



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### Anesthetic induced cardioprotection: from bench to bedside and retour

Frässdorf, J.

**Publication date**  
2012

[Link to publication](#)

#### **Citation for published version (APA):**

Frässdorf, J. (2012). *Anesthetic induced cardioprotection: from bench to bedside and retour*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam]. Boxpress.

#### **General rights**

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

#### **Disclaimer/Complaints regulations**

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

---

## **Chapter 4: Duitse samenvatting**

**Deutsche Zusammenfassung**

*Jan Fräßdorf*

---

In der hier vorliegenden Arbeit untersuchten wir den Einfluss von Anästhetika auf den myokardialen Ischämie-Reperfusionsschaden. Schwerpunkt ist der Einfluss von Anästhetika auf den myokardialen Schutz durch Präkonditionierung. Neben der Beschreibung, dass Anästhetika eine Kardioprotektion über die Induktion von Präkonditionierung auslösen können, untersuchten wir Teile der zugrunde liegenden Mechanismen

Präkonditionierung wurde erstmals von Murry et al. im Jahr 1986 beschrieben. Kersten et al. zeigten 1997, dass das volatile Anästhetikum Isofluran eine frühe Präkonditionierung induzieren kann. Seitdem konnte gezeigt werden, dass fast alle Anästhetika Kardioprotektion sowohl über den Mechanismus der Präkonditionierung, als auch über die sogenannte Postkonditionierung induzieren. Nicht jedes Medikament welches zur Induktion oder Aufrechterhaltung einer Narkose gebraucht wird, ist in der Lage, Kardioprotektion zu induzieren. Ketamin, insbesondere das R (-)-Enantiomer, blockiert die ischämisch induzierte Präkonditionierung. Lachgas dahingegen hat keine Auswirkung auf Präkonditionierung. Die Wechselwirkungen zwischen Anästhetika und dem Ischämie-Reperfusionsschaden werden im Detail in der Übersichtarbeit in Teil 1 Kapitel 2 diskutiert.

Teil II dieser Arbeit befasst sich mit dem Einfluss von Opioid-Rezeptoren auf die Präkonditionierung. Für experimentelle, selektive Opioid-Rezeptor-Agonisten, konnte gezeigt werden, dass sie frühe und späte Präkonditionierung induzieren. In Kapitel 1/ Teil II haben wir gezeigt, dass das klinische weit verbreitet eingesetzte Opioid Morphin späte Präkonditionierung in Rattenherzen in vivo induziert. Im Gegensatz zu den experimentellen selektiven Substanzen stimuliert Morphin die Opioidrezeptoren unspezifisch. Die Behandlung mit Morphin führt zu einem Anstieg der Phosphorylierung von I $\kappa$ B, ein Enzym das in nicht-phosphoryliertem Zustand den nucleären Transkriptionsfaktor  $\kappa$ B inhibiert. Weiterhin haben wir in dieser Studie auch einen Anstieg der Aktivität des nucleären Transkriptionsfaktors kappaB nachweisen können. Dies deutet darauf hin, dass dieser wichtige Transkriptionsfaktor bei der Morphin induzierten späten Präkonditionierung beteiligt ist. Als positive Kontrolle wurden in dieser Versuchsreihe Experimente mit Lipopolysacchariden (LPS) von Escherichia coli Bakterien durchgeführt. Hierbei haben wir zeigen können, dass die Blockade der Opioid-Rezeptoren mit dem unspezifischen Antagonisten Naloxon während der

---

Triggerphase die LPS induzierte Kardioprotektion aufhebt. Blockade der Opiat-rezeptoren während der Mediator Phase, also kurz vor der langen Ischämie, hatte keinen Einfluss auf die LPS induzierte späte Präkonditionierung. So schlussfolgern wir, dass das endogene Opioid-System zumindest in der LPS induzierten späten Präkonditionierung beteiligt ist.

Mit Entdeckung der Kardioprotektion durch Präkonditionierung wurde intensiv nach dem zugrunde liegenden Mechanismus geforscht. Die Entschlüsselung des Mechanismus ist von größter Bedeutung. Zu verstehen, wie Präkonditionierung das Herz schützt und unter welchen klinischen Umstände diese blockiert wird, öffnet die Möglichkeit, diesen stärksten endogene Protektionsmechanismus auch klinisch einzusetzen. Nach Jahrzehnten intensiver Forschung gibt es noch keine Antwort darauf, welches der End-Effektor der Präkonditionierung ist. Einer der jüngsten Kandidaten ist die mitochondriale permeability transition pore (mPTP). In Teil II Kapitel 2 wollten wir untersuchen, ob die Öffnung des mPTP bei der Morphin induzierten frühen Präkonditionierung beteiligt ist. Während wir die Experimente durchführten, konnten wir allerdings keine Morphin induzierte Präkonditionierung nachweisen. Die Versuche wurden an unserem Langendorff-Modell im L.E.I.C.A (Labor für Experimentelle Anästhesiologie und Intensivmedizin) im AMC in Amsterdam durchgeführt. Parallel dazu wurden Versuche in unserem Labor an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt und hier konnten wir den protektiven Effekt der Morphin induzierten Präkonditionierung nachweisen. Nach intensiven Diskussionen stellten wir fest, dass es einen kleinen Unterschied bei der Zusammenstellung der Krebs-Henseleit-Puffer gab, die in den beiden Laboratorien eingesetzt wurden. Der Amsterdamer Puffer enthält Glutamin, der Düsseldorfer Puffer hingegen nicht. Wir haben daher in weiteren Experimenten untersucht, ob Glutamin die Morphin induzierte Präkonditionierung blockiert. Glutamin, in physiologischen Konzentration dem Krebs-Henseleit-Puffer zugefügt, blockiert tatsächlich die Morphin induzierte Präkonditionierung. Dies zeigt, dass experimentelle Forschung nicht so leicht von einem Labor in das andere zu übertragen ist und damit auch nicht so einfach experimentelle Daten in den klinischen Alltag implementiert werden können.

Lange Zeit galten die ATP-sensitiven Kaliumkanäle als der Endeffektor der Präkonditionierung. Mittlerweile wissen wir, dass dies nur einer der Kanäle ist,

---

welcher in der Signaltransduktion der Präkonditionierung beteiligt ist. Ein weiterer wichtiger Kanal ist der mitochondriale Calcium-sensitive Kaliumkanal (BKCa). In Teil II Kapitel 3 haben wir untersucht, ob dieser Kanal bei der frühen Morphin induzierten Präkonditionierung im Rattenherzen in vitro beteiligt ist. Hier, in der Abwesenheit von Glutamin, konnten wir zeigen, dass BKCa Kanäle in der Morphin induzierte frühen Präkonditionierung involviert sind.

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass das klinisch weit verbreitet eingesetzte Opioid Morphin in der Lage ist die frühe und die späte Präkonditionierung im Rattenherzen zu induzieren. In der Signaltransduktion dieser Kardioprotektion sind Opioid-Rezeptoren nicht nur nach direkter Stimulation durch Morphin, sondern auch, wie im Fall der späten LPS induzierten Präkonditionierung gezeigt, endogene Liganden dieser Rezeptoren beteiligt. Morphin induziert die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NFkB. Dies führt aller Voraussicht nach zu einer de-novo Synthese von Proteinen, was den zeitlichen Verlauf der späten Präkonditionierung erklären könnte. Stromabwärts in der Signaltransduktion ist die Aktivierung von BKCa Kanäle in der frühen Präkonditionierung in vitro beteiligt. Allerdings müssen auch immer die experimentellen Bedingungen berücksichtigt werden, bevor experimentelle Ergebnisse in einen größeren Kontext betrachtet werden.

In Teil III dieser Arbeit werden einige Mechanismen der Narkose induzierten Präkonditionierung diskutiert.

Von radikale Sauerstoff Spezies (ROS) wird angenommen, dass sie Verantwortlich für einen Teil der Schäden durch Reperfusion von ischämischem Myokard sind. In Kapitel 1 von Abschnitt III konnten wir nachweisen, dass zumindest geringe Mengen von ROS eine entscheidende Rolle in der Signaltransduktion der Isofluran induzierte Präkonditionierung spielen.

Neben der direkten myokardialen Schädigung durch die Reperfusion scheinen auch endotheliale Schäden während Ischämie und Reperfusion eine große Rolle zu spielen. Folge dieses Endothelschadens ist, dass Wechselwirkungen zwischen dem Endothel und Blutbestandteilen auftreten. Diese führen zur Anziehung von Leukozyten und zur Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen im geschädigten Gebiet. Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)  $\alpha$  ist eines dieser Zytokine und ein bekannter starker Aktivator der Zelladhäsionsmoleküle (CAM), wie

---

das intrazelluläre Adhäsionsmolekül 1, das vaskuläre Adhäsionsmolekül 1 und E-Selektin. Die Expression dieser CAM wird durch den NFκB reguliert. In Abschnitt III Kapitel 2 testeten wir die Hypothese, dass unterschiedliche Anästhetika wie Xenon, Isofluran, Lachgas und das Analgetikum Morphin in der Lage sind, die TNF-α induzierte Expression dieser CAM in HUVECs in vitro zu blockieren. Alle vier Substanzen blockierten die TNF-α induzierte Expression von intrazellulärem Adhäsionsmolekül 1. Allerdings hat Morphin keinen Einfluss auf die vaskuläre Adhäsionsmolekül 1-Expression. Keine der untersuchten Substanzen hatte einen Einfluss auf E-Selektin. Die Aktivierung von NFκB wurde durch die Vorbehandlung mit Xenon, Isofluran, Lachgas oder Morphin unterdrückt.

Wie oben erwähnt hat das inerte Edelgas Xenon anästhetische Eigenschaften. Xenon könnte das ideale Anästhetikum für Patienten mit einem hohen Risiko für kardiale Komplikationen sein, da es vernachlässigbare hämodynamische Nebenwirkungen hat. In Kapitel 3 Teil III konnten wir zeigen, dass Xenon die späte Präkonditionierung im Rattenherzen in vivo induziert. Die kardioprotektive Wirkung war vergleichbar mit derjenigen, die durch die späte ischämische Präkonditionierung induziert wurde. Als einen Schritt in der Signalkaskade konnten wir die Cyclooxygenase-2 identifizieren. Die funktionelle, pharmakologische Blockade dieses Enzyms führt zu einer kompletten Blockade der Xenon- und Ischämie-induzierten späten Präkonditionierung. Dahingegen konnten wir nur nach ischämischer später Präkonditionierung eine Hochregulierung der Cyclooxygenase-2 auf Messenger RNA- und Protein-Ebene nachweisen. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Signaltransduktion von ischämischer und Xenon induzierter später Präkonditionierung zum Teil unterschiedlich sind.

Wie in Kapitel 2 von Abschnitt III erwähnt ist Lachgas in der Lage, CAM zu blockieren. In Kapitel 4 des gleichen Abschnittes untersuchten wir den Einfluss von Lachgas auf die Präkonditionierung. Lachgas induzierte keine Präkonditionierung in Rattenherzen und ist somit das einzige inhalative Narkosegas ohne die Fähigkeit, diese stärkste endogene Kardioprotektion zu induzieren. Auf der anderen Seite wird die Isofluran induzierte Präkonditionierung und einer der entscheidenden Schritte der Signaltransduktion, die Aktivierung der Proteinkinase C, nicht durch Lachgas gehemmt.

Mit all den experimentellen Beweisen aus anderen Laboratorien und unseren eigenen Forschungsergebnissen haben wir versucht, die vielversprechenden

---

Ergebnisse aus den Tierversuchen in die klinische Umgebung (Teil IV) zu übersetzen. In Kapitel 1 dieses Abschnittes werden die Ergebnisse unserer klinischen Studie beschrieben. Die meisten klinischen Studien zur Präkonditionierung wurden bei Patienten durchgeführt, die sich einer koronaren Bypassoperation (CABG) unterziehen mussten. Hierbei sind die Ergebnisse widersprüchlich (siehe auch Abschnitt I Kapitel 2). Wir testeten zwei verschiedene Präkonditionierungsprotokolle und konnten zeigen, dass das Konzept der Anästhetika induzierten myokardialen Präkonditionierung bei Patienten, die sich einer CABG Operation unterziehen mussten, nachweisbar ist. Unsere Ergebnisse zeigen, dass zwei Stimuli notwendig sind um die Kardioprotektion zu induzieren.

Ausgehend von den Beobachtungen in unserer klinischen Studie wird in Teil V dieser Arbeit die Diskussion erweitert vom gesunden Myokard zu experimentellen Studien an Tieren mit Pathophysiologien, welche die Mechanismen der Präkonditionierung stören können.

Die meisten Untersuchungen wurden bei jungen, gesunden Tieren durchgeführt. Wie oben erwähnt, sind BKCa Kanäle an der Signaltransduktion der Präkonditionierung beteiligt. In Abschnitt V Kapitel 1 haben wir gezeigt, dass das Alter einen Einfluss auf die mitochondriale Atmung aufgrund von Änderungen in der Aktivität von BKCa Kanälen hat.

Diabetes mellitus ist einer der Risikofaktoren für die Entwicklung der koronaren Herzkrankheit. Es ist bekannt, dass Diabetes mellitus Präkonditionierung aufhebt. Der zugrunde liegende Mechanismus ist unklar. In Abschnitt V Kapitel 2 haben wir untersucht, ob ein Diabetes mellitus mit Kinasen die an der Signaltransduktion der Präkonditionierung involviert sind, interagiert. Hier konnten wir bestätigen, dass Diabetes mellitus die ischämische Präkonditionierung aufhebt. Allerdings konnten wir nicht erkennen, dass es zu einer Beeinträchtigung der Phosphorylierung (= Aktivierung) der Mitogen aktivierten Protein Kinasen oder Hitzeschock-Protein 27 nach ischämischen Präkonditionierung in diabetischen Ratten kommt. Daraus schließen wir, dass die Blockade der ischämischen Präkonditionierung durch Diabetes mellitus stromabwärts der Mitogen aktivierten Protein Kinasen und Hitzeschock-Protein 27 in Ratten in vivo stattfindet.

---

Nach Durchsicht der Ergebnisse unserer klinischen Studie in Abschnitt IV Kapitel 1, fragten wir uns selbst, warum wir eine Kardioprotektion in unserer Studie beobachteten konnten und andere Arbeitsgruppen hingegen nicht. Wir identifizierten zwei wesentliche Unterschiede mit den Protokollen der anderen Studien: das Präkonditionierungsprotokoll und die Tatsache, dass unsere Patienten nicht mit Aprotinin behandelt wurden. Wir haben daher in einer tierexperimentellen Studie versucht, zwei Fragen zu beantworten: Welchen Einfluss hat das Präkonditionierungsprotokoll auf die Kardioprotektion und welchen Einfluss hat Aprotinin auf die Präkonditionierung. In Abschnitt V Kapitel 3 sind die Antworten gegeben. Präkonditionierung, ausgelöst durch mehrere Zyklen, führt zu einem stärkeren Schutz. Aprotinin, das bei CABG Operationen verwendet wurde um Blutungen zu verhindern, blockierte vollständig die Anästhetika induzierte Myokardprotektion, unabhängig vom gewählten Präkonditionierungsprotokoll. Darüber hinaus haben wir gezeigt, dass die endotheliale Isoform der Stickstoffmonoxid Synthetase an der Anästhetika induzierten Präkonditionierung beteiligt ist und diese durch Aprotinin blockiert wird.