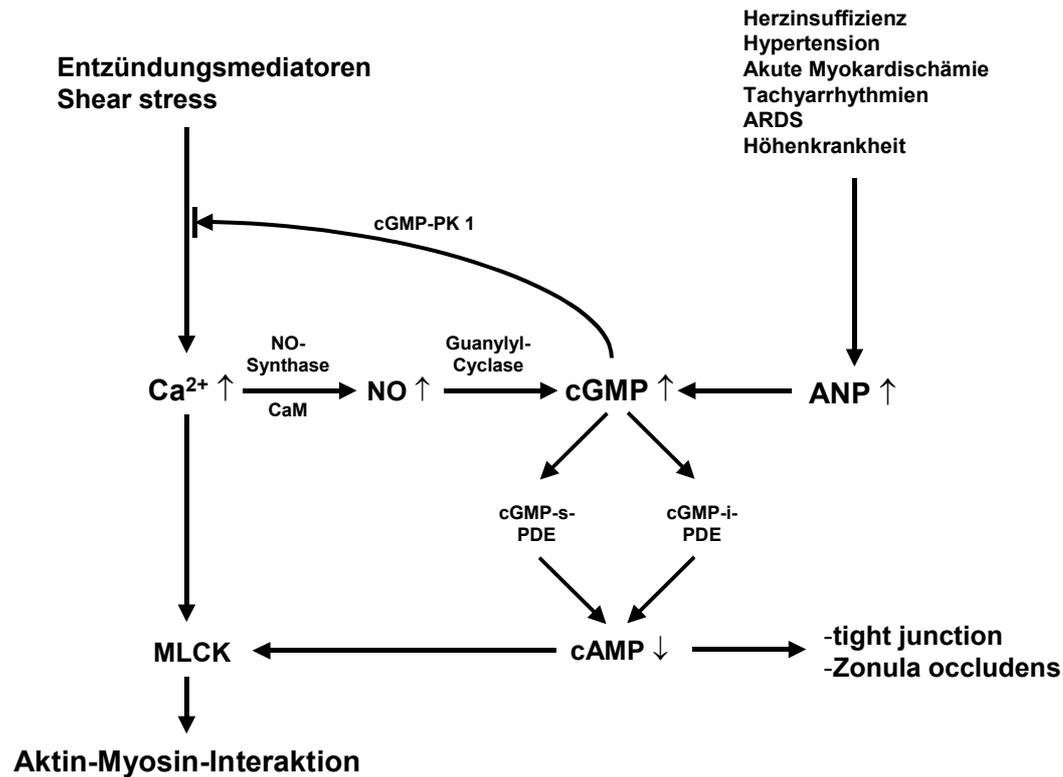


Abbildung 41: Potentielle Signalkaskade für eine erhöhte endotheliale Permeabilität

In diesem Flußdiagramm sind mögliche intrazelluläre Signalwege beschrieben, die zu einer erhöhten Permeabilität führen können. Dabei scheinen Ca^{2+} und cGMP eine überaus wichtige Rolle zu spielen. cGMP = zyklisches Guanylylmonophosphat; cAMP = zyklisches Adenolylymonophosphat; cGMP-s-PDE = durch cGMP stimulierte Phosphodiesterase; cGMP-i-PDE = durch cGMP inhibierte Phosphodiesterase; CaM = Calmodulin; MLCK = Myosinleichtketten-Kinase; cGMP-PK 1 = cGMP-Phosphokinase 1 (nach ¹⁰⁰)

4.2.4. Erhöhte Permeabilität am Herzen

1993 räumten Garcia-Dorado und Oliveras in einer Übersichtsarbeit dem kardialen Ödem erstmals einen hohen Stellenwert in der Pathologie des Ischämie/Reperfusionsschadens ein ⁴⁰. Die Autoren beschäftigen sich nicht nur mit dem intrazellulären Ödem der Kardiomyozyten, sondern auch mit dem interzellulären. Dieses interzelluläre Ödem entsteht hauptsächlich durch parazellulären Wasserzufluß zwischen den Endothelzellen. Dabei spielt der Verbund der Endothelzellen eine sehr wichtige Rolle, da diese durch ihre interzellulären Verbindungsstellen (gap-junctions, tight-junctions, adherens-junctions) die Barriere zu den nachliegenden Kardiomyozyten bilden ¹²⁴ und viele wichtige Pathomechanismen während Ischämie/Reperfusion, Inflammation und Volumenüberladung initiieren. Dies stellten auch Verrier und Boyle fest, die in einer Übersichtsarbeit dem Endothelschaden in der kardiovaskulären Chirurgie eine Schlüsselstellung einräumen ¹⁴⁹. Sie gehen dabei

sogar soweit zu behaupten, daß der Erfolg von Operationen in der Kardiochirurgie von der Unversehrtheit des Endothels abhängig ist. Somit ist die Beeinflussung der endothelialen Permeabilität durch Anästhetika nicht nur akademisch von Interesse, sondern auch klinisch.

4.3. Atriales natriuretisches Peptid (ANP)

4.3.1. Allgemein

ANP ist ein Hormon das bei Säugetieren ubiquitär vorkommt und der Gruppe der natriuretischen Prohormone zuzurechnen ist. Diese Gruppe umfasst drei Hormone: atriales natriuretisches Peptid (ANP), brain natriuretisches Peptid (BNP) und C-natriuretisches Peptid (CNP). ANP wird hauptsächlich in Kardiomyozyten des Atriums produziert, kann aber auch durch Nierengewebe ausgeschüttet werden ⁸⁵. Es gibt zudem Hinweise, daß auch andere Gewebe in der Lage sind, ANP zu synthetisieren ⁴². BNP wurde ursprünglich in Extrakten von Schweinehirn identifiziert, wird aber auch überwiegend vom Herzen (Ventrikelmyokard) freigegeben. CNP entstammt überwiegend dem zentralen Nervensystem, der Niere und Endothelzellen ⁸⁵.

Die Hauptwirkungen von ANP sind (Abbildung 42):

- Steigerung der Natriuresis
- Vasodilatation
- Steigerung der Endothelpermeabilität

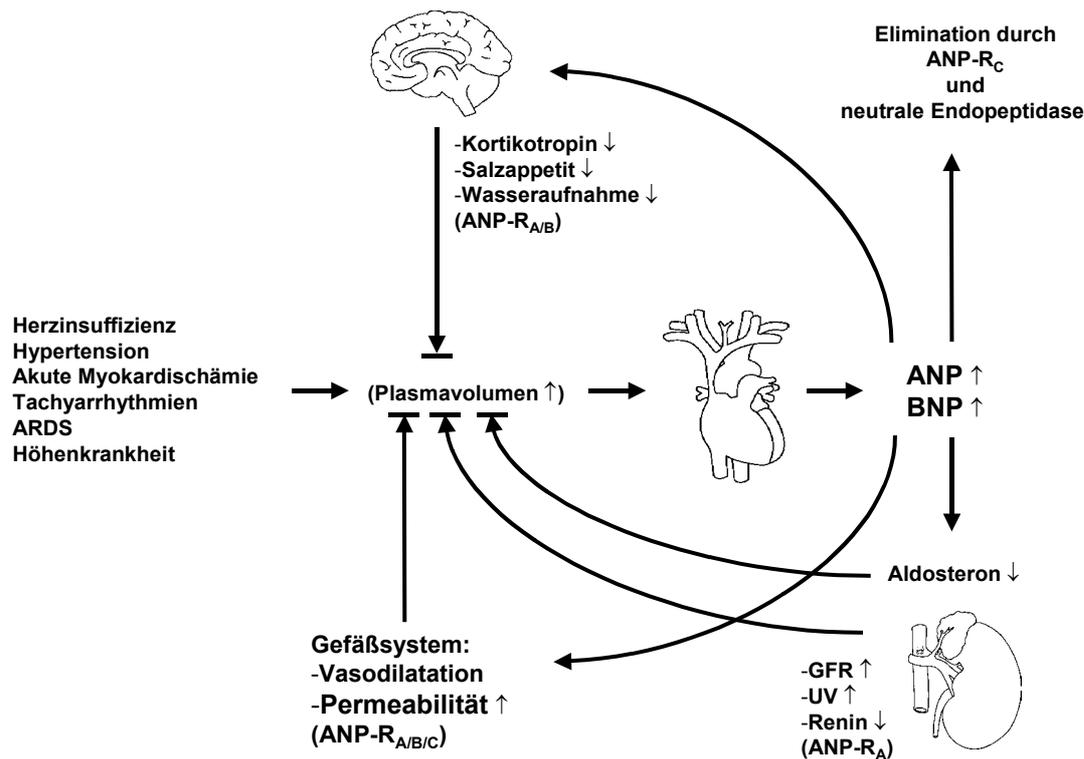


Abbildung 42: Regelkreis und Wirkungen der natriuretischen Peptide im Organismus

Darstellung der unterschiedlichen Wirkungen der natriuretischen Peptide im Organismus. $\text{ANP-R}_{A/B/C}$ steht für die entsprechenden Rezeptoren, GFR steht für die glomeruläre Filtrationsrate, UV bedeutet Urinvolumen (nach ⁸⁵).

ANP wird als Prohormon gebildet. Das Prohormon besteht beim Menschen aus 123 Aminosäuren. Dieses Prohormon wird zur Aktivierung gespalten. Dabei entsteht ein amidendiges (n-terminales) Fragment aus 98 Aminosäuren und der eigentlich aktive Hormonanteil, der 26 Aminosäuren umfasst. Der Hauptstimulus für die Freisetzung des Hormons ist dabei die gesteigerte Vorhofwandspannung, die ein erhöhtes intravasales Volumen reflektiert. Es gibt jedoch Hinweise, daß einige Neurotransmitter und Hormone die ANP-Ausschüttung direkt stimulieren können, wie z. B. Endothelin, Arginin, Vasopressin und Katecholamine ⁸⁵.

In pathophysiologischen Zuständen findet man erhöhte ANP-Plasmaspiegel, wenn eine erhöhte Volumenbelastung des Kreislaufes vorliegt, wie z. B. bei der kongestiven Herzinsuffizienz. Bei diesem Krankheitsbild können die Plasmaspiegel des ANPs, die normalerweise um die 100 pg/ml liegen, auf Werte über 1000 pg/ml ansteigen ⁵⁴.

ANP ist jedoch auch bei einer Vielzahl anderer Erkrankungen erhöht, die für den klinisch-anästhesiologischen Bereich von Bedeutung sind:

- essentielle arterielle Hypertonie ^{2;133}

- Phäochromocytom ^{150;151}
- Adipositas in Verbindung mit Hypertension ⁹⁴⁻⁹⁶
- zunehmende Volumenbelastung während der normalen Schwangerschaft ⁹⁸
- Bluthochdruck im Rahmen der Präeklampsie ⁹⁷
- kongestiver Herzinsuffizienz ^{26;54;164}

Bei der Herzinsuffizienz ist der ANP-Spiegel im Plasma nicht nur erhöht, die Höhe des ANPs korreliert auch mit dem Ausmaß der Insuffizienz und kann Hinweise auf die Prognose geben ^{26;164}. Die gleiche Aussage gilt für BNP.

Auch nach akutem Myokardinfarkt ist ANP erhöht, wobei der Anstieg relativ rasch erfolgt. Höchstwerte sind um den 3. Tag nach Infarzierung zu erwarten, der Rückgang auf Normalwerte erfolgt, solange keine Komplikationen wie Herzinsuffizienz oder Arrhythmien auftreten, um den 12. Tag ^{104;105}. Im Tierversuch korreliert dabei das Ausmaß der Schädigung mit dem Anstieg des ANP ¹. Ebenso sind nach transientser Ischämie am Herzen im Rahmen einer perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) ANP-Steigerungen im venösen Blut zu messen ⁴³.

Auch Änderungen der Herzfrequenz in Form von ventrikulären und supraventrikulären Tachykardien führen zu einer Erhöhung des ANP-Plasmaspiegels ^{24;25;103;123}. Ngo et al. konnten in einer 1989 veröffentlichten Arbeit zeigen, daß ANP ab einer Herzfrequenz von über 125 Schlägen/min proportional zur Herzfrequenz ausgeschüttet wird ¹⁰⁶.

Ebenfalls mit erhöhten ANP-Konzentrationen im Plasma ist die Hyperthyreose verbunden, dagegen sind die Plasmaspiegel im Rahmen einer Hypothyreose erniedrigt ^{74;153}.

Aber nicht nur bei Erkrankungen die in erster Linie das Herz-/Kreislaufsystem betreffen sind erhöhte ANP-Spiegel zu verzeichnen. Auch bei Lungenerkrankungen wie dem ARDS ^{34;138} oder der Höhenkrankheit und dem damit häufig verbundenen Lungenödem sind erhöhte ANP-Werte gemessen worden ^{6;21}.

4.3.2. Rezeptoren

Die genauen Rezeptor/Second Messenger-Kaskaden sind immer noch Gegenstand aktueller Forschungen und daher nur zum Teil verstanden. Es herrscht Einigkeit darüber, daß es drei verschiedene ANP Rezeptoren gibt, die ANP-Rezeptor A (ANP-R_A), ANP-Rezeptor B (ANP-R_B) und ANP-Rezeptor C (ANP-R_C) genannt werden. Wie in Abbildung 43 dargestellt, sind ANP-R_A und ANP-R_B an eine Guanylylcyclase

gekoppelt und bewirken dadurch eine intrazelluläre Erhöhung des cGMP-Spiegels. cGMP kann als „second-messenger“ die jeweiligen biologischen Effekte auslösen, entweder direkt, oder durch Zwischenschaltung weiterer Enzyme, wie z.B. cGMP-abhängige Kinasen oder Phosphodiesterasen (PDE) ^{52;85}. Die Erhöhung des cGMP ist wahrscheinlich der entscheidende Mechanismus für die Erhöhung der endothelialen Permeabilität ^{100;167}. Über ANP-R_C bewirkt das natriuretische Peptid eine Hemmung der Adenylylcyclase ⁵², was in einer Verringerung des intrazellulären cAMP-Spiegels Ausdruck findet. Dabei gibt es Hinweise darauf, daß sich cGMP und cAMP bezüglich der Permeabilität in Endothelzellen wie funktionelle Antagonisten verhalten ⁵³. Zusätzlich hemmt ANP über den ANP-R_C die Endothelin-Produktion und -Sekretion, wahrscheinlich auch vermittelt durch eine Hemmung der Adenylylcyclase ^{61;152}.

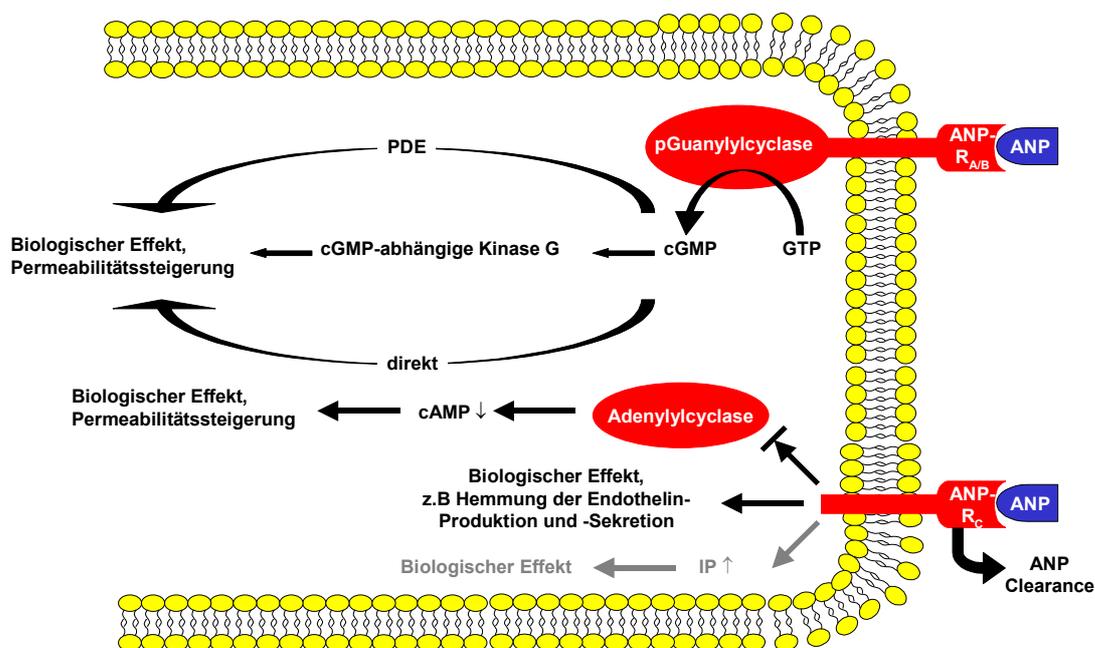


Abbildung 43: Intrazelluläre Signaltransduktionen der ANP-Rezeptoren

Darstellung der drei unterschiedlichen ANP-Rezeptoren ANP-R_a, ANP-R_b und ANP-R_c und ihrer wahrscheinlichen intrazellulären Signalkaskaden ^{52;85;167}.

4.3.3. Relevanz zu den Ergebnissen

In dieser Arbeit sind ANP-Konzentrationen von 0,3 – 3 nM verwendet worden. Dies entspricht bei einem angegebenen Molekulargewicht von 2550 einer Konzentration von 765-7650 pg/ml. Dieser Wert ist somit oberhalb der Normgrenze von 100 pg/ml

⁵⁴ und höher als der in Studien herangezogene Vergleichswert für physiologische Bedingungen ^{34;62}. Bei pathophysiologischen Veränderungen kann die ANP-Konzentration deutlich über 1000 pg/ml ansteigen ⁵⁴. Zudem bedarf es bei exogener Zufuhr von ANP grundsätzlich höherer Konzentrationen, um hormonelle Wirkungen feststellen zu können ⁵⁸. In unserem Modell wurden die applizierten Konzentrationen durch Vorversuche bestimmt. Dabei war das Ziel, einen Konzentrationsbereich zu finden, der sich nahezu ausschließlich auf die Permeabilität auswirkt, ohne daß dabei andere Wirkungen von ANP, wie z. B. Vasodilatation oder Potentialveränderungen des Herzreizleitungssystems die Endothelwirkung beeinflussen. Dies konnte mit dem gewählten Konzentrationsbereich erreicht werden, da keine Beeinflussung des Koronarflusses oder der Herzfrequenz durch ANP erfolgte (Abbildungen 7 und 8).

Einschränkend ist zu sagen, daß in dieser Arbeit ANP der Ratte verwendet wurde. Dennoch konnte in unserem Versuchsaufbau mit ANP ein stabiles Setting erreicht werden, in dem die funktionellen Herzparameter nicht beeinflusst wurden und dennoch ein Effekt am Endothel erzielt wurde. Zusätzlich konnte im postischämischen Teil durch die Wirkung der erneut ansteigenden ANP-Konzentrationen gezeigt werden, daß das Endothel nach 10-minütiger Ischämie immer noch vital war und eine rezeptorvermittelte Antwort auf ein Peptid vermitteln konnte.

4.4. Ischämie und Reperfusionsschaden

4.4.1. Pathophysiologie

Ischämie und Reperfusion sind zwei Entitäten für Schädigungen, die sich zwar zeitlich trennen lassen, aber im pathophysiologischen Prozeß eng miteinander verwoben sind. Die neuere Literatur trennt die beiden Begriffe immer noch streng, weist aber auch auf die pathophysiologische Verkettung beider Prozesse hin ⁴. In dieser Arbeit wird auf eine getrennte Betrachtung verzichtet. Die Folgen einer Ischämie/Reperfusion am Myokard sind im klinischen Alltag präsent und lassen sich auch in unterschiedlichen Versuchsmodellen eindrücklich belegen:

- Arrhythmien
- Myokardiales Stunning
- Temporäres low output Syndrom
- Mikrovaskuläre Schäden („no-reflow“, „vascular leak“)
- Interstitielles Ödem

- Infarzierung/Nekrosen, die sich sowohl in EKG-Veränderungen, als auch in bleibenden Wandbewegungsstörungen äußern können.

4.4.2. Ischämie/Reperfusionsschaden durch Ca^{2+} -Überladung

Bei der Vermittlung des Ischämie/Reperfusionsschadens spielt die Kardiomyozyten-Kontraktur in den ersten Minuten der Reperfusion eine wichtige Rolle für spätere nekrotische Schäden ¹¹³. Diese Kontraktur entsteht durch eine massive Ca^{2+} -Überladung der Myozyten. Dabei ist das erste schädigende Korrelat einer Ischämie die Verringerung von Sauerstoff, der auf zellulärer Ebene für die oxidative Phosphorylierung benötigt wird. Dadurch ist die Zelle gezwungen, auf anaerobe Glykolyse umzustellen, um ihren Energiebedarf zu decken, was zu einer Akkumulation von Laktat und Wasserstoffionen (H^+) und damit zur Gewebsazidose führt. Dies bedingt über Transportproteine eine Erhöhung der intrazellulären Na^+ -Konzentration (Na^+/H^+ -Austauscher, $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -Symporter). Durch die Verschiebung des Na^+ -Gefälles und die Membrandepolarisation wird der $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher, der normalerweise Ca^{2+} aus der Zelle und Na^+ in die Zelle transportiert, auf den sogenannten „Reverse“-Mode umgeschaltet. Na^+ wird aus der Zelle hinausgeschleust, dadurch erhöht sich die Ca^{2+} -Konzentration intrazellulär, es entsteht eine Ca^{2+} -Überladung. Mit der Reperfusion setzt eine Reoxygenierung ein und damit verbunden die Möglichkeit, energiereiche Verbindungen wie ATP mit oxidativer Phosphorylierung zur Verfügung zu stellen. Dadurch kann der ATP-abhängige Na^+/K^+ -Austauscher den physiologischen Na^+ -Gradienten wiederherstellen. Dabei ist es möglich, daß der $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher verzögert in den „Forward“-Mode umstellt und sich die Ca^{2+} -Konzentration noch weiter erhöht. Das sarkoplasmatische Retikulum, das auch ATP-abhängig ist, kann mit Einsetzen der Reoxygenierung wieder Ca^{2+} aufnehmen. Aufgrund des Ca^{2+} -Überschusses kommt es aber zu einer Überforderung des energieliefernden Systems und Ca^{2+} wird wieder freigesetzt, was zu einer unkontrollierten myofibrillären Aktivierung führt, die sich schließlich in einer Kontraktur äußert ¹¹³. Diese zelluläre Kontraktur ist der mikroskopische Ausdruck des Stunnings und kann zu elektronenmikroskopisch-sichtbaren Läsionen der Zellen führen, die in einer Nekrose oder Apoptose ihren Ausgang findet.

4.4.3. Ischämie/Reperfusionsschaden durch Radikale

Neben der Kalziumüberladung der Zellen und der damit verbundenen Kontraktur gibt es einen weiteren postulierten Schädigungsmechanismus nach Ischämie/Reperfusion, der eventuell sogar mit dem Kalziumweg in Verbindung steht:

Durch Ischämie und Reperfusion entstehen aus molekularem Sauerstoff sogenannte reaktive Sauerstoffspezies (ROS), wie Superoxid-Anion ($\bullet\text{O}_2^-$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Hydroxyl-Radikal ($\bullet\text{OH}$), welche das umgebende Gewebe schädigen können und am daraus resultierenden Stunning beteiligt sind^{48;49}. Diese Radikale entstehen in fast allen biologischen Systemen⁴⁴, unter anderem auch in Endothelzellen¹⁷². Dabei kann $\bullet\text{O}_2^-$ weiter mit dem freien Radikal von Stickstoffmonoxid ($\bullet\text{NO}$) zu Peroxynitrit (ONOO^-) reagieren:



Diese Verbindung stellt ein starkes Oxidans dar und kann mit einer Reihe von Molekülen reagieren und so die Zellfunktion beeinflussen⁴. Inwieweit diese oxidativen Radikale am myokardialen Stunning und weiterer Schädigung durch Beeinflussung bestimmter Zielproteine beteiligt sind, läßt sich zur Zeit noch nicht genau definieren. In vitro-Studien konnten auf zellulärer Ebene sowohl die Koppelung zwischen Exzitation und Kontraktion, als auch den Kontraktionsapparat als Ziel der Schädigung identifizieren^{12;39}.

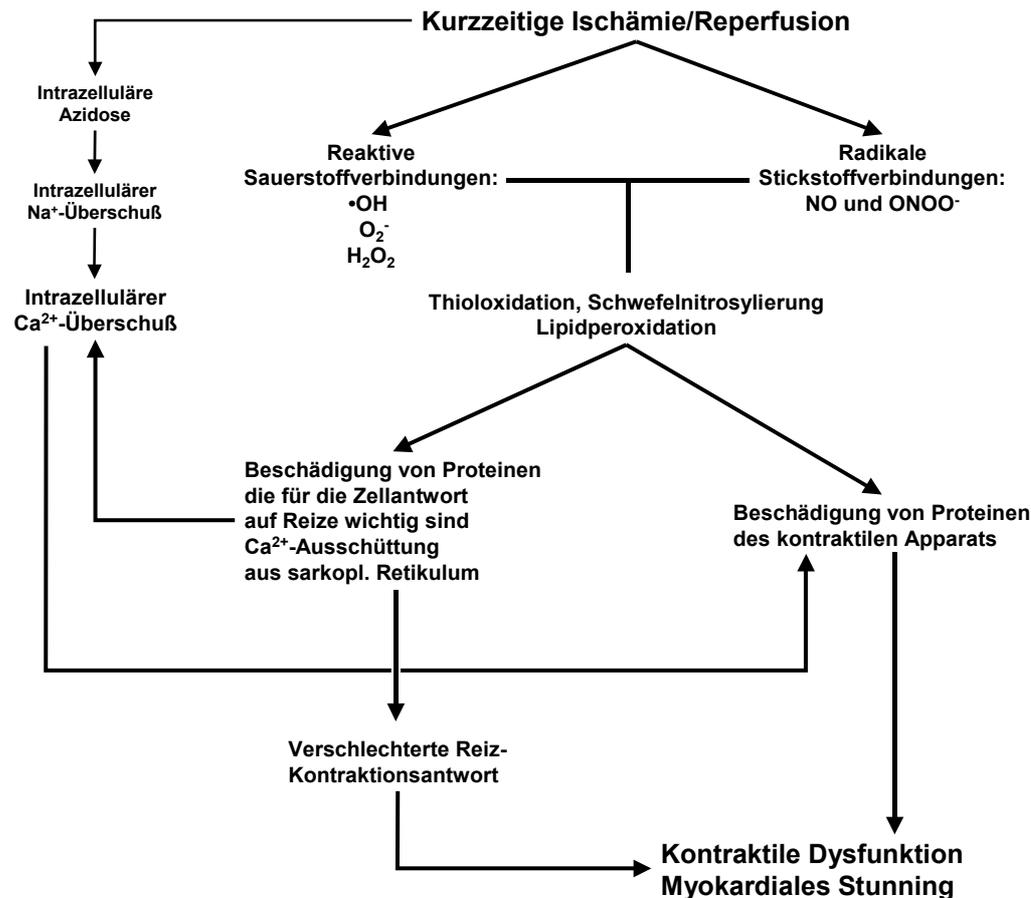


Abbildung 44: Schädigungsmechanismen bei Ischämie/Reperfusion

Dieses Flußdiagramm zeigt die unterschiedlichen Schädigungsmöglichkeiten der Kalzium- und Sauerstoffradikal-Theorie beim Ischämie/Reperfusionsschaden⁴

4.4.4. Schädigung des Endothels durch Ischämie/Reperfusion

Auch das koronare Endothel wird durch Ischämie/Reperfusion geschädigt und stellt im Hinblick auf zahlreiche Folgen den primären Schädigungsort dar^{84;113}:

- Permeabilitätserhöhung¹¹³
- Mikrostroming mit low- oder no-flow Phänomenen¹³
- verminderte Produktion von Stickstoffmonoxid
- eingeschränkte endotheliale Antwort auf Vasodilatoren^{78;148}
- Expression von Oberflächenmolekülen, die die Neutrophilenadhäsion begünstigen, wie z. B. ICAM-1^{79;169}

Für das Endothel ist zu beachten, daß es den Gefäßtonus reguliert und für die nutritive Versorgung des Organs von großer Bedeutung ist. Zusätzlich bildet es eine Bar-

riere zwischen Intra- und Extravasalraum und dient so der Integritätserhaltung des Organs. Somit ist auch eine Schädigung des Endothels mit weitreichenden Konsequenzen für das betroffene Organ verbunden.

Im Jahr 1982 wurde durch Ku erstmals gezeigt, daß eine 90-minütige Ischämie in Verbindung mit einer ein- bis zweistündigen Reperfusion, eine endotheliale Dysfunktion zur Folge hat, die sich in einem verminderten Ansprechen auf Thrombin äußert, das in niedriger Dosierung ein endothelabhängiger Vasodilatator ist⁷⁸. Dies ließ sich auch mit anderen endothelabhängigen Vasodilatoren bestätigen¹⁴⁸. Neben dieser funktionellen Beeinträchtigung des Endothels konnten auch strukturelle Läsionen elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden. Dagegen konnte gezeigt werden, daß die endothelunabhängige Vasodilatation mittels eines NO-Donors durch Ischämie/Reperfusion nicht beeinflusst wird^{84;143;144}. Daraus ist zu schließen, daß die Beeinträchtigung der vasalen Tonusregulierung auf der Ebene des Endothels gestört ist. Diese akute endotheliale Dysfunktion ist dabei eine Konsequenz einer strukturellen Schädigung der Endothelzellen, mit daraus resultierender Verminderung der NO-Produktion⁸⁴, wobei die strukturelle Schädigung in der Histologie nicht unbedingt zu sehen sein muß^{114;143}.

Nicht nur die funktionelle Reaktion von Endothelzellen auf Vasodilatoren wird durch Ischämie/Reperfusion gestört. Auch die Zell-Zell-Kommunikation mittels gap- und tight junctions, sowie Zonae occludens wird beeinflusst und damit verbunden, der ganze Organverband^{30;142;159}. Für dieses Phänomen scheint es unterschiedliche Ursachen zu geben:

- Erhöhung der (intra- und extrazellulären) Gewebsosmolalität durch metabolische Endprodukte der anaeroben Glykolyse^{65;115;131;142}
- Ersetzen der hyperosmotischen intravasalen Flüssigkeit (bestehend aus anaeroben Stoffwechselprodukten aus der Ischämiephase) durch normosmotische in der frühen Reperfusion. Dadurch entsteht ein osmotischer Gradient mit Verschiebung von freier Flüssigkeit ins Interstitium, bzw. in die hyperosmotischen Zellen^{16;41;65;142}
- Erhöhung der mikrovaskulären Permeabilität durch Retraktion von Endothelzellen, bedingt durch intrazelluläre Ca^{2+} -Akkumulation^{27;29;112;125;140}.

Das endotheliale Ödem hat deutliche Auswirkungen auf die weitere Entwicklung des geschädigten Gewebes (Wiederherstellung, Nekrose, Apoptose) und spielt somit eine entscheidende Rolle. Garcia-Dorado und Oliveras haben in einer Übersichtsarbeit

mögliche Folgen für das Herz aufgeführt, die sich aus einem ischämie/reperfusionbedingten Ödem ergeben können ⁴⁰:

- Zellnekrosen
- Kontraktile Dysfunktion
- Arrhythmien
- Beeinträchtigung des Remodelling

4.5. Acetylcholin, muskarinerge Rezeptoren und deren Antagonisten

4.5.1.1. Physiologie

Acetylcholin ist eine Substanz, die seit Anfang des 20. Jahrhunderts bekannt ist. Sie spielt eine wichtige Rolle als Neurotransmitter im zentralen Nervensystem, bei der Vermittlung von Reizen im vegetativen Nervensystem und als parakriner und autokriner Botenstoff. Dabei scheint Acetylcholin eine phylogenetisch sehr alte Substanz zu sein, da sie sowohl in Pflanzen, Insekten, Amphibien und Säugetieren vorkommt und an einer Reihe wichtiger Steueraufgaben im gesamten Organismus beteiligt ist ¹⁶⁰.

Furchgott und Zawadzki konnten 1980 zeigen, daß Acetylcholin über einen endothelabhängigen Mechanismus eine Vasodilatation hervorruft ³⁸. Dabei ist die Unversehrtheit des Endothels von größter Bedeutung. Die damals noch unbekannt Substanz, die diese Vasodilatation vermittelte, wurde als „endothelial dependent relaxing factor“ (EDRF) bezeichnet. 1987 konnten zwei unterschiedliche Gruppen zeigen, daß sich hinter der bis dato unbekannt Substanz EDRF die Molekülverbindung Stickstoffmonoxid (NO) verbirgt ^{63;108}.

Die muskarinergen Rezeptoren und ihre Signalkaskaden waren in den letzten 20 Jahren immer wieder Gegenstand der Forschung und obwohl sich heute noch kein vollständiges Bild zeigt, sind die Grundzüge der Rezeptorwege bekannt. So können die Rezeptoren in fünf Untereinheiten aufgeschlüsselt werden. Dabei kann zwischen der genetischen Codierung (m_1 - m_5) und der pharmakologischen Klassifizierung auf der Zielzelle (M_1 - M_5) unterschieden werden. Es konnte gezeigt werden, daß die genetische Klassifizierung mit der pharmakologischen übereinstimmt und somit eine Unterscheidung in Groß- und Kleinbuchstaben unter normalen Umständen nicht mehr nötig ist ¹⁷.

4.5.2. Rezeptoren

Alle fünf Rezeptorsubtypen sind Mitglieder der G-Protein gekoppelten Rezeptorfamilie und weisen eine siebenfach-transmembrane Helix auf. Dabei sind die Untereinheiten der jeweiligen Rezeptoren über die Spezies sehr ähnlich, und auch die pharmakologischen Effekte bei verschiedensten Spezies können nicht signifikant unterschieden werden ¹⁷. Dennoch scheint die Rezeptoraktivierung und Antagonisierung um ein Vielfaches komplizierter als in der Abbildung 44 schematisch dargestellt. Die siebenfach-transmembrane Helix weist mehrere Taschen auf, die potentielle Bindungsstellen für Agonisten und Antagonisten sein können. Nach erfolgter Besetzung einer Bindungsstelle erfährt der Rezeptor eine allosterische Veränderung, die zu einer Aktivierung einer Signalkaskade führt. Dabei sind die Bindungsorte für den physiologischen (in diesem Fall Acetylcholin) und den pharmakologischen Agonisten und Antagonisten nicht zwangsläufig die selben. Die Besetzung eines Bindungsortes durch einen partiellen Agonisten kann auch zu einer Affinitätserhöhung für den physiologischen Agonisten führen. Dies ist aber für jeden Rezeptoruntertypen unterschiedlich ¹⁴⁷.

Die fünf Rezeptoren können aufgrund ihrer Signalkaskaden in zwei unterschiedliche Gruppen aufgeteilt werden:

- M₁, M₃ und M₅
- M₂ und M₄

Die Untereinheiten mit den ungeraden Zahlen sind dabei mit einem G_{q/11}-Protein gekoppelt, welches die Phospholipase C aktiviert. Dies führt über eine Inositoltrisphosphat-Bildung (IP3) zu einer intrazellulären Ca²⁺-Erhöhung aus dem endoplasmatischen Retikulum (oder auch aus dem Extrazellularraum), sowie zu einer Diacylglycerol-vermittelten Aktivierung der Proteinkinase C ^{10;11;33;60}. Die intrazelluläre Ca²⁺-Erhöhung führt in der Endothelzelle zu einer Aktivierung von Calmodulin, welches sich an die inaktive, an der Zellmembran gebundene eNOS bindet und somit eine Ablösung bewirkt. Dies führt zu einer Translokation und Aktivierung der eNOS. Inaktivierung der eNOS erfolgt durch eine Phosphorylierung durch die Proteinkinase A (PKA) und damit verbunden, eine erneute Anbindung an die Zellmembran ^{3;45;166}. Das von der aktiven eNOS produzierte NO kann oben beschriebene Wirkungen des Acetylcholins auf die Endothelzelle, aber auch auf die benachbarten glatten Muskelzellen und andere Zellen vermitteln. Dies ist unter anderem über eine Aktivierung der

Guanylylcyclase und eine Erhöhung der cGMP-Konzentration möglich (Abbildung 45).

Die Untereinheiten mit den geraden Nummern sind mit einem G_i -Protein gekoppelt und hemmen die Adenylylcyclase. Zusätzlich kann ein G-Protein-gekoppelter K^+ -Kanal durch M_2 - und M_4 -Rezeptoren aktiviert werden. Dies führt zu einer Hyperpolarisierung der Zelle ^{10;11;33;60}. Es konnte aber in einer Arbeit von Waid et al. gezeigt werden, daß die beiden Untereinheiten M_2 und M_4 auch eNOS aktivieren, was sich an einer erhöhten cGMP-Konzentration, produziert durch sogenannte Detektorzellen, nachweisen läßt. Ebenso konnte ein erhöhter intrazellulärer Ca^{2+} -Wert gemessen werden. Die Signalkaskaden die zu dieser Aktivierung führen sind unklar ¹⁵⁶.

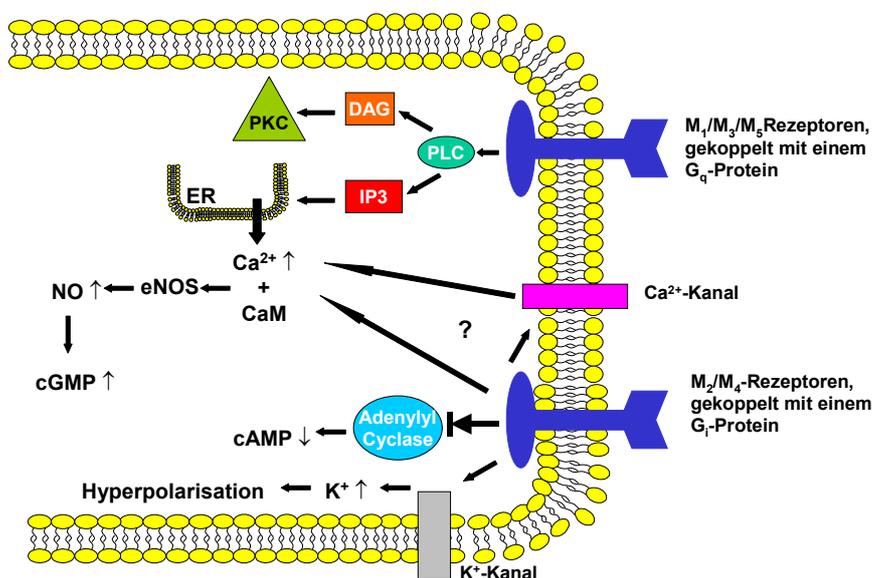


Abbildung 45: Intrazelluläre Signaltransduktionen der muskarinergen Rezeptoren

Dargestellt sind die unterschiedlichen Signalkaskaden der geraden und ungeraden muskarinergen Rezeptoren. Dabei wird durch die ungeraden Rezeptoren eine Aktivierung der eNOS und damit verbunden eine cGMP-Erhöhung vermittelt. Dies scheint aber trotz differenter Kaskaden auch für die gerade nummerierten Rezeptoren über noch unbekannte Schritte möglich zu sein ¹⁵⁶.

4.5.3. Wirkung

Die Wirkung des physiologischen muskarinergen Agonisten Acetylcholin ist von Gewebe zu Gewebe unterschiedlich und kann hier nicht in allen Einzelheiten aufgeführt werden. Zusätzlich sind noch Spezies-abhängige Unterschiede in der jeweiligen Wirkung an bestimmten Geweben oder Organsystemen festgestellt worden ¹⁷⁰. Im Koronarbett ist es anerkannt, daß Acetylcholin eine endothelabhängige Vasodilatation

verursacht. Bei Abwesenheit eines intakten Endothels verursacht Acetylcholin dagegen eine Vasokonstriktion³⁸. Am Herzen verursacht Acetylcholin als der Neurotransmitter des Parasympatikus negative Inotropie und negative Chronotropie.

4.5.4. Relevanz in dieser Arbeit

Da muskarinerge Rezeptoren und ihre Agonisten auch einen Einfluß auf die Permeabilität haben könnten, wurde in diesem Modell versucht, die AcetylcholinKonzentration so zu wählen, daß die funktionellen Herzparameter nicht relevant beeinflusst werden und somit nahezu nur ein Effekt am Endothel des Koronarsystems erzeugt wird. Bei allen verwendeten Konzentrationen konnte in der Tat eine Vasodilatation gemessen werden. Um eine Wirkung am Reizleitungssystem von einer endothelialen Wirkung und deren Folgen abzugrenzen, wurde auf Rhythmusstörungen geachtet. Hierbei stellte sich der Konzentrationsanstieg von 100 auf 300 nM als Schwelle heraus: Ab einer Konzentration von 100 nM ließ sich ein Frequenzanstieg feststellen (Abbildung 37 und 38). Dies wäre für Acetylcholin ein ungewöhnlicher Effekt, da es bekanntermaßen negativ chronotrop wirkt. Allerdings steigt bei dieser Konzentration auch der Koronarfluß stark an. Dies führt zu einer vermehrten Volumenbelastung des rechten Vorhofs (siehe Abbildung 1) und steigert die Temperatur des Präparates. Beide Veränderungen induzieren indirekt eine Frequenzerhöhung im isolierten Herzen. Somit ist bei dieser Konzentration ein negativ-chronotroper Effekt von Acetylcholin entweder durch den kompensatorischen Frequenzanstieg überdeckt, oder noch nicht vorhanden. Bei den niedrigeren Konzentrationen (10-30 nM Acetylcholin) ist der Endothelial-vermittelte Koronarflußanstieg geringer, die Frequenz wird dadurch noch nicht beeinflusst.

Die Permeabilität wird durch Acetylcholin, wie auch durch ANP, gesteigert (Abbildung 34). Die Permeabilitätssteigerung wird nicht durch den erhöhten Koronarfluß ausgelöst, da keine Korrelation zwischen Koronarfluß und Transsudatfluß nachgewiesen werden konnte. Vielmehr könnte die Permeabilitätserhöhung - wie bei ANP - eine Folge der intrazellulären cGMP-Erhöhung sein.

4.6. Thiopental

4.6.1. Wirkung und Pharmakokinetik

Thiopental ist ein lange bekanntes intravenöses Anästhetikum, das Anfang des 20. Jahrhunderts in den klinischen Alltag Einzug hielt ¹⁴⁶. Es handelt sich hierbei um ein klassisches Barbiturat, welches seine rein hypnotische Wirkung über GABA-Rezeptoren erzielt. Als Nebenwirkung im kardiovaskulären System sind Blutdruckabfälle, eine Verminderung der Kontraktilität des Herzmuskels und des Kalziumflusses beschrieben ^{37;71;122}. Der Koronarfluß wird von Thiopental in klinischen Konzentrationen nicht oder nur geringfügig beeinflusst ^{102;132}. Die Verminderung der kardialen Kontraktilität wird möglicherweise durch das endokardiale Endothel vermittelt ⁹.

Die klinische Plasmakonzentration für eine Narkoseeinleitung mit Thiopental liegt zwischen 5-20 µg/ml. Dabei ist zu bedenken, daß davon ca. 85 % an Eiweiß gebunden ist und somit die effektive Wirkkonzentration nur 0,75-3 µg/ml beträgt ⁵¹. Somit liegt die in dieser Arbeit verwendete Konzentration von 2 µg/ml genau im klinischen Bereich, da aufgrund des kristalloiden Perfusates keine Bindung an Proteine möglich ist.

4.6.2. Wirkung auf die Permeabilität

In unserem Modell konnte unter präischämischen Bedingungen kein Einfluß von Thiopental auf die ANP-induzierte Permeabilitätssteigerung festgestellt werden. In der Literatur ist der Einfluß von Thiopental auf das Endothel unter pathophysiologischen Zuständen nicht untersucht. Somit kann gefolgert werden, daß Thiopental unter den vorliegenden präischämischen Bedingungen keinen Einfluß auf die Permeabilität des durch ANP aktivierten Endothels im Koronarsystem hat.

Auch in der postischämischen Reperfusionphase (in Anwesenheit von ANP) hatte Thiopental keine Auswirkungen auf die Permeabilität. Es bestand zwar der Trend, daß Thiopental die Permeabilität im Vergleich zur Kontrollgruppe in der Reperfusionphase vermindert, dies erwies sich aber als nicht signifikant. Somit ist davon auszugehen, daß Thiopental unter den gegebenen Versuchsbedingungen keinen Einfluß auf das Endothel hat. Ruigrok et al. haben die Wirkung von Thiopental auf die Creatinkinase-Freisetzung (CK) nach totaler Ischämie (90 min), hypoxischer Perfusion und low-flow-Ischämie untersucht ¹²¹. Dabei konnte bei der totalen Ischämie kein po-

sitiver Effekt durch Thiopental gezeigt werden. In den beiden anderen Modellen (hypoxische Perfusion und low-flow-Ischämie) wurde die CK-Freisetzung durch das Barbiturat signifikant gesenkt. In unserem Modell wurden keine biochemischen Herzmarker bestimmt, so daß wir über die Herzschädigung auf Kardiomyozytenebene keine Aussage treffen können. In der Arbeit von Ruigrok et al. wurde eine deutliche Zellschwellung nach Ischämie und Reperfusion nachgewiesen. In unserem Modell konnte bezüglich der globalen Ödemfraktion kein Unterschied zur Kontrollgruppe festgestellt werden. Die Ischämiedauer ist allerdings in der Arbeit von Ruigrok et al. deutlich länger als in unserem Modell und deshalb nicht zwingend vergleichbar. Wir haben in unserem Modell bewußt eine kürzere Ischämiedauer gewählt, da dies ein Überleben des Myokards garantiert, aber dennoch funktionelle Beeinträchtigungen feststellbar sind.

Fischer et al. konnten einen permeabilitätssenkenden Effekt von Thiopental auf hypoxisches Endothel von Hirngefäßen in einem Zellmodell zeigen³⁵. Die Diskrepanz zu unseren Ergebnissen ergibt sich dabei wahrscheinlich aus der hohen Konzentration für Thiopental (50 µg/ml), die in den Versuchen der zitierten Arbeit verwendet wurde. Außerdem läßt sich nicht ausschließen, daß Endothelzellen unterschiedlicher Herkunft auf Stimuli unterschiedlich reagieren. Noch dazu ist bekannt, daß Endothelzellen außerhalb ihres Organverbandes anders auf bestimmte Substanzen reagieren, als im Organverband¹⁰⁰. In unserem Labor konnte bereits gezeigt werden, daß Thiopental die Neutrophilenadhäsion an das Endothel sowohl unter basalen, als auch unter Reperfusionsbedingungen verringert¹³⁷. Dies ist im in-vivo-Modell für die Integrität des Endothels von großer Bedeutung, da die Adhäsion und Migration der Neutrophilen einen großen Anteil am Reperfusionsschaden beitragen. Ein direkter Einfluß auf die Permeabilität des Endothels prä- und postischämisch kann aber in unserem Modell ausgeschlossen werden.

4.6.3. Koronarfluß und Herzfrequenz

Der Koronarfluß in der präischämischen Phase wird in unserem Modell durch das Barbiturat nicht beeinflusst. Es ist zwar eine blutdrucksenkende Wirkung für Thiopental bekannt, doch ist diese hauptsächlich auf einen negativ-inotropen Mechanismus zurückzuführen, nicht auf einen direkt vasodilatativen^{37;71;102;122;132}. Postischämisch kommt es in der Thiopentalgruppe nur zu einem kurzzeitigen, nicht signifikanten Koronarflußanstieg.

Bezüglich der Herzfrequenz läßt sich zwischen Kontrolle und Versuchsgruppe während des ganzen Protokolles kein signifikanter Unterschied messen. Süzer et al. konnten am Rattenherz auch nach einer 30-minütigen globalen Ischämie keinen Einfluß durch Thiopental auf die Herzfrequenz finden ¹³⁴. Dies wird gestützt durch eine Arbeit um Stowe, die eine Beeinflussung der Elektrophysiologie am isolierten Meer-schweinherzen erst ab einer Konzentration von über 100 µM für Thiopental feststellen konnten, allerdings ohne Ischämie ¹³².

Zusammenfassend läßt sich somit für Thiopental sagen, daß in unserem Modell kein signifikanter Einfluß auf die Permeabilität festgestellt werden kann, noch werden die funktionellen Herzparameter durch das Barbiturat im Vergleich zur Kontrollgruppe verändert.

4.7. Ketamin

4.7.1. Wirkung und Pharmakokinetik

Ketamin ist ein 1:1 Razement aus S(+)- und R(-)-Ketamin und wurde Ende der sechziger Jahre in den klinischen Gebrauch eingeführt ¹⁴⁶. Es wirkt hypnotisch und analgetisch über nichtkompetitive Blockade von zentralnervösen Glutamatrezeptoren und löst im Gegensatz zu den Opiaten keine Atemdepression aus, weshalb es in der Notfallmedizin weite Verbreitung findet. Aus dem klinischen Alltag der operativen Anästhesie ist es, bis auf spezielle Indikationsstellungen, aufgrund seines Nebenwirkungsprofiles (dissoziative Anästhesie, Speichelfluß) weitgehend verschwunden. Als weitere Nebenwirkung ist eine sympathomimetische Wirkung mit Blutdruck- und Frequenzanstieg beschrieben ¹¹⁹. Die Plasmakonzentration für eine Anästhesie beträgt 0,5-2,5 µg/ml, wobei bei diesem Hypnotikum nur 12 Prozent proteingebunden sind ⁵¹. Somit ist unsere gewählte Konzentration von 2,4 µg/ml im wirksamen klinischen Bereich. Am Herzen zeichnet es sich durch eine indirekte sympathomimetische Wirkung aus ^{141;171}. Direkte Effekte in klinischen Dosen am isolierten Herzen sind diskret positiv inotrop, wobei auch negativ inotrope Effekte beschrieben sind ^{130;132}. Der Koronarfluß wird durch Ketamin nur unwesentlich verringert und die Herzfrequenz bleibt weitgehend stabil ^{132;135}.

4.7.2. Wirkung auf die Permeabilität

Präischämisch konnte in unserem Modell kein signifikanter Einfluß auf die ANP-induzierte Permeabilität gefunden werden, auch wenn die durchschnittlichen Transsudatflußwerte in der Ketamingruppe höher waren. In der Literatur gibt es keine uns bekannten Untersuchungen, die sich explizit mit dem Einfluß von Ketamin auf die endotheliale Permeabilität beschäftigt haben.

Auch postischämisch konnte kein signifikanter Einfluß auf die Permeabilität gezeigt werden, dennoch bleiben die Durchschnittswerte in der Versuchsgruppe erhöht. Szekely et al. konnten an isolierten Meerschweinherzen zeigen, daß die beiden Stereoisomere den Reperfusionsschaden unterschiedlich beeinflussen. Dabei hat insbesondere S(+)-Ketamin einen hemmenden Effekt auf die Adhäsion von Neutrophilen^{136;137} und konnte dadurch den Reperfusionsschaden günstig beeinflussen. R(-)-Ketamin dagegen erhöhte die Permeabilität¹³⁶. Szekely et al. untersuchten allerdings nicht, ob diese Permeabilitätsänderung hauptsächlich auf die Anwesenheit der Neutrophilen zurückzuführen ist, oder auch ein direkter Effekt des Anästhetikums auf das Endothel vorliegt. In unserem Modell konnte durch Ketaminrazemat kein signifikanter Effekt auf die endotheliale Permeabilität gezeigt werden. Diese Beobachtung wird auch durch die Ödemfraktion in der Ketamingruppe gestützt, die sich nicht von der der Kontrollgruppe unterschied.

4.7.3. Koronarfluß und Herzfrequenz

Für den Koronarfluß konnten wir weder prä-, noch postischämisch einen Einfluß von Ketamin finden. Auch die Herzfrequenz wird in unserem Modell durch das Anästhetikum nicht verändert. Diese Ergebnisse decken sich mit den von Stowe et al. publizierten Beobachtungen¹³².

Somit läßt sich feststellen, daß Ketamin in unserem Modell keinen Einfluß auf die Permeabilität und die funktionellen Herzparameter besitzt.

4.8. Sevofluran

4.8.1. Wirkung und Pharmakokinetik

Sevofluran ist ein volatiles Anästhetikum, das seit Anfang der neunziger Jahre klinisch weit verbreitet ist¹⁴⁶. Es zeichnet sich durch eine gute Steuerbarkeit aus^{88;157}.

Der Mechanismus für die hypnotische Wirkung von Sevofluran bleibt, wie für alle volatilen Anästhetika weiter unklar¹⁰¹. Für das kardiovaskuläre System sind negative Inotropie, periphere Vasodilatation mit Verringerung des systemischen Blutdruckes, (reaktiver) Frequenzanstieg und Erhöhung des Koronarflusses beschrieben^{8;19;47}. Die minimale alveoläre Konzentration (MAC) beträgt beim Menschen 1,71 +/- 0,07 Vol.% und kann durch Zuführung von Lachgas auf 0,66 +/- 0,06 Vol.% gesenkt werden⁷⁰. Da volatile Anästhetika keine Proteinbindung aufweisen, spielt das Fehlen von Blut- und Eiweißbestandteilen in unserem Modell eine untergeordnete Rolle. Für diese Arbeit wurde Sevofluran in einer Volumenkonzentration von 1 Vol.% zugeführt. Dies entspricht beim Menschen einem MAC von 0,56 und ist somit in einem Bereich, wie er z. B. während einer balancierten Narkose mit einem stark wirksamen Opiat zu finden ist.

4.8.2. Wirkung auf die Permeabilität

Die Arbeitsgruppe um Christ konnte in einer 2002 veröffentlichten in-vivo-Arbeit zeigen, daß der Flüssigkeitsaustritt vom Gefäßbett ins umliegende Gewebe unter Anästhesiebedingungen mit Sevofluran signifikant geringer ausfiel als mit Propofol¹⁴. Somit konnte ein Vorteil für Sevofluran gegenüber Propofol gezeigt werden. Liu et al. veröffentlichten im Jahr 2000 eine Arbeit über Ischämie/Reperfusionsschaden an isolierten Rattenlungen⁸⁶. Dort wurde festgestellt, daß Sevofluran in einer Konzentration von 1 MAC einen positiven Effekt auf die durch Ischämie/Reperfusion ausgelöste Permeabilität aufweist. Als Mechanismus wird dabei eine Supprimierung der TNF α -Ausschüttung diskutiert. In unserer Arbeit konnte unter präischämischen ebenso wenig wie unter postischämischen Bedingungen ein Einfluß durch das volatile Anästhetikum auf die ANP-induzierte Permeabilität festgestellt werden. Auch die Ödemfraktion wurde im Vergleich zur Kontrolle durch das volatile Anästhetikum nicht verringert. TNF α wurde in unserem Modell nicht gemessen, so daß wir über diesen Effekt keine Aussage treffen können.

Mögliche Erklärungen für die unterschiedlichen Ergebnisse wären der Unterschied im Organmodell und damit verbunden ein eventuell unterschiedliches Reagieren von Endothelzellen verschiedener Gefäßprovenienz auf einen pathologischen Stimulus. Des weiteren wurde in der Arbeit von Liu et al. eine nahezu doppelt so hohe Dosis an Sevofluran verwendet als bei unseren Versuchen.

4.8.3. Koronarfluß und Herzfrequenz

Bezüglich der funktionellen Herzparameter gibt es in der Sevoflurangruppe eine Besonderheit, da hier der Koronarfluß unter basalen Bedingungen signifikant niedriger war, als in der Kontrolle. Dies ist verwunderlich, da sich weder das durchschnittliche Tiergewicht beider Gruppen, noch das Herztrockengewicht unterschied. Die Gabe des Anästhetikums ist als Ursache ausgeschlossen, da die erste Baselinemessung (Baseline₁) bei allen Gruppen in Abwesenheit eines Anästhetikums durchgeführt wurde. Wie aus den Versuchszahlen ersichtlich, ist die Sevoflurangruppe die kleinste Versuchsgruppe gewesen (n = 5, gegenüber n = 10 für Kontrollen). Daher vermuten wir, daß diese Abweichung rein zufälliger Natur war.

Präischämisch zeigte sich in der Sevoflurangruppe ein weniger starker Abfall des Koronarflusses, der in Anwesenheit von ANP auch signifikant war. Dies ist mit der direkten vasodilatativen Wirkung des inhalativen Narkotikums zu erklären^{8;19}. Postischämisch erhöhte Sevofluran den Koronarfluß in der frühen Reperfusionphase und verlangsamte dann die Rückkehr zu den Werten die in der Kontrollgruppe erreicht wurden. Kowalski et al. konnten nachweisen, daß im volumenkonstant perfundierten Langendorffherz postischämisch der koronare Perfusionsdruck nachläßt, fanden aber zwischen Kontrollgruppe und Sevofluran keinen signifikanten Unterschied⁷⁷. Auch Heindl et al. konnten in einem ähnlichen Versuchsaufbau keinen signifikanten Einfluß von Sevofluran auf den Perfusionsdruck in den Koronarien feststellen⁵⁰. Ob für den dilatierenden Effekt in unseren Experimenten die Anwesenheit von ANP eine Rolle spielt liegt nahe, läßt sich aber derzeit nicht endgültig beantworten.

Es läßt sich aber feststellen, daß der vermehrte Koronarfluß in der Sevoflurangruppe postischämisch nicht durch eine negativ chronotrope Wirkung zustande kommt, welche die Diastole verlängern würde und somit einen positiven Effekt auf die Koronarperfusion ausüben könnte.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Sevofluran trotz einer Erhöhung des Koronarflusses im Vergleich zur Kontrollgruppe die Permeabilität und die Herzfrequenz nicht signifikant beeinflusst.

4.9. Propofol

4.9.1. Wirkung und Pharmakokinetik

Propofol ist ein intravenöses Anästhetikum, das in den späten Achtzigern in den klinischen Alltag eingeführt wurde ¹⁴⁶ und heute aufgrund seiner pharmakokinetischen Eigenschaften breite Anwendung findet. Es zeichnet sich durch eine kurze Wirkdauer, eine schnelle An- und Abflutungszeit und eine gute Steuerbarkeit aus ⁶⁸. Die zentralnervöse hypnotische Wirkung wird wahrscheinlich durch Beeinflussung von GABA-Rezeptoren hervorgerufen ⁵¹, es gibt aber Berichte, die andere Rezeptoren als möglichen Wirkungsort sehen, z. B. zentralnervöse Acetylcholinrezeptoren ⁹⁹. Die klinische Plasmakonzentration während einer Narkose wird in der Literatur zwischen 1 und 10 µg/ml angegeben ^{51;126}, wobei die Eiweißbindung über 90 % beträgt. Somit ist unsere gewählte Konzentration von 1 µg/ml im oberen Bereich der in-vivo erreichten freien Plasmakonzentration.

Als kardiovaskuläre Nebenwirkungen sind Hypotension, negative Chronotropie und Bradykardien beschrieben ^{5;32;72;102;110;132;165}. Auch wurden direkt dilatative Effekte an den Koronarien beschrieben ^{102;132}. Als möglicher Mechanismus kommt dabei ein direkt stimulierender Effekt auf die NO-Freisetzung aus dem Endothel in Betracht ¹¹¹.

4.9.2. Einfluß auf die Permeabilität

4.9.2.1. Einfluß auf die Permeabilität unter basalen Bedingungen

In unserem Modell konnte unter basalen Bedingungen gezeigt werden, daß Propofol einen signifikanten permeabilitätssenkenden Effekt hat (Baseline₂). Dieser wird durch die Anwesenheit des muskarinergen Antagonisten 4-DAMP (M₃-Rezeptoren-Blocker) noch verstärkt. Der genaue Mechanismus bleibt dabei unklar. Eine mögliche Erklärung bietet eine Arbeit aus unserem Labor: Voigtländer et al. konnten zeigen, daß Propofol in einem Erythrozytenmodell einen hemmenden Einfluß auf Aquaporine besitzt ¹⁵⁴. Aquaporine dienen dem intra- und transzellulären Wassertransport und werden auch auf Endothelzellen in hohem Maße exprimiert. Somit besteht die Möglichkeit, daß bei intaktem Endothel der Wassertransport transzellulär läuft und dieser durch das Anästhetikum vermindert wird. Widersprüchlich zu dieser Erklärung ist, daß auch Thiopental Aquaporine hemmt ¹⁵⁴, aber in unserem Modell unter basalen Bedingungen keine signifikante Verminderung des Transsudatflusses erzielen konnte.

Inwieweit Aquaporine für den basalen Propofoleffekt verantwortlich sind, bleibt also offen. Möglicherweise sind die Aquaporine humaner Erythrozyten und von Endothelzellen des Meerschweins unterschiedlich empfindlich gegenüber Thiopental und Propofol.

4.9.2.2. Einfluß auf die Permeabilität unter präischämischen Bedingungen

In unserem Modell konnte gezeigt werden, daß Propofol einen signifikant steigernden Effekt auf die durch ANP-induzierte Permeabilität hat. Auch das Organödem nach Versuchsende ist in der Propofolgruppe signifikant erhöht. Dies steht in Widerspruch zu unseren Beobachtungen unter basalen Bedingungen. Eine mögliche Erklärung ist, daß die basale Permeabilität, wie schon oben erwähnt, hauptsächlich über transzelluläre Wege läuft, pathologische Permeabilitätsänderungen sich aber in einem verstärkten parazellulären Leck bemerkbar machen. Diese beiden Wege werden von Propofol unterschiedlich beeinflusst.

Christ et al. konnten demonstrieren, daß eine Narkose die endotheliale Permeabilität beeinflusst¹⁸. Nach Narkoseeinleitung mit Thiopental oder Etomidat und Weiterführung der Narkose mit Isofluran (Handchirurgie oder Leistenhernien) nahm die Flüssigkeitsfiltrationskapazität und die Permeabilität des Endothels ab. Dieser Ansatz wurde weiter verfolgt und so konnte dieselbe Arbeitsgruppe in einer 2002 veröffentlichten Studie nachweisen, daß dieses Phänomen auch unter Sevofluran zu beobachten ist (elektive Brustchirurgie), nicht aber unter Propofol¹⁴. Daraus läßt sich schließen, daß Propofol unter Narkosebedingungen die Permeabilität im Vergleich zu anderen Narkotika erhöht. Diese Ergebnisse werden durch unsere Beobachtungen gestützt.

Durch die Zugabe von muskarinergen Antagonisten (Versuchsprotokoll 2) konnten wir den permeabilitätssteigernden Effekt von Propofol reduzieren. Dabei erwies sich der M₃-Antagonist 4-DAMP als selektiver: Durch 4-DAMP konnten die Propofol-induzierten Transsudatflußsteigerungen signifikant gesenkt werden, während dies durch den M₂-Antagonisten Methoctramin nicht möglich war.

Somit scheint Propofol muskarinerge Rezeptoren zu aktivieren, oder zumindest zu modifizieren, so daß die Wirkung von endogenem Acetylcholin verstärkt wird. Dies ist aufgrund der Allosterie der Rezeptoren durchaus denkbar^{145;147}. Tucek et al. konnten nachweisen, daß das Muskelrelaxans Alcuronium in einem bestimmten Konzentrationsbereich die Affinität muskarinergere Rezeptoren für Methyloscopolamin erhöht. Ya-

mamoto et al. haben demonstriert, daß Propofol seine negativ-chronotrope Wirkung zumindest teilweise über M_2 -Rezeptoren vermittelt. Auch die NO-Synthase und die Guanylylcyclase sind bei der Transduktion der Propofolwirkung über muskarinerge Rezeptoren teilweise beteiligt, was sich durch Hemmung der jeweiligen Enzyme zeigen läßt ¹⁶⁵. Auch die von Baraka durch Propofol in Verbindung mit Suxamethonium beschriebenen Bradykardien ⁵ ließen sich durch die Prämedikation mit Atropin, einem nichtselektiven Muskarinantagonisten, verhindern. Ebenso ließ sich die bronchodilatatorische Wirkung von Propofol durch Zugabe von Atropin hemmen ⁵⁷. Auch andere Substanzen, die in der Acetylcholin-Signalkaskade eine wichtige Rolle spielen, werden durch Propofol beeinflusst. So konnten Petros et al. und Park et al. unabhängig voneinander zeigen, daß Propofol die NO-Freisetzung aus Endothelzellen fördert ^{109;111}. Auch cGMP, das als second messenger sowohl im ANP-, als auch im Signalweg des Acetylcholins eine wichtige Rolle spielt, wird durch Propofol beeinflusst. Liu et al. und Shirakami et al. konnten in unterschiedlichen Modellen und an unterschiedlichen Zelltypen nachweisen, daß intracelluläres cGMP durch das Anästhetikum erhöht wird ^{87;127}. Somit könnte cGMP der gemeinsame Endpunkt für die Permeabilitätserhöhung durch ANP und Propofol sein. Leider ließ sich in unserem Modell im Effluat freigesetztes cGMP mit den beiden verwendeten ELISA-Systemen nicht adäquat nachweisen.

Dennoch ist der cGMP-Weg eine mögliche Erklärung für den in unserem Modell gesehenen Effekt und läßt sich mit der Datenlage in der Literatur gut in Einklang bringen. Die Wirkung auf den muskarinergen Rezeptor und das Verschwinden des Propofoleffektes durch Blockade des M_3 -Rezeptors ließ sich dabei eindrucksvoll darstellen.

Bei der Blockade der Rezeptoren ist aufgefallen, daß die M_2 -Blockade zum einen keinen signifikanten Unterschied zur Propofolgruppe erbracht hat, zum anderen entsteht der Eindruck, daß der M_2 -Antagonist Methoctramin auch in Abwesenheit von Propofol den Transsudatfluß hemmt, wenn auch nicht signifikant. Daraus könnte geschlossen werden, daß Methoctramin im Vergleich zu 4-DAMP die Permeabilität unspezifischer beeinflusst. Ob dies an einer eingeschränkten Selektivität im gewählten Konzentrationsbereich für Methoctramin liegt ¹⁷, oder an einer nicht gleichmäßigen Verteilung der Rezeptorsubtypen, läßt sich nicht sagen. Üblicherweise werden M_2 -Rezeptoren dem Reizleitungssystem des Herzens zugeordnet, während M_3 -Rezeptoren auf glatten Muskelzellen zu finden sind ¹⁷. Über die Rezeptorenverteilung

im Endothel der Koronarien (human oder Meerschwein) ließen sich keine Untersuchungen in der Literatur finden.

Es gibt jedoch auch Untersuchungen, die für Propofol einen antagonistischen Effekt an muskarinergen Rezeptoren postulieren^{59,99}. Miyawaki et al. haben einen hemmenden Einfluß von Propofol auf die acetylcholinstimulierte cGMP-Produktion an Aortenringen der Ratte gezeigt. Eine wichtige Rolle könnte dabei die Lage des jeweiligen Gefäßabschnittes spielen. So konnten Coughlan et al. nachweisen, daß die vasodilatatorische Wirkung von Propofol von der Gefäßgröße abhängt und kleinere Gefäße mit einer stärkeren Vasodilatation reagieren²³.

Hirota et al. haben in einer Verdrängungsstudie gezeigt, daß Propofol bezüglich Scopolamin keine Affinität zu M₁/M₂/M₃-Rezeptoren besitzt⁵⁶. Diese Ergebnisse stehen nicht unbedingt in Widerspruch zu unseren Resultaten. Muskarinerge Rezeptoren sind allosterische Moleküle mit mehreren Taschen für die Bindung von potenziellen Agonisten oder Antagonisten. Es ist durchaus denkbar, daß Propofol an einer anderen Domäne als Scopolamin bindet und es somit nicht zu einer Verdrängung kommt¹⁴⁷. Auch die Gruppe um Yamamoto konnte erst bei relativ hohen Konzentrationen eine Verdrängung von [³H]Quinuclidinyl Benzilat durch Propofol am muskarinergen Rezeptor feststellen, dennoch konnten sie den Effekt von Propofol auf die Chronotropie durch Methoctramin zu fünfzig Prozent hemmen¹⁶⁵.

Um eine mögliche Verstärkung von exogen zugeführtem Acetylcholin zu untersuchen, konzipierten wir ein drittes Versuchsprotokoll. Dabei konnte nur ein Trend für einen potenzierenden Effekt von Propofol auf die Wirkung von exogenem Acetylcholin festgestellt werden. Dieser war jedoch zu keinem Zeitpunkt signifikant. Eine Erklärung für die fehlende Signifikanz wäre, daß Propofol an muskarinergen Rezeptoren als partieller Agonist wirkt, oder muskarinerge Rezeptoren so verändert, daß die Affinität für endogenes Acetylcholin gesteigert wird und dann in Anwesenheit von ANP die Permeabilität des Endothels erhöht. Dabei ist zu beachten, daß ANP und Acetylcholin einen gemeinsamen second messenger besitzen, nämlich cGMP. Yonemaru et al. konnten zeigen, daß ANP über einen cGMP vermittelten Prozeß die Permeabilität in Monolayern erhöht¹⁶⁷. Somit wäre möglicherweise dieses Nukleotid in Verbindung mit muskarinergen Rezeptoren für den Permeabilitätsanstieg in Anwesenheit von ANP und Propofol verantwortlich. Endogenes (extraluminales) und exogenes (intravasales) Acetylcholin könnten sich durchaus in ihrer Wirkung unterscheiden, wenn die verantwortlichen Rezeptoren eine unterschiedliche Verteilung zwischen

intra- und extraluminale Zelloberflächen besitzen sollten. Die koronaren Endothelzellen stellen bekanntlich eine metabolische Barriere für Acetylcholin dar (Spaltung durch Cholinesterase), so daß exogen appliziertes Acetylcholin in Konzentrationen bis ca. 100 nM keinen Zutritt zum interstitiellen Raum findet ⁷.

Eine andere theoretische Erklärung für den permeabilitätsverstärkenden Effekt von Propofol – neben der cGMP-Erhöhung – ist die intrazelluläre Erhöhung von Kalzium, die mittels M_3 -Rezeptoren vermittelt wird (siehe Abbildung 45). Es ist bekannt, daß Kalzium eine wichtige Rolle in der Permeabilitätsregulierung in der Endothelzelle spielt, unter anderem über die Aktivierung von Actin- und Myosinfilamenten ¹⁴⁰. Dabei könnte dieser Kalziumüberschuß, ähnlich wie bei Kardiomyozyten in der Reperfusion, zu einer Kontraktur der Endothelzelle mittels Actin- und Myosinfilamente im Zytoskelett führen. Die Zytoskelettveränderungen stellen auch einen möglichen permeabilitätssteigernden Mechanismus dar ^{29;100;125}. Kanaya et al. konnten zudem zeigen, daß Propofol in ventrikulären Rattenmyozyten die Myofilamentsensitivität für Kalzium erhöht ⁶⁷. Dies muß zwar nicht für die Endothelzelle gelten, wäre aber denkbar und könnte somit bei einer intrazellulären Kalziumerhöhung zu einer durch Propofol induzierten Verstärkung der Kalziumwirkung auf die Permeabilität führen. Eine Zusammenfassung der möglichen Rezeptorwege ist in Abbildung 46 schematisch dargestellt.

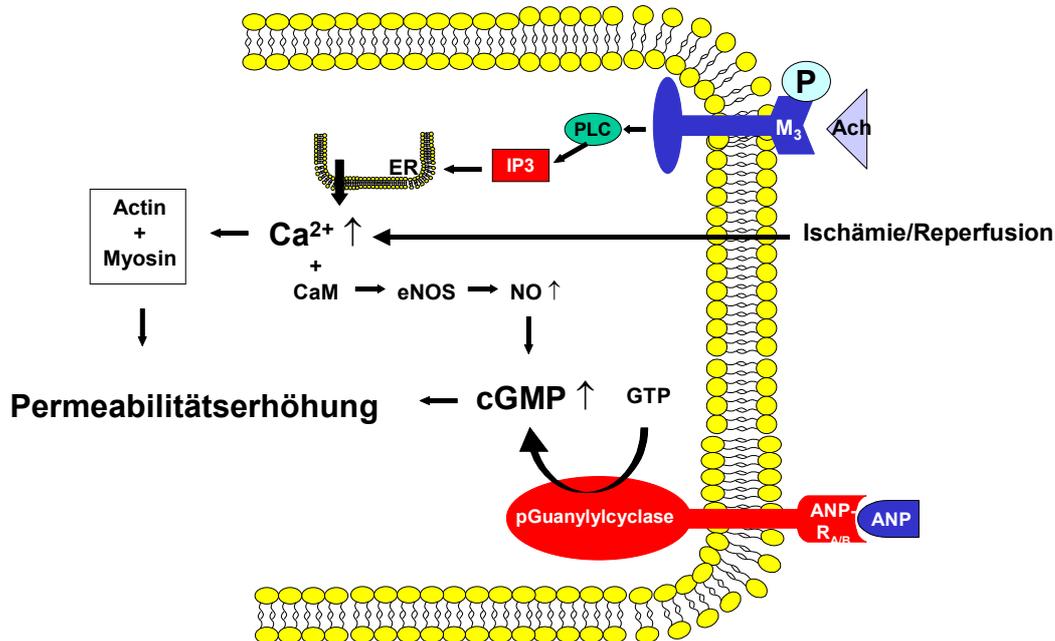


Abbildung 46: Zusammenfassung der möglichen Rezeptor- und Transduktionsbeeinflussung durch Propofol

In dieser Graphik sind die möglichen Rezeptorwege zusammengefaßt, die bei der durch Propofol induzierten Permeabilitätssteigerung beteiligt sein könnten. Dabei ist eine Affinitätsänderung am Rezeptor für endogenes Acetylcholin denkbar, aber auch eine direkte Wirkung auf second messenger und intrazelluläre Enzyme.

P = Propofol, PLC = Phospholipase C, IP3 = Inositol-1,2,5-Trisphosphat, ER = Endoplasmatisches Retikulum, CaM = Calmodulin

4.9.2.3. Einfluß auf die Permeabilität unter postischämischen Bedingungen

Postischämisch erhöht Propofol in der Reperfusion den Transsudatfluß signifikant und auch das Ödem der isolierten Organe war in der Propofolgruppe nach Versuchsende signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse weichen auf den ersten Blick von der gängigen Literatur ab, die für Propofol hinsichtlich Ischämie/Reperfusionsschäden einen protektiven Effekt postuliert^{64;73;75;93;168}. Der protektive Effekt in der Literatur besteht dabei allerdings in einer besseren Erholung bezüglich der linksventrikulär-entwickelten Drücke, aortaler Spitzendrücke, Laktatdehydrogenase-Ausschüttung (LDH), Herzfrequenz, enddiastolischen Drücke, Histologie und Lipidperoxidation. Als potentielle Mechanismen gelten dabei Wirkungen des Propofols als:

- Radikalfänger^{73;75}

- Inhibitor der mitochondrialen Permeabilitätstransition⁶⁴
- Inhibitor des langsamen Calciumstroms vom Sarkolemm²⁰

Trotz dieser benefiziellen Wirkungen konnte in der Arbeit von Yoo et al.¹⁶⁸ kein protektiver Effekt von Propofol auf das Endothel festgestellt werden. Nach Ischämie/Reperfusion war auch in Anwesenheit von Propofol eine Dysfunktion im Hinblick auf eine acetylcholininduzierte Vasodilatation zu verzeichnen.

Zusätzlich muß erwähnt werden, daß in nahezu allen Arbeiten, die für Propofol einen protektiven Effekte bezüglich des Ischämie/Reperfusionsschadens nachweisen konnten, deutlich höhere Konzentrationen verwendet wurden. Ebel et al. demonstrierten, daß bei einer Konzentration von 1 µg/ml kein positiver Effekt von Propofol auf eine regionale Ischämie des Rattenherzens zu verzeichnen ist³¹. Dabei vermuten die Autoren, daß durch supraklinische Konzentrationen die kardiodepressive Wirkung einen verminderten Sauerstoffbedarf des ischämischen Herzens bewirkt, was nach der Reperfusion durch eine bessere Funktion wiedergespiegelt wird. Bezüglich der Permeabilität von Endothel wurde in keiner der zitierten Arbeiten eine Aussage getroffen. Somit muß in Hinblick auf unsere Ergebnisse die protektive Wirkung von Propofol auf Ischämie/Reperfusionsschaden am Herzen kritisch betrachtet werden, da ein kardiales Ödem, das durch Propofol verstärkt wird, die Erholung des Organs negativ beeinflussen kann^{40;149}.

4.9.3. Koronarfluß und Herzfrequenz

4.9.3.1. Koronarfluß

Bezüglich des Koronarflusses ist festzustellen, daß Propofol in Anwesenheit von ANP sowohl prä-, als auch postischämisch eine Flußzunahme hervorruft. Für dieses Hypnotikum ist eine direkte vasodilatative Wirkung beschrieben, die hier möglicherweise zur Geltung kommt^{102;132}. Es scheint, als ob dieser Effekt durch die Anwesenheit von ANP verstärkt wird. Auch postischämisch verursacht Propofol eine Vasodilatation mit einem erhöhten Koronarfluß. Dieser erhöhte Koronarfluß ist, im Gegensatz zu der Versuchsgruppe mit Sevofluran, mit einem erhöhten Transsudatfluß verbunden. Korrelationsberechnungen konnten dabei keine Abhängigkeit im Sinne eines vermehrten „shear stress“ Phänomens zeigen, so daß die Steigerung von Koronarfluß und Transsudatfluß als unabhängige Auswirkungen zu betrachten sind.

Durch die Zufuhr der muskarinergen Antagonisten Methoctramin und 4-DAMP wurde der Koronarfluß in der Propofolgruppe nicht beeinflusst. Somit scheint dieser Effekt

nicht durch muskarine Rezeptoren vermittelt zu sein. Dies wird durch die Versuche des dritten Protokolls bestätigt: Propofol hatte keinen potenzierenden Effekt auf die Wirkung von exogen zugeführtem Acetylcholin. In beiden Gruppen ist eine von der AcetylcholinKonzentration abhängige Steigerung des Koronarflusses festzustellen. Dies ist mit der bekannten Wirkung von Acetylcholin am Endothel - Stimulation der NO-Synthese - gut in Einklang zu bringen ³⁸.

Die Vasodilatation spricht zudem für die Güte der Präparation, da eine acetylcholinvermittelte Vasodilatation nur in Anwesenheit von Endothel erfolgen kann, diese Zellen aber während der Präparation am empfindlichsten auf Ischämie und andere schädigende Einflüsse reagieren.

4.9.3.2. Herzfrequenz

Die Herzfrequenz wird in Anwesenheit von ANP durch Propofol nicht signifikant beeinflusst. Es kann also ausgeschlossen werden, daß durch eine Abnahme der Frequenz und einer damit verbundenen Verlängerung der Diastole eine längere Filtrationszeit besteht, welche die Transsudatflußzunahme erklären könnte.

Auch durch Zugabe der muskarinergen Antagonisten wird keine Änderung bei der Herzfrequenz erzielt. Allerdings ergab sich durch die Zugabe von exogenem Acetylcholin im Versuchsprotokoll 3 ein unerwarteter Effekt: Acetylcholin wirkt bekanntlich negativ chronotrop, in unserem Modell war aber mit steigender AcetylcholinKonzentration eine Zunahme der Frequenz festzustellen. Als mögliche Ursachen für dieses „paradoxe“ Phänomen vermuten wir eine Erwärmung des Präparates bei höherer Perfusionsrate, sowie eine reflektorische Zunahme der Herzfrequenz als Reaktion auf eine vermehrte Volumenbelastung. Diese ergibt sich aus dem gesteigerten Koronarfluß, der durch den Sinus coronarius in den rechten Vorhof und anschließend in den rechten Ventrikel drainiert wird. Dies führt zu einer Zunahme des Volumens, auf die das Herz physiologisch primär mit einer Zunahme des Schlagvolumens reagiert, sekundär durch Frequenzanstieg. In der Propofolgruppe war dieses Phänomen weniger deutlich zu beobachten. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind zwar nicht signifikant, wir erklären diese Tendenz aber durch eine Verminderung der Herzfrequenzvariabilität durch Propofol. Kanaya et al. demonstrierten, daß Propofol beim Menschen die Herzfrequenz konstant hält, unabhängig vom Blutdruck und vom Wachheitszustand ⁶⁶. Die negative Chronotropie ist für Propofol bekannt und wird teilweise, wie schon oben erwähnt, durch muskarinerge Rezeptoren vermittelt ¹⁶⁵.

Dies könnte in unserem Modell dazu führen, daß das Herz in Anwesenheit von Propofol nicht durch einen Frequenzanstieg auf die vermehrte Volumenbelastung reagiert.

5. Zusammenfassung

Einleitung

Endothelzellen bilden im intakten Organismus eine Barriere zwischen dem intra- und extravasalen Raum. Sie regulieren nicht nur den Vasotonus und die Gerinnung, sondern sie sind auch für die nutritive Versorgung von Geweben zuständig, indem sie die hierfür benötigte Grundpermeabilität regulieren. Die Regulierung der Grundpermeabilität dient aber auch zur Aufrechterhaltung der Form von Geweben und Organen und damit ihrer Funktion.

Diese Barrierefunktion von Endothelzellen kann durch eine Vielzahl von Einflüssen gestört werden, wie z. B. Entzündungsreaktionen, Erhöhung von Schubspannung („shear stress“) und durch permeabilitätssteigernde Peptide wie ANP. Auch Reperfusion/Ischämie, die weitgehend der Entität der Entzündungsreaktionen zuzuordnen sind, führen zu einer Erhöhung der Permeabilität.

Für Anästhetika wurde eine Beeinflussung der Endothelpermeabilität in diversen Veröffentlichungen nachgewiesen. So konnte gezeigt werden, daß Propofol und Thiopental in der Lage sind den Wasserfluß via Aquaporin-1 zu hemmen ¹⁵⁴. Bruegger et al. konnten am Menschen zeigen, daß Sevofluran die Permeabilität während einer Allgemeinanästhesie im Gegensatz zu Propofol verringert ¹⁴. Situationen mit erhöhter Permeabilität, wie sie z. B. während gefäßchirurgischen Eingriffen auftreten können ¹⁸ oder bei gesteigerter Ausschüttung von atrialem natriuretischen Peptid (ANP) und nach Gewebeischämie (Ödembildung) wurden nicht untersucht. Somit war es Ziel dieser Arbeit, mit einem experimentellen Versuchsaufbau mögliche Effekte von ausgewählten Anästhetika auf die Permeabilität zu detektieren und nach Möglichkeit einen Wirkmechanismus zu eruieren.

Methodik

Als Modell wurde das druckkontrolliert-perfundierte isolierte Herz nach Langendorff gewählt, da so ein definiertes intaktes Gefäßsystem (Koronarien) zur Verfügung stand und gleichzeitig mögliche kardiale Nebenwirkungen der Anästhetika erkennbar sein würden. Gemessen wurden Transsudatfluß, Koronarfluß, Herzfrequenz und nach Versuchsende die Ödemfraktion des Herzens. Der Transsudatfluß stellt hierbei ein direktes Maß für die Nettofiltration im koronaren Gefäßbett dar.

Als Anästhetika wurden Thiopental, Ketamin, Sevofluran und Propofol in klinisch üblichen Dosierungen verwendet. Um eine definierte Permeabilitätserhöhung zu schaffen, kamen zwei unterschiedliche Stimuli zur Anwendung: Applikation von ANP und eine Ischämie mit Reperfusion.

Um einen möglichen Mechanismus der Permeabilitätserhöhung durch Anästhetika pharmakologisch nachzuweisen, wurden in einem weiteren Versuchsprotokoll muskarinerge Antagonisten (Methoctramin für M_2 - und 4-DAMP für M_3 -Rezeptoren) zugegeben. Ein potentiell verstärkender Effekt von Anästhetika auf die durch die Zufuhr von exogenem Acetylcholin verursachte Permeabilität wurde in einem dritten Versuchsprotokoll untersucht.

Ergebnisse

Die Herzfrequenz wurde durch keines der verwendeten Anästhetika signifikant verändert. Bezüglich des Koronarflusses ergaben sich nur für Sevofluran und Propofol signifikante Veränderungen. Beide Anästhetika erhöhten den Koronarfluß, führten also zu einer direkten Vasodilatation.

Auf die Permeabilität wirkte sich nur Propofol aus. Unter basalen Bedingungen kam es zu einer gewissen Abdichtung der Gefäße. Hierbei könnte die Hemmung von Aquaporinen und somit der transzellulären Wasserpermeabilität stattfinden. Andererseits verstärkte Propofol sowohl die durch ANP induzierte, als auch die durch Ischämie/Reperfusion in Anwesenheit von ANP verursachte Permeabilität signifikant. Diese Befunde wurden nach Versuchsende durch ein signifikant erhöhtes Organödem gestützt. Dabei konnte ein Zusammenhang zwischen Transsudatfluß und Koronarfluß im Sinne einer shear stress-Erhöhung mittels einer Korrelationsprüfung ausgeschlossen werden.

Der permeabilitätserhöhende Effekt ließ sich durch Blockade von muskarinergen Rezeptoren reduzieren. Dabei konnte der selektive M_3 -Antagonist 4-DAMP die Wirkung von Propofol auf die Permeabilität nahezu vollständig unterdrücken, ohne einen intrinsischen Einfluß auf die ANP-induzierte Permeabilität zu haben. Der selektive M_2 -Antagonist Methoctramin zeigte ebenfalls einen Trend zur Senkung der durch Propofol aggravierten Permeabilität, dieser Effekt erwies sich doch als deutlich unspezifischer als die Blockade von M_3 -Rezeptoren.

Die Wirkung von exogen zugeführtem Acetylcholin auf die Permeabilität konnte durch Propofol nicht signifikant verstärkt werden, auch wenn ein Trend in diese Richtung vorhanden war.

Schlußfolgerungen

Ein Einfluß auf die Permeabilität konnte bei den verwendeten Anästhetika nur für Propofol festgestellt werden. Neben einer mäßigen abdichtenden Wirkung unter basalsten Bedingungen führt Propofol zu einer deutlichen Zunahme der Permeabilität bei stimuliertem Endothel. Dieser Effekt ist M_3 -Rezeptor vermittelt oder zumindest assoziiert. Diese Beobachtung wird durch andere muskarinerg-vermittelte Propofoleffekte untermauert ^{5;57;165}.

Für die klinische Anästhesie sind diese Befunde von Bedeutung. Eine Verstärkung der endothelialen Permeabilität führt zu einem Flüssigkeitsverlust von intravasal nach extravasal und muß durch eine exogene Zufuhr substituiert werden. Dies stellt, bei Eingriffen mit einer erhöhten Schrankenstörung (z. B. Gefäßchirurgie) ein erhöhtes Risiko für den Patienten dar, da der Flüssigkeitsbedarf unter Umständen nicht abzuschätzen ist und es zu einer Über- oder Untersubstitution kommen kann. Durch die Wahl des Anästhetikums kann die Permeabilität des Endothels wahrscheinlich auch *in vivo* beeinflusst werden. Diese tierexperimentellen Befunde müssen nun in klinischen Studien überprüft werden.

6. Abkürzungstabelle

ANP	Atriales natriuretisches Peptid
BNP	Brain natriuretisches Peptid
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
DAMP	4-Diphenylacetoxy-N-methylpiperidin Methiodid
EDRF	endothelium-derived relaxing factor
eNOS	endotheliale NO-Synthase
MAC	minimale alveoläre Konzentration
NO	Stickoxid
PTCA	perkutane transluminale Koronarangiographie
TNF α	Tumornekrosefaktor α

7. Literaturverzeichnis

1. Ackerman BH, Wyeth RP, Soulsby ME, Pappas AA, Vesely DL: Vessel dilator is associated with survival after acute myocardial infarction. *Int.J.Cardiol.* 1995; 47: 235-44
2. Arendt RM, Gerbes AL, Ritter D, Stangl E, Bach P, Zahringer J: Atrial natriuretic factor in plasma of patients with arterial hypertension, heart failure or cirrhosis of the liver. *J.Hypertens.Suppl* 1986; 4: S131-S135
3. Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J: Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *Cell Mol.Life Sci.* 1999; 55: 1078-87
4. Baker CS, Kumar S, Rimoldi OE: Effects of brief ischemia and reperfusion on the myocardium and the role of nitric oxide. *Heart Fail.Rev.* 2003; 8: 127-41
5. Baraka A: Severe bradycardia following propofol-suxamethonium sequence. *Br.J.Anaesth.* 1988; 61: 482-3
6. Bartsch P, Shaw S, Franciulli M, Gnadinger MP, Weidmann P: Atrial natriuretic peptide in acute mountain sickness. *J.Appl.Physiol* 1988; 65: 1929-37
7. Becker B, Leipert B, Schwartz L, Gerlach E: The metabolic barrier of the coronary endothelium as a determinant of flow responses, Regulation of coronary blood flow. Edited by Inoue M, Hori M, Imai S, Berne R. Tokyo, Springer-Verlag, 1991, pp 206-16
8. Bernard JM, Wouters PF, Doursout MF, Florence B, Chelly JE, Merin RG: Effects of sevoflurane and isoflurane on cardiac and coronary dynamics in chronically instrumented dogs. *Anesthesiology* 1990; 72: 659-62
9. Bettens KM, De Hert SG, Sys SU, Brutsaert DL: Role of the endocardial endothelium in the negative inotropic effects of thiopental. *Anesthesiology* 1996; 85: 1100-10
10. Birdsall NJ, Farries T, Gharagozloo P, Kobayashi S, Kuonen D, Lazareno S, Popham A, Sugimoto M: Selective allosteric enhancement of the binding and actions of acetylcholine at muscarinic receptor subtypes. *Life Sci.* 1997; 60: 1047-52
11. Birdsall NJ, et al.: Muscarinic acetylcholine receptors, The IUPHAR Compendium of Receptor Characterization Classification, 2nd edition Edition. London, 2000, pp 54-63
12. Bolli R: Causative role of oxyradicals in myocardial stunning: a proven hypothesis. A brief review of the evidence demonstrating a major role of reactive oxygen species in several forms of postischemic dysfunction. *Basic Res.Cardiol.* 1998; 93: 156-62
13. Bolli R, Triana JF, Jeroudi MO: Prolonged impairment of coronary vasodilation after reversible ischemia. Evidence for microvascular "stunning". *Circ.Res.* 1990; 67: 332-43
14. Bruegger D, Bauer A, Finsterer U, Bernasconi P, Kreimeier U, Christ F: Microvascular changes during anesthesia: sevoflurane compared with propofol. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 2002; 46: 481-7
15. Busley R: Benzodiazepine, *Die Anästhesiologie*, First Edition. Edited by Rossaint R, Werner C, Zwißler B. Berlin Heidelberg, 2004, pp 223-33
16. Carlson RE, Aisen AM, Buda AJ: Effect of reduction in myocardial edema on myocardial blood flow and ventricular function after coronary reperfusion. *Am.J.Physiol* 1992; 262: H641-H648

17. Caulfield MP, Birdsall NJ: International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol.Rev.* 1998; 50: 279-90
18. Christ F, Gamble J, Raithel P, Steckmeier B, Messmer K: Perioperative Veränderungen der Flüssigkeitsfiltrationskapazität bei gefäßchirurgischen Patienten. *Anaesthesist* 1999; 48: 9-18
19. Conzen PF, Vollmar B, Habazettl H, Frink EJ, Peter K, Messmer K: Systemic and regional hemodynamics of isoflurane and sevoflurane in rats. *Anesth.Analg.* 1992; 74: 79-88
20. Cook DJ, Housmans PR: Mechanism of the negative inotropic effect of propofol in isolated ferret ventricular myocardium. *Anesthesiology* 1994; 80: 859-71
21. Cosby RL, Sophocles AM, Durr JA, Perrinjaquet CL, Yee B, Schrier RW: Elevated plasma atrial natriuretic factor and vasopressin in high-altitude pulmonary edema. *Ann.Intern.Med.* 1988; 109: 796-9
22. Cotran R, Majno G: A light and electron microscopic analysis of vascular injury. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1964; 116: 750-64
23. Coughlan MG, Flynn NM, Kenny D, Warltier DC, Kampine JP: Differential relaxant effect of high concentrations of intravenous anesthetics on endothelin-constricted proximal and distal canine coronary arteries. *Anesth.Analg.* 1992; 74: 378-83
24. Crozier IG, Ikram H, Nicholls MG: The pattern of atrial natriuretic peptide release during ventricular tachycardia in man. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol* 1987; 14: 597-604
25. Crozier IG, Ikram H, Nicholls MG, Espiner EA, Yandle TG: Atrial natriuretic peptide in spontaneous tachycardias. *Br.Heart J.* 1987; 58: 96-100
26. Daggubati S, Parks JR, Overton RM, Cintron G, Schocken DD, Vesely DL: Adrenomedullin, endothelin, neuropeptide Y, atrial, brain, and C-natriuretic prohormone peptides compared as early heart failure indicators. *Cardiovasc.Res.* 1997; 36: 246-55
27. Dauber IM, VanBenthuyzen KM, McMurtry IF, Wheeler GS, Lesnefsky EJ, Horwitz LD, Weil JV: Functional coronary microvascular injury evident as increased permeability due to brief ischemia and reperfusion. *Circ.Res.* 1990; 66: 986-98
28. Doring HJ: The isolated perfused heart according to Langendorff technique--function--application. *Physiol Bohemoslov.* 1990; 39: 481-504
29. Drenckhahn D, Ness W: The endothelial contractile cytoskeleton, *Vascular Endothelium: Physiology, Pathology and Therapeutic Opportunities.* Edited by Born GVR, Schwartz CJ. Stuttgart, 1997, pp 1-15
30. Drewnowska K, Clemo HF, Baumgarten CM: Prevention of myocardial intracellular edema induced by St. Thomas' Hospital cardioplegic solution. *J.Mol.Cell Cardiol.* 1991; 23: 1215-21
31. Ebel D, Schlack W, Comfere T, Preckel B, Thamer V: Effect of propofol on reperfusion injury after regional ischaemia in the isolated rat heart. *Br.J.Anaesth.* 1999; 83: 903-8
32. Egan TD, Brock-Utne JG: Asystole after anesthesia induction with a fentanyl, propofol, and succinylcholine sequence. *Anesth.Analg.* 1991; 73: 818-20
33. Eglen RM, Watson N: Selective muscarinic receptor agonists and antagonists. *Pharmacol.Toxicol.* 1996; 78: 59-68
34. Eison HB, Rosen MJ, Phillips RA, Krakoff LR: Determinants of atrial natriuretic factor in the adult respiratory distress syndrome. *Chest* 1988; 94: 1040-5

35. Fischer S, Renz D, Schaper W, Karliczek GF: Effects of barbiturates on hypoxic cultures of brain derived microvascular endothelial cells. *Brain Res.* 1996; 707: 47-53
36. Fluckiger JP, Waeber B, Matsueda G, Delaloye B, Nussberger J, Brunner HR: Effect of atriopeptin III on hematocrit and volemia of nephrectomized rats. *Am.J.Physiol* 1986; 251: H880-H883
37. Frankl WS, Poole-Wilson PA: Effects of thiopental on tension development, action potential, and exchange of calcium and potassium in rabbit ventricular myocardium. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 1981; 3: 554-65
38. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6
39. Gao WD, Liu Y, Marban E: Selective effects of oxygen free radicals on excitation-contraction coupling in ventricular muscle. Implications for the mechanism of stunned myocardium. *Circulation* 1996; 94: 2597-604
40. Garcia-Dorado D, Oliveras J: Myocardial oedema: a preventable cause of reperfusion injury? *Cardiovasc.Res.* 1993; 27: 1555-63
41. Garcia-Dorado D, Theroux P, Munoz R, Alonso J, Elizaga J, Fernandez-Aviles F, Botas J, Solares J, Soriano J, Duran JM: Favorable effects of hyperosmotic reperfusion on myocardial edema and infarct size. *Am.J.Physiol* 1992; 262: H17-H22
42. Gardner DG, Deschepper CF, Ganong WF, Hane S, Fiddes J, Baxter JD, Lewicki J: Extra-atrial expression of the gene for atrial natriuretic factor. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1986; 83: 6697-701
43. Gasser R, Luha O, Dusleag J, Eber B, Rotman R, Klein W, Fueger GR: Observations on plasma ANP levels during short-term transient myocardial ischemia produced by PTCA in patients with LAD stenosis. *Angiology* 1993; 44: 278-88
44. Gerschman R, Gilbert D, Nye S, Dwyer P, Fenn W: Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 1954; 119: 623-6
45. Ghosh S, Gachhui R, Crooks C, Wu C, Lisanti MP, Stuehr DJ: Interaction between caveolin-1 and the reductase domain of endothelial nitric-oxide synthase. Consequences for catalysis. *J.Biol.Chem.* 1998; 273: 22267-71
46. Hansen PR: Inflammatory alterations in the myocardial microcirculation. *J.Mol.Cell Cardiol.* 1998; 30: 2555-9
47. Harkin CP, Pagel PS, Kersten JR, Hettrick DA, Warltier DC: Direct negative inotropic and lusitropic effects of sevoflurane. *Anesthesiology* 1994; 81: 156-67
48. Hearse DJ: Reperfusion of the ischemic myocardium. *J.Mol.Cell Cardiol.* 1977; 9: 605-16
49. Hearse DJ, Humphrey SM, Bullock GR: The oxygen paradox and the calcium paradox: two facets of the same problem? *J.Mol.Cell Cardiol.* 1978; 10: 641-68
50. Heindl B, Becker BF, Zahler S, Conzen PF: Volatile anaesthetics reduce adhesion of blood platelets under low-flow conditions in the coronary system of isolated guinea pig hearts. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 1998; 42: 995-1003
51. Hemelrijck Jv, Gonzales JM, White PF: Pharmacology of Intravenous Anesthetic Agents, Principles and Practise of Anesthesiology, 1 Edition. Edited by Rogers MC, Tinker JH, Covino BG, Longnecker DE. St. Louis, 1992, pp 1131-54

52. Hempel A, Noll T, Bach C, Piper HM, Willenbrock R, Hohnel K, Haller H, Luft FC: Atrial natriuretic peptide clearance receptor participates in modulating endothelial permeability. *Am.J.Physiol* 1998; 275: H1818-H1825
53. Hempel A, Noll T, Muhs A, Piper HM: Functional antagonism between cAMP and cGMP on permeability of coronary endothelial monolayers. *Am.J.Physiol* 1996; 270: H1264-H1271
54. Herold G: *Kardiologie, Innere Medizin*, 2003 Edition. 2003, pp 170-6
55. Himmelseher S: *Ketamin, Die Anästhesiologie*, First Edition. Edited by Rossaint R, Werner C, Zwißler B. Berlin Heidelberg, 2004, pp 249-56
56. Hirota K, Hashimoto Y, Lambert DG: Interaction of intravenous anesthetics with recombinant human M1-M3 muscarinic receptors expressed in chinese hamster ovary cells. *Anesth.Analg.* 2002; 95: 1607-10, table
57. Hirota K, Sato T, Hashimoto Y, Hashiba E, Kudo T, Ishihara H, Matsuki A: Relaxant effect of propofol on the airway in dogs. *Br.J.Anaesth.* 1999; 83: 292-5
58. Holtz J, Munzel T, Bassenge E: [Atrial natriuretic hormone in the human]. *Z.Kardiol.* 1987; 76: 655-70
59. Horibe M, Ogawa K, Sohn JT, Murray PA: Propofol attenuates acetylcholine-induced pulmonary vasorelaxation: role of nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Anesthesiology* 2000; 93: 447-55
60. Hosey MM, DebBurman SK, Pals-Rylaarsdam R, Richardson RM, Benovic JL: The role of G-protein coupled receptor kinases in the regulation of muscarinic cholinergic receptors. *Prog.Brain Res.* 1996; 109: 169-79
61. Hu RM, Levin ER, Pedram A, Frank HJ: Atrial natriuretic peptide inhibits the production and secretion of endothelin from cultured endothelial cells. Mediation through the C receptor. *J.Biol.Chem.* 1992; 267: 17384-9
62. Hystad ME, Geiran OR, Attramadal H, Spurkland A, Vege A, Simonsen S, Hall C: Regional cardiac expression and concentration of natriuretic peptides in patients with severe chronic heart failure. *Acta Physiol Scand.* 2001; 171: 395-403
63. Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS: Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ.Res.* 1987; 61: 866-79
64. Javadov SA, Lim KH, Kerr PM, Suleiman MS, Angelini GD, Halestrap AP: Protection of hearts from reperfusion injury by propofol is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc.Res.* 2000; 45: 360-9
65. Jennings R, Schaper J, Hill ML, Steenbergen CJ, Reimer K: Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury. Changes in cell volume, electrolytes, metabolites, and ultrastructure. *Circ.Res.* 1985; 56: 262-78
66. Kanaya N, Hirata N, Kurosawa S, Nakayama M, Namiki A: Differential effects of propofol and sevoflurane on heart rate variability. *Anesthesiology* 2003; 98: 34-40
67. Kanaya N, Murray PA, Damron DS: Propofol increases myofilament Ca²⁺ sensitivity and intracellular pH via activation of Na⁺-H⁺ exchange in rat ventricular myocytes. *Anesthesiology* 2001; 94: 1096-104
68. Kanto J, Gepts E: Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol. *Clin.Pharmacokinet.* 1989; 17: 308-26

69. Kato R, Foex P: Myocardial protection by anesthetic agents against ischemia-reperfusion injury: an update for anesthesiologists. *Can.J.Anaesth.* 2002; 49: 777-91
70. Katoh T, Ikeda K: The minimum alveolar concentration (MAC) of sevoflurane in humans. *Anesthesiology* 1987; 66: 301-3
71. Kavanagh BP, Ryan MP, Cunningham AJ: Myocardial contractility and ischaemia in the isolated perfused rat heart with propofol and thiopentone. *Can.J.Anaesth.* 1991; 38: 634-9
72. Kehl F, Kress TT, Mraovic B, Hettrick DA, Kersten JR, Warltier DC, Pagel PS: Propofol alters left atrial function evaluated with pressure-volume relations in vivo. *Anesth.Analg.* 2002; 94: 1421-6, table
73. Ko SH, Yu CW, Lee SK, Choe H, Chung MJ, Kwak YG, Chae SW, Song HS: Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Anesth.Analg.* 1997; 85: 719-24
74. Kohno M, Murakawa K, Yasunari K, Nishizawa Y, Morii H, Takeda T: Circulating atrial natriuretic peptides in hyperthyroidism and hypothyroidism. *Am.J.Med.* 1987; 83: 648-52
75. Kokita N, Hara A, Abiko Y, Arakawa J, Hashizume H, Namiki A: Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts. *Anesth.Analg.* 1998; 86: 252-8
76. Koller ME, Reed RK: Increased negativity of interstitial fluid pressure in rat trachea in dextran anaphylaxis. *J.Appl.Physiol* 1992; 72: 53-7
77. Kowalski C, Zahler S, Becker BF, Flaucher A, Conzen PF, Gerlach E, Peter K: Halothane, isoflurane, and sevoflurane reduce postischemic adhesion of neutrophils in the coronary system. *Anesthesiology* 1997; 86: 188-95
78. Ku DD: Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. *Science* 1982; 218: 576-8
79. Kukielka GL, Hawkins HK, Michael L, Manning AM, Youker K, Lane C, Entman ML, Smith CW, Anderson DC: Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in ischemic and reperfused canine myocardium. *J.Clin.Invest* 1993; 92: 1504-16
80. Langendorff O: Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pflügers Arch.* 1895; 61: 291-332
81. Langendorff O: Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. II.Abhandlung. Über den Einfluß von Wärme und Kälte auf das Herz der warmblütigen Thiere. *Pflügers Arch.* 1897; 70: 355-400
82. Langendorff O: Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. III.Abhandlung. Vorübergehende Unregelmässigkeiten des Herzschlages und ihre Ausgleichung. *Pflügers Arch.* 1898; 70: 473-86
83. Langendorff O: Zur Kenntnis des Blutlaufes in den Kranzgefäßen des Herzens. *Pflügers Arch.* 1899; 78: 423-40
84. Laude K, Thuillez C, Richard V: Coronary endothelial dysfunction after ischemia and reperfusion: a new therapeutic target? *Braz.J.Med.Biol.Res.* 2001; 34: 1-7
85. Levin ER, Gardner DG, Samson WK: Natriuretic peptides. *N.Engl.J.Med.* 1998; 339: 321-8
86. Liu R, Ishibe Y, Ueda M: Isoflurane-sevoflurane administration before ischemia attenuates ischemia-reperfusion-induced injury in isolated rat lungs. *Anesthesiology* 2000; 92: 833-40

87. Liu R, Lang MG, Luscher TF, Kaufmann M: Propofol-induced relaxation of rat mesenteric arteries: evidence for a cyclic GMP-mediated mechanism. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 1998; 32: 709-13
88. Longnecker DE, Miller F: *Pharmacology of inhalational Anesthetics, Principles and Practise of Anesthesiology*, 1 Edition. Edited by Rogers MC, Tinker JH, Covino BG, Longnecker DE. St. Louis, 1992, pp 1053-86
89. Lund T, Onarheim H, Wiig H, Reed RK: Mechanisms behind increased dermal imbibition pressure in acute burn edema. *Am.J.Physiol* 1989; 256: H940-H948
90. Lund T, Wiig H, Reed RK: Acute postburn edema: role of strongly negative interstitial fluid pressure. *Am.J.Physiol* 1988; 255: H1069-H1074
91. Majno G, Palade G: *Studies on inflammation. 1. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: an electron microscopic study.* *J.Biophys.Biochem.Cytol.* 1961; 11: 571-605
92. Majno G, Palade G, Schoefl G: *Studies on inflammation. II. The site of action of histamine and serotonin along the vascular tree: a topographic study.* *J.Biophys.Biochem.Cytol.* 1961; 11: 607-26
93. Mathur S, Farhangkhgoee P, Karmazyn M: Cardioprotective effects of propofol and sevoflurane in ischemic and reperfused rat hearts: role of K(ATP) channels and interaction with the sodium-hydrogen exchange inhibitor HOE 642 (cariporide). *Anesthesiology* 1999; 91: 1349-60
94. McMurray RW, Jr., Vesely DL: Weight reduction decreases atrial natriuretic factor and blood pressure in obese patients. *Metabolism* 1989; 38: 1231-7
95. McMurray RW, Jr., Vesely DL: Weight reduction decreases the circulating concentration of the N-terminus of the ANF prohormone. *Am.J.Med.Sci.* 1992; 303: 2-8
96. McMurray RW, Jr., Vesely DL: Calorie-restricted weight reduction, blood pressure, and atrial natriuretic peptides. *Nutrition* 1993; 9: 178-82
97. Merkouris RW, Miller FC, Catanzarite V, Quirk JG, Jr., Rigg LA, Vesely DL: The N-terminal and C-terminal portions of the atrial natriuretic factor prohormone increase during pre-eclampsia. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 1991; 164: 1197-202
98. Merkouris RW, Miller FC, Catanzarite V, Rigg LA, Quirk JG, Jr., Vesely DL: Increase in the plasma levels of the N-terminal and C-terminal portions of the prohormone of atrial natriuretic factor during normal pregnancy. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 1990; 162: 859-64
99. Meuret P, Backman SB, Bonhomme V, Plourde G, Fiset P: Physostigmine reverses propofol-induced unconsciousness and attenuation of the auditory steady state response and bispectral index in human volunteers. *Anesthesiology* 2000; 93: 708-17
100. Michel CC, Curry FE: Microvascular permeability. *Physiol Rev.* 1999; 79: 703-61
101. Miller KW, Richards CD, Roth SH, Urban BW: Molecular and basic mechanisms of anaesthesia. *Br.J.Anaesth.* 2002; 89: 1-2
102. Mouren S, Baron JF, Albo C, Szekely B, Arthaud M, Viars P: Effects of propofol and thio-pental on coronary blood flow and myocardial performance in an isolated rabbit heart. *Anesthesiology* 1994; 80: 634-41
103. Ngo L, Bissett JK, Winters CJ, Vesely DL: Plasma prohormone atrial natriuretic peptides 1-98 and 31-67 increase with supraventricular and ventricular arrhythmias. *Am.J.Med.Sci.* 1990; 300: 71-7

104. Ngo L, Vesely DL, Bissett JK, Murphy ML, Dinh H, Sallman AL, Rico DM, Winters CJ, Wyeth RP: Acute and sustained release of the atrial natriuretic factor prohormone N-terminus with acute myocardial infarction. *Am.J.Med.Sci.* 1991; 301: 157-64
105. Ngo L, Vesely DL, Bissett JK, Murphy ML, Dinh H, Seth R, Sallman AL, Rico DM, Winters CJ, Wyeth RP, .: Acute and sustained release of atrial natriuretic factor with acute myocardial infarction. *Am.Heart J.* 1989; 118: 893-900
106. Ngo L, Wyeth RP, Bissett JK, Hester WL, Newton MT, Sallman AL, Winters CJ, Vesely DL: Prohormone atrial natriuretic peptides 1-30, 31-67, and 99-126 increase in proportion to right ventricular pacing rate. *Am.Heart J.* 1989; 117: 385-90
107. Ostwald P: Hypnotika: Barbiturate, Propofol, Etomidat, *Die Anästhesiologie*, First Edition. Edited by Rossaint R, Werner C, Zwißler B. Berlin Heidelberg, 2004, pp 211-22
108. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6
109. Park KW, Dai HB, Lowenstein E, Sellke FW: Propofol-associated dilation of rat distal coronary arteries is mediated by multiple substances, including endothelium-derived nitric oxide. *Anesth.Analg.* 1995; 81: 1191-6
110. Park WK, Lynch C, III: Propofol and thiopental depression of myocardial contractility. A comparative study of mechanical and electrophysiologic effects in isolated guinea pig ventricular muscle. *Anesth.Analg.* 1992; 74: 395-405
111. Petros AJ, Bogle RG, Pearson JD: Propofol stimulates nitric oxide release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Br.J.Pharmacol.* 1993; 109: 6-7
112. Pilati CF: Macromolecular transport in canine coronary microvasculature. *Am.J.Physiol* 1990; 258: H748-H753
113. Piper HM, Meuter K, Schafer C: Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann.Thorac.Surg.* 2003; 75: S644-S648
114. Quillen JE, Sellke FW, Brooks LA, Harrison DG: Ischemia-reperfusion impairs endothelium-dependent relaxation of coronary microvessels but does not affect large arteries. *Circulation* 1990; 82: 586-94
115. Reimer KA, Jennings R, Hill M: Total ischemia in dog hearts, in vitro 2. High energy phosphate depletion and associated defects in energy metabolism, cell volume regulation, and sarcolemmal integrity. *Circ.Res.* 1981; 49: 901-11
116. Rippe B, Haraldsson B: Transport of macromolecules across microvascular walls: the two-pore theory. *Physiol Rev.* 1994; 74: 163-219
117. Rodt SA, Reed RK: Interstitial fluid pressure in rat skin becomes more negative in the initial phase of carrageenan-induced edema. *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.* 1993; 12: 299-312
118. Rodt SA, Wiig H, Reed RK: Increased negativity of interstitial fluid pressure contributes to development of oedema in rat skin following application of xylene. *Acta Physiol Scand.* 1990; 140: 581-6
119. Rommelspacher H: *Narkotika, Pharmakologie und Toxikologie*, 1 Edition. Edited by Oberdisse E, Hackenthal E, Kuschinsky K. Berlin, 1997, pp 191-200
120. Ross S, Foex P: Protective effects of anaesthetics in reversible and irreversible ischaemia-reperfusion injury. *Br.J.Anaesth.* 1999; 82: 622-32

121. Ruigrok TJ, Slade AM, van der MP, de Moes D, Sinclair DM, Poole-Wilson PA, Meijler FL: Different effects of thiopental in severe hypoxia, total ischemia, and low-flow ischemia in rat heart muscle. *Anesthesiology* 1985; 63: 172-8
122. Samie MA, Shata MK, Madkour MK: [Comparative study of the effects of hexobarbital sodium and thiopental sodium on the isolated rabbit heart]. *Anaesthesist* 1966; 15: 6-10
123. Schiffrin EL, Gutkowska J, Kuchel O, Cantin M, Genest J: Plasma concentration of atrial natriuretic factor in a patient with paroxysmal atrial tachycardia. *N.Engl.J.Med.* 1985; 312: 1196-7
124. Schnittler HJ: Structural and functional aspects of intercellular junctions in vascular endothelium. *Basic Res.Cardiol.* 1998; 93 Suppl 3: 30-9
125. Schnittler HJ, Wilke A, Gress T, Suttorp N, Drenckhahn D: Role of actin and myosin in the control of paracellular permeability in pig, rat and human vascular endothelium. *J.Physiol* 1990; 431: 379-401
126. Shafer A, Doze VA, Shafer SL, White PF: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol infusions during general anesthesia. *Anesthesiology* 1988; 69: 348-56
127. Shirakami G, Li D, Zhan X, Johns RA: Propofol stimulates ciliary motility via the nitric oxide-cyclic GMP pathway in cultured rat tracheal epithelial cells. *Anesthesiology* 2000; 93: 482-8
128. Silbernagl S, Despopoulos A, .: *Grundlagen, Zellphysiologie, Taschenatlas der Physiologie*, 5. Auflage Edition. Edited by Silbernagl S, Despopoulos A. Stuttgart, 2001, pp 2-41
129. Springer TA: Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu.Rev.Physiol* 1995; 57: 827-72
130. Sprung J, Schuetz SM, Stewart RW, Moravec CS: Effects of ketamine on the contractility of failing and nonfailing human heart muscles in vitro. *Anesthesiology* 1998; 88: 1202-10
131. Steenbergen C, Hill ML, JENNINGS RB: Volume regulation and plasma membrane injury in aerobic, anaerobic, and ischemic myocardium in vitro. Effects of osmotic cell swelling on plasma membrane integrity. *Circ.Res.* 1985; 57: 864-75
132. Stowe DF, Bosnjak ZJ, Kampine JP: Comparison of etomidate, ketamine, midazolam, propofol, and thiopental on function and metabolism of isolated hearts. *Anesth.Analg.* 1992; 74: 547-58
133. Sugawara A, Nakao K, Sakamoto M, Morii N, Yamada T, Itoh H, Shiono S, Imura H: Plasma concentration of atrial natriuretic polypeptide in essential hypertension. *Lancet* 1985; 2: 1426-7
134. Suzer O, Koseoglu S, Senses V: Midazolam is a safe agent by comparison with thiopentone on arrhythmias in ischaemia and reperfusion conditions in isolated perfused rat hearts. *Pharmacol.Res.* 1998; 37: 461-8
135. Suzer O, Suzer A, Aykac Z, Ozuner Z: Direct cardiac effects in isolated perfused rat hearts measured at increasing concentrations of morphine, alfentanil, fentanyl, ketamine, etomidate, thiopentone, midazolam and propofol. *Eur.J.Anaesthesiol.* 1998; 15: 480-5
136. Szekely A, Heindl B, Zahler S, Conzen PF, Becker BF: S(+)-ketamine, but not R(-)-ketamine, reduces postischemic adherence of neutrophils in the coronary system of isolated guinea pig hearts. *Anesth.Analg.* 1999; 88: 1017-24
137. Szekely A, Heindl B, Zahler S, Conzen PF, Becker BF: Nonuniform behavior of intravenous anesthetics on postischemic adhesion of neutrophils in the guinea pig heart. *Anesth.Analg.* 2000; 90: 1293-300

138. Tanabe M, Ueda M, Endo M, Kitajima M: Effect of acute lung injury and coexisting disorders on plasma concentrations of atrial natriuretic peptide. *Crit Care Med.* 1994; 22: 1762-8
139. Tedder TF, Steeber DA, Chen A, Engel P: The selectins: vascular adhesion molecules. *FASEB J.* 1995; 9: 866-73
140. Tiruppathi C, Minshall RD, Paria BC, Vogel SM, Malik AB: Role of Ca²⁺ signaling in the regulation of endothelial permeability. *Vascul.Pharmacol.* 2002; 39: 173-85
141. Traber DL, Wilson RD, Priano LL: Differentiation of the cardiovascular effects of CI-581. *Anesth.Analg.* 1968; 47: 769-78
142. Trantum-Jensen J, Janse MJ, Fiolet WT, Krieger WJ, D'Alnoncourt CN, Durrer D: Tissue osmolality, cell swelling, and reperfusion in acute regional myocardial ischemia in the isolated porcine heart. *Circ.Res.* 1981; 49: 364-81
143. Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, Johnson G, III, Lefer AM: Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 1990; 82: 1402-12
144. Tsao PS, Lefer AM: Time course and mechanism of endothelial dysfunction in isolated ischemic- and hypoxic-perfused rat hearts. *Am.J.Physiol* 1990; 259: H1660-H1666
145. Tucek S, Proska J: Allosteric modulation of muscarinic acetylcholine receptors. *Trends Pharmacol.Sci.* 1995; 16: 205-12
146. Urban BW, Bleckwenn M: Concepts and correlations relevant to general anaesthesia. *Br.J.Anaesth.* 2002; 89: 3-16
147. van Koppen CJ, Kaiser B: Regulation of muscarinic acetylcholine receptor signaling. *Pharmacol.Ther.* 2003; 98: 197-220
148. VanBenthuyzen KM, McMurtry IF, Horwitz LD: Reperfusion after acute coronary occlusion in dogs impairs endothelium-dependent relaxation to acetylcholine and augments contractile reactivity in vitro. *J.Clin.Invest* 1987; 79: 265-74
149. Verrier ED, Boyle EM, Jr.: Endothelial cell injury in cardiovascular surgery. *Ann.Thorac.Surg.* 1996; 62: 915-22
150. Vesely DL, Arnold WC, Winters CJ, Sallman AL, Rico DM: Increased circulating concentration of atrial natriuretic factor in persons with pheochromocytomas. *Clin.Exp.Hypertens.A* 1989; 11: 353-69
151. Vesely DL, Arnold WC, Winters CJ, Sallman AL, Rico DM: Increased circulating concentration of the N-terminus of the atrial natriuretic factor prohormone in persons with pheochromocytomas. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 1990; 71: 1138-46
152. Vesely DL, Chiou S, Douglass MA, McCormick MT, Rodriguez-Paz G, Schocken DD: Atrial natriuretic peptides negatively and positively modulate circulating endothelin in humans. *Metabolism* 1996; 45: 315-9
153. Vesely DL, Winters CJ, Sallman AL: Prohormone atrial natriuretic peptides 1-30 and 31-67 increase in hyperthyroidism and decrease in hypothyroidism. *Am.J.Med.Sci.* 1989; 297: 209-15
154. Voigtlaender J, Heindl B, Becker BF: Transmembrane water influx via aquaporin-1 is inhibited by barbiturates and propofol in red blood cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 2002; 366: 209-17
155. Wagner RC, Chen SC: Transcapillary transport of solute by the endothelial vesicular system: evidence from thin serial section analysis. *Microvasc.Res.* 1991; 42: 139-50

156. Waid DK, Chell M, El Fakahany EE: M(2) and M(4) muscarinic receptor subtypes couple to activation of endothelial nitric oxide synthase. *Pharmacology* 2000; 61: 37-42
157. Wallin RF, Regan BM, Napoli MD, Stern IJ: Sevoflurane: a new inhalational anesthetic agent. *Anesth.Analg.* 1975; 54: 758-66
158. Weidmann P, Hasler L, Gnadinger MP, Lang RE, Uehlinger DE, Shaw S, Rascher W, Reubi FC: Blood levels and renal effects of atrial natriuretic peptide in normal man. *J.Clin.Invest* 1986; 77: 734-42
159. Weng ZC, Nicolosi AC, Detwiler PW, Hsu DT, Schierman SW, Goldstein AH, Spotnitz HM: Effects of crystalloid, blood, and University of Wisconsin perfusates on weight, water content, and left ventricular compliance in an edema-prone, isolated porcine heart model. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 1992; 103: 504-13
160. Wessler I, Kirkpatrick CJ, Racke K: Non-neuronal acetylcholine, a locally acting molecule, widely distributed in biological systems: expression and function in humans. *Pharmacol.Ther.* 1998; 77: 59-79
161. Wiig H, Rubin K, Reed RK: New and active role of the interstitium in control of interstitial fluid pressure: potential therapeutic consequences. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 2003; 47: 111-21
162. Wilhelm DL: *Chemical Mediators, The Inflammatory Process.* Edited by Zweifach BW, Grant L, McCluskey RT. New York, 1973, pp 251-301
163. Williamson JR, Holmberg SW, Chang K, Marvel J, Sutera SP, Needleman P: Mechanisms underlying atriopeptin-induced increases in hematocrit and vascular permeation in rats. *Circ.Res.* 1989; 64: 890-9
164. Winters CJ, Sallman AL, Baker BJ, Meadows J, Rico DM, Vesely DL: The N-terminus and a 4,000-MW peptide from the midportion of the N-terminus of the atrial natriuretic factor pro-hormone each circulate in humans and increase in congestive heart failure. *Circulation* 1989; 80: 438-49
165. Yamamoto S, Kawana S, Miyamoto A, Ohshika H, Namiki A: Propofol-induced depression of cultured rat ventricular myocytes is related to the M2-acetylcholine receptor-NO-cGMP signaling pathway. *Anesthesiology* 1999; 91: 1712-9
166. Yeh DC, Duncan JA, Yamashita S, Michel T: Depalmitoylation of endothelial nitric-oxide synthase by acyl-protein thioesterase 1 is potentiated by Ca(2+)-calmodulin. *J.Biol.Chem.* 1999; 274: 33148-54
167. Yonemaru M, Ishii K, Murad F, Raffin TA: Atriopeptin-induced increases in endothelial cell permeability are associated with elevated cGMP levels. *Am.J.Physiol* 1992; 263: L363-L369
168. Yoo KY, Yang SY, Lee J, Im WM, Jeong CY, Chung SS, Kwak SH: Intracoronary propofol attenuates myocardial but not coronary endothelial dysfunction after brief ischaemia and reperfusion in dogs. *Br.J.Anaesth.* 1999; 82: 90-6
169. Youker KA, Hawkins HK, Kukielka GL, Perrard JL, Michael LH, Ballantyne CM, Smith CW, Entman ML: Molecular evidence for induction of intracellular adhesion molecule-1 in the viable border zone associated with ischemia-reperfusion injury of the dog heart. *Circulation* 1994; 89: 2736-46
170. Zhang Y, Hoover DB: Signaling mechanisms for muscarinic receptor-mediated coronary vasoconstriction in isolated rat hearts. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 2000; 293: 96-106
171. Zsigmond EK, Kelsch RC, Kothary SP: Rise in plasma free-norepinephrine during anesthetic induction with ketamine. *Behav.Neuropsychiatry* 1974; 6: 81-4

172. Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML: Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 1987; 84: 1404-7

8. Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Physiologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität unter Leitung von Herrn Prof. Dr. U. Pohl und in der Klinik für Anästhesie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. K. Peter in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Dr. B.F. Becker durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. U. Pohl danke ich für die freundliche Aufnahme am physiologischen Institut und der Möglichkeit, dort als Doktorand zu arbeiten.

Herrn Prof. Dr. Dr. K. Peter danke ich ebenfalls für die freundliche Aufnahme und für die Möglichkeit, meine klinische Ausbildung an seiner Klinik zu beginnen.

Hr. Prof. Dr. Dr. B.F. Becker gebührt mein besonderer Dank für die Übernahme meiner Promotionsbetreuung und die Überlassung des Themas. Er zeichnete sich durch stete Hilfsbereitschaft aus. Sein ihm eigener Humor und seine Nachsichtigkeit waren für die Fertigstellung dieser Arbeit von großer Bedeutung.

Julia (Fr. Dr. med. Bolz) möchte ich für Ihren unerschöpfbaren Enthusiasmus danken, ihre geduldige Art mich in die Methodik meiner Arbeit einzulernen, für die Diskussionen und die tatkräftige Unterstützung bei der Bewältigung von experimentellen Schwierigkeiten.

Bernhard (Hr. PD Dr. med. Heindl) möchte ich für die Einführung ins Physiologische Institut danken, für die gewissenhafte Betreuung meiner Arbeit und die weitreichende Unterstützung über die Promotionsarbeit hinaus.

Veronika (Fr. Frei) gilt mein besonderer Dank für die unermüdliche Arbeit um diese Promotion herum. Ohne sie wäre der experimentelle Teil nur schwer durchführbar gewesen. Zudem verstand sie es durch ihre natürliche Art die Zusammenarbeit im Labor sehr angenehm zu gestalten.

Ebenso sei Fr. Kiesel für die Durchführung von Analysen gedankt.

Des weiteren bedanke ich mich bei den übrigen Mitarbeitern des Physiologischen Instituts, die mir mit Kritik, Anregungen und freundschaftlichen Gesprächen stets zur Seite standen.

Vielen Dank auch an Henning Janzen für die graphische Umsetzung von Herz, Niere und Gehirn.

Gedankt sei auch meiner Lebensgefährtin Michaela Jenne, die mich seit Anfang meines Studiums begleitet und mir auch in schweren Zeiten den Mut gegeben hat, an mein Ziel zu gelangen.

Zuletzt möchte ich die Gelegenheit nützen und meiner Mutter herzlichst danken: Ohne Ihre seelische und materielle Unterstützung wäre all dies nicht möglich gewesen.

9. Bisherige Veröffentlichungen zu dieser Arbeit

Poster:

Voigtlaender J, **Eiser T**, Heindl B, Becker BF (2001): Transcellular but not paracellular water permeability is inhibited by thiopental.

Plügers Arch – Eur J Physiol 441 (Suppl): R258;

Vortrag:

Eiser T, Voigtlaender J, Heindl B, Becker BF (2001):

Propofol increases the vascular leak induced by ANP in the intact coronary system by stimulating muscarinic receptors.

Basic Res Cardiol 96 (Suppl. 1):I/2

10. Lebenslauf

- Name:** Tim Eiser
- Geboren:** 02. Februar 1975 in Mönchengladbach als Sohn von Uwe Eiser, Steuerberater und Ursula Eiser, geborene Iseke, Steuerbevollmächtigte
- Schulbildung:** 1981-1985 Besuch der Grundschule Happing in Rosenheim
1985-1994 Besuch des Finsterwalder Gymnasiums in Rosenheim
- Studium:** 1996-2003 Studium der Humanmedizin an der Technischen Universität München mit Abschluß durch die Ärztliche Prüfung
- Berufliche Tätigkeit:** Seit Juli 2003 Arzt (im Praktikum) an der Klinik für Anästhesiologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter)