2. Material und Methoden

2.1 Versuchsaufbau

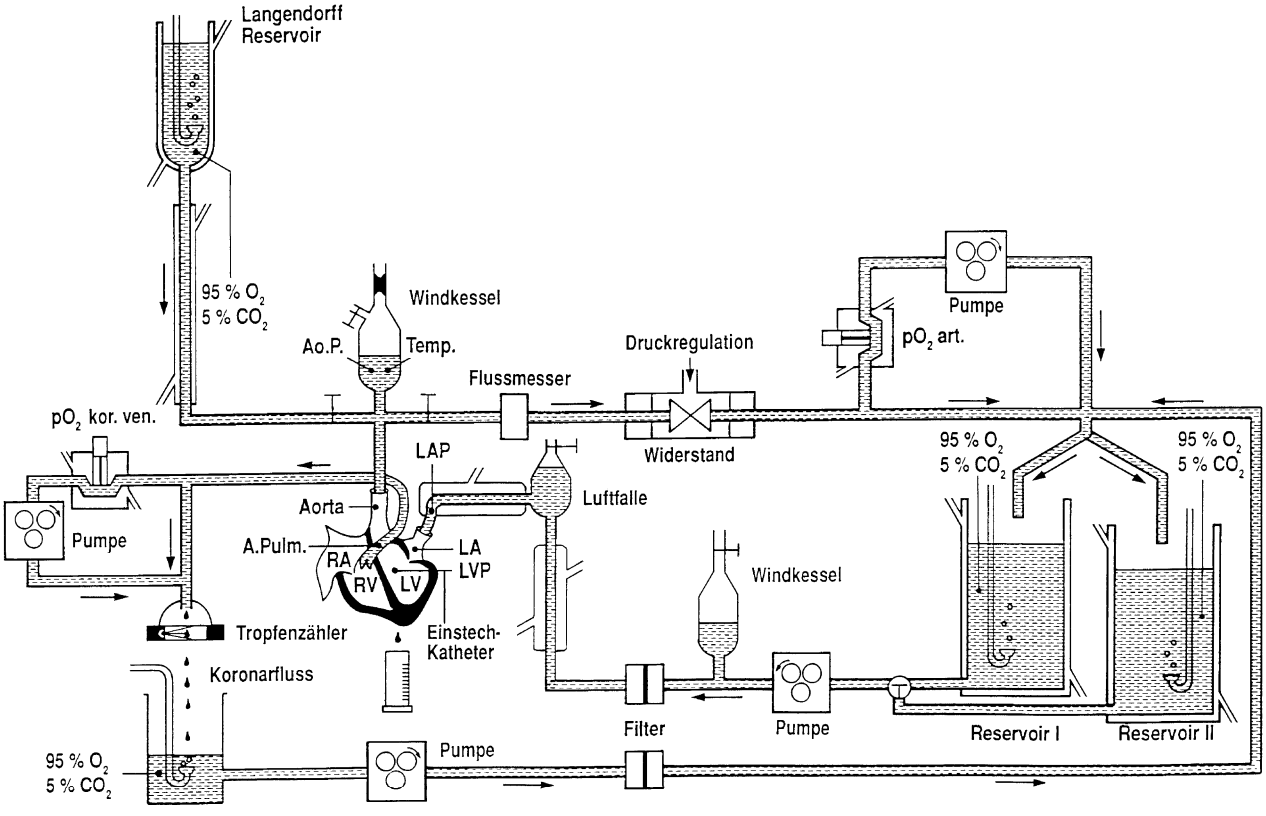
Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen sowie Sprague-Dawley-Ratten aus institutseigener Zucht. Die statistischen Daten der Versuchstiere werden in Tabelle 2.1 wiedergegeben:

Tab. 2.1: Statistische Daten der Versuchstiere

	Tiermasse g Spanne Median	**Herzmasse** mg Mittelwert		**Masse LV** mg Mittelwert		n
		feucht	trocken	feucht	trocken	
Meer-schweinchen	340-460 380	1525,2 ±184,5	266,4 ±68,6	869,2 ±108,6	132,4 ±13,1	49
Ratten	360-395 395	1071,3 ±37,5	207,3 ±22,2	714,7 ±21,1	130,7 ±15,2	3

Der experimentelle Aufbau ist in Abbildung 2.1 dargestellt:

Abb. 2.1: Versuchsaufbau des isoliert arbeitenden Herzpräparats



Der Versuchsaufbau lässt sich in drei Kreisläufe untergliedern:

- Präparationskreislauf (Langendorff-Modus)
- Perfusionskreislauf
- Koronarkreislauf.

2.1.1 Präparationskreislauf

Während der Präparation am Versuchsstand wird das Herz retrograd perfundiert. Dazu ist ein Langendorff-Vorratsgefäß oberhalb der Anlage befestigt, das mit oxygeniertem Perfusat gefüllt ist. Über ein 1 Meter langes Fallrohr gelangt das Perfusat durch einen arteriellen Windkessel in die Aorta, die Koronararterien und retrograd in den linken Ventrikel. Ein manueller Druckregler am oberen Pol des Fallrohres ermöglicht die Regulierung des hydrostatischen Drucks und damit des Aortendrucks.

2.1.2 Perfusionskreislauf

Eine Pumpe fördert das Perfusionsmedium aus dem Reservoir über einen Windkessel, der die Pulsation der Pumpe dämpft, durch einen Filter und eine Luftfalle zum Vorhof des linken Herzens. Die Luftfalle gewährleistet einen luftblasenfreien Flüssigkeitsstrom. Der linke Ventrikel wirft das Perfusat durch die Aortenkanüle in einen Windkessel aus, der die Windkesselfunktion der Aorta übernimmt. Von hier gelangt die Lösung über den Flussmesser und den Widerstand, zur Regelung des Aortendrucks, zurück in das Reservoir.

Ein geringer Teil des Aortenflusses wird durch eine Pumpe abgezogen und an einer Clark-Elektrode zur Bestimmung des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks vorbeigeleitet. Dieser Teil der Lösung gelangt danach in das Vorratsgefäß zurück.

Zwei Reservoire (1 und 2) ermöglichen den schnellen Wechsel des Perfusionsmediums innerhalb eines Versuches.

2.1.3 Koronarkreislauf

Der rechte Ventrikel pumpt das Koronarperfusat durch die Kanüle der Arteria pulmonalis. Von dort fließt die Lösung über einen Tropfenzähler zur Bestimmung der Flussmenge in ein Sammelgefäß ab. Der Tropfenzähler liegt unter Herzniveau, sodass der rechte Ventrikel keine äußere Arbeit leistet. Eine Pumpe leitet das Perfusat vom Sammelgefäß durch einen Filter in das Reservoir zurück. Wie beim arteriellen Kreislauf zweigt auch hier eine Pumpe einen kleinen Teil des Koronarperfusats vorübergehend zur Messung des koronarvenösen Sauerstoffpartialdrucks mittels Clark-Elektrode ab.

2.1.4 Präparation

Nach der standardisierten Kalibrierung der Messgeräte vor jedem Versuch erfolgte die Präparation des Herzens.

Die Versuchstiere wurden initial narkotisiert mit einer intraperitonealen Injektion von 2,0 mg Urethan

pro 100 g Körpermasse bei Ratten und 2,5 mg Urethan pro 100 g Körpermasse bei Meerschweinchen (25%ige Urethanlösung, [$H_2NCO_2C_2H_5$], Fa. Aldrich Chemie). Führte die Dosis nicht zur gewünschten Narkosetiefe, wurden alle drei Minuten weitere Urethandosen von je 2,0 mg verabfolgt, bis die Tiere auf Schmerzreize nicht mehr reagierten.

Bei ausreichender Narkosetiefe wurde als erstes die A. carotis comm. freipräpariert und eröffnet. In die Öffnung wurde ein Katheter für die Gabe von Krebs-Henseleit-Lösung zur Volumensubstitution gelegt. Danach erfolgte die Freilegung der Trachea. Um das Kollabieren der Lungen bei der nachfolgenden Thorakotomie zu vermeiden, wurden die Tiere über einen Tubus in der mittels Tracheotomie eröffneten Trachea beatmet. Der Tubus war mit einer Pumpe (Fa. Rhema-Labortechnik) zur Erzeugung einer Überdruckbeatmung verbunden, an der Pumprate und -volumen reguliert und an die Konstitution des einzelnen Tieres angepasst werden konnten.

Im nächsten Schritt erfolgte die Eröffnung des Thorax mittels Sternotomie. Die folgende intrathorakale Präparation des Herzens begann mit der Eröffnung des Herzbeutels. Danach schloss sich die Darstellung der Aorta, der A. pulmonalis sowie der Vv. cavae sup. et inf. an. Zur schnelleren Orientierung wurde die Aorta mit einem Faden umschlungen. Um Thrombenbildung in den Koronargefäßen und Herzkammern bei der anschließenden Entnahme des Herzens zu vermeiden, wurden 25 I.E. Heparin (Liquemin®, Fa. Hoffmann-La Roche) über den Karotiskatheter injiziert. Unmittelbar vor der Entnahme des Herzens wurde die V. cava sup. ligiert. Sofort danach folgte die Durchtrennung der zu- und abführenden Gefäße des Herzens von kaudal nach kranial und das Herz wurde dem Brustkorb mit Lungen und Mediastinum en bloc entnommen. Durch sofortiges Eintauchen des Herzens in eisgekühlte Krebs-Henseleit-Lösung kam es zur abrupten Beendigung der Herztätigkeit. Nach Resektion der Lungenlappen wurde die Aorta an der Aortenkanüle des Versuchsstandes fixiert und darüber die retrograde Perfusion des Herzens mit einem Druck von 80-100 hPa begonnen (Langendorff 1895). Das führte zu einem sofortigen Wiedereintritt der Herzkontraktion.

Die Ischämiezeit von der Explantation des Herzens bis zur Versorgung über das Langendorff-Gefäß lag bei allen Versuchen unter fünf Minuten.

Über einen Einschnitt in die Pulmonalis-Bifurkation wurde ein Katheter zur Messung der Koronardurchblutung eingeführt und befestigt. Zur anterograden Perfusion des Herzens wurde ein Katheter in den linken Vorhof eingebunden. Die Ligatur der V. cava inf. vollendete die Präparation.

Es wurde die retrograde Perfusion ausschleichend beendet und gleichzeitig die orthograde Perfusion über den Vorhofkatheter mittels zuführender Pumpe behutsam erhöht. Ein Einstech-Katheter wurde von außen durch das Myokard hindurch zur Druckmessung im linken Ventrikel plaziert. Abschließend wurde der Gesamtfluss auf etwa 40 ml/min und der Aortendruck auf 80 mmHg (Meerschweinchen) bzw. 100 mmHg (Ratten) erhöht und während des Versuchs konstant gehalten.

2.2 Versuchschemikalien

Folgende Stoffe wurden für die Versuche herangezogen:

Clonidin 2-(2,6-Dichloroanilin)-2-imidazolin, $C_9H_9Cl_2N_3$, Molekulargewicht 266,6 g/mol
Bezugsquelle: Fa. Boehringer Ingelheim KG, 55216 Ingelheim am Rhein

Histamin 2-(4-Imidazolyl)ethylamin, $C_5H_9N_3$, Molekulargewicht 111,1 g/mol
Bezugsquelle: Fa. Sigma Chemical Co., St. Louis, USA

Ranitidin N-[2-([(5-[(Dimethylamino)methyl]-2-furanyl)methyl]thio)ethyl]-N'-methyl-2-nitro-1,1-ethendiamin, $C_{13}H_{22}N_4O_3S$, Molekulargewicht 350,9 g/mol
Bezugsquelle: Fa. Sigma Chemical Co., St. Louis, USA

Kalzium Calcium-Chlorid-Dihydrat, $CaCl_2 \cdot 2\ H_2O$, Molekulargewicht 147,02 g/mol
Bezugsquelle: Fa. Merck, 64287 Darmstadt

Die Applikation der Substanzen in das Vorratsreservoir erfolgte jeweils über einen Zeitraum von etwa 30 Sekunden. Als Perfusionsmedium diente eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung, die im einzelnen enthielt:

Natriumchlorid	NaCl	118,49	mmol/l
Kaliumchlorid	KCl	4,75	mmol/l
Kaliumpyrogenphosphat	KH_2PO_4	1,19	mmol/l
Magnesiumsulfat	$MgSO_4$	1,19	mmol/l
Kalziumchlorid	$CaCl_2$	2,50	mmol/l
Natriumbicarbonat	$NaHCO_3$	25,00	mmol/l
Glukose	$C_6H_{12}O_6$	10,00	mmol/l
Pyruvat	$C_3O_3H_4$	2,00	mmol/l

Das in der Anlage vorhandene Gesamtvolumen dieser Lösung betrug 500 ml, wobei sich konstant 300 ml in dem jeweiligen Vorratsreservoir befanden und 200 ml zirkulierten.

Unmittelbar vor dem Versuch wurden Glukose und Pyruvat als Substrate für den Stoffwechsel sowie Natriumbicarbonat hinzugefügt. Das Perfusat wurde anschließend mit 95% O_2 und 5% CO_2 äquilibriert. Die Temperatur wurde mit Hilfe eines Wärmeaustauschsystems durch einen temperierten Wassermantel konstant auf 37,0 °C gehalten und kontinuierlich überprüft.

2.3 Versuchsdurchführung

Zur Beurteilung des kontraktilen Status des linken Ventrikels der Herzen wurde bei jedem Herz zunächst die Empfindlichkeit des Frank-Starling-Mechanismus durch stufenförmige Steigerung der Vorlast (durch Erhöhung der Pumpenumdrehungszahl) geprüft. Die Kalziumkonzentration betrug hierbei stets 2,5 mmol/l. Darauf folgten die verschiedenen Versuchsreihen.

Mit Hilfe des regelbaren Widerstands konnte der Aortendruck bei Meerschweinchen bei 80 hPa und bei Ratten bei 100 hPa konstant gehalten werden. Die Druckwerte entsprechen annähernd dem in vivo messbaren mittleren arteriellen Blutdruck. Als Widerstand diente ein mit einem Quecksilber-manometer nach Gauer komprimierter Schlauch (Starling-Widerstand). So blieb der Aortendruck

fast unabhängig von kleineren Schwankungen des Aortenflusses.

Die Messgrößen wurden bei jeder Parameteränderung bzw. Substanzgabe nach Erreichen von "steady-state"-Bedingungen abgelesen und mit schnellem Schreibervorschub (50 mm/s) registriert.

2.4 Messwerte

Die Messdaten wurden jeweils drei Minuten nach Applikation des Wirkstoffs erhoben und fortlaufend protokolliert. Die nachfolgend beschriebenen Messgrößen wurden auf einem Acht-Kanal-Schreiber (Uniscript UD 210, Fa. Schwarzer) registriert (vgl. Abb. 2.2) bzw. von den entsprechenden Messgeräten abgelesen.

Aortendruck (p_{Ao})

Zur Aufnahme des Aortendrucks diente ein Statham-Druckaufnehmer P23Db, dessen Potentiale durch einen Gleichspannungsverstärker verstärkt wurden. Die Druckmessung erfolgte am Boden des Windkessels hinter der Aortenkanüle (vgl. Abb. 2.1). Es wurden sowohl der phasische als auch der über 5 Sekunden gemittelte Wert registriert.

Maßeinheit: $[p_{Ao}] = 1$ hPa = 0,1 kPa = 0,75 mmHg

Linksatrialer Druck (p_{LA})

Der Druck im linken Vorhof wurde ebenfalls mittels eines Statham-Druckaufnehmers P23BB unmittelbar vor der Vorhofkanüle registriert und mit einem Gleichspannungsverstärker verstärkt.

Maßeinheit: $[p_{LA}] = 1$ hPa = 0,75 mmHg

Linksventrikulärer Druck (LVP und LVEDP)

Zur Messung des linksventrikulären Drucks wurde eine Stahlkanüle durch das Myokard hindurch in den linken Ventrikel eingestochen und die Druckänderungen wurden auf einen extrakardialen Katheter-Tip-Manometer übertragen, dessen Druckaufnehmer beweglich unmittelbar neben der Ventrikelwand plaziert war. Auch hier wurden die Signale einem Linearverstärker zugeführt und auf dem Multifunktionsschreiber dargestellt. Dort konnte der linksventrikuläre Druck (LVP) und damit auch der enddiastolische Druck (LVEDP) abgelesen werden.

Maßeinheit: [LVP] = [EDP] = 1 hPa = 0,75 mmHg

Druckveränderungsgeschwindigkeit im linken Ventrikel (LV dp/dt_{max} und LV dp/dt_{min})

Die vom Katheter-Tip-Manometer aufgenommenen Drucksignale wurden einem Differenzier-verstärker zugeleitet und der erste Differentialquotient über der Zeit gebildet. Die Grenzfrequenz des Verstärkers betrug 80 Hz, die zeitliche Verzögerung 2 ms. Der Verlauf wurde ebenfalls auf dem Multifunktionsschreiber protokolliert und abgelesen. Die maximale Druck*anstiegs*geschwin-digkeit (LV dp/dt_{max}) ist ein Parameter für das Kontraktilitätsmaß während der isovolumetrischen

Anspannungsphase. Die maximale Druck*abfalls*geschwindigkeit (LV dp/dt_{min}) dient sinngemäß als ein Maß für die Relaxation des Myokards.

Maßeinheit: $\left[LV\,dp/dt_{max}\right] = \left[LV\,dp/dt_{min}\right] = 1\frac{kPa}{s} = 7{,}5\frac{mmHg}{s}$

Zur Kalibrierung aller Druckaufnehmer wurde ein Quecksilber-Manometer nach Gauer eingesetzt.

Herzfrequenz (HF)

Die Herzfrequenz wurde mit einem Herzratenmeter (Institutswerkstatt) aus dem linksventrikulären Druckpuls ermittelt, digital abgelesen und kontinuierlich aufgezeichnet.

Maßeinheit: [HF] = 1/min

Aortenfluss (FA)

Das aortale Stromvolumen wurde mit Hilfe eines elektromagnetischen Flussmessers (Statham Blood Flowmeter SP2202) gemessen und aufgezeichnet. Die Werte der Flussmessung wurden ebenfalls mit dem Multifunktionsschreiber aufgezeichnet.

Maßeinheit: [FA] = ml/min

Koronarfluss (FC)

Die Bestimmung des koronarvenösen Flussvolumens erfolgte über einen lichtschrankengesteuerten Tropfenzähler (Kühnberg 1986). Die Tropfenzahl wurde in analoge Werte umgewandelt und der Fluss kontinuierlich registriert.

Maßeinheit: [FC] = ml/min

Sauerstoffpartialdrücke (pO_2art und pO_2ven)

Im arteriellen und venösen Perfusat wurde mit Hilfe von Clark-Elektroden kontinuierlich der Sauerstoffpartialdruck gemessen. Mit einem Blood Gas Monitor (Radiometer Copenhagen PHM73) wurde der pO_2-Gehalt der Koronarflüssigkeit registriert. Die Bestimmung des pO_2-Gehaltes der Perfusionslösung in der aortalen Strombahn erfolgte über ein Amperemeter. Bei bekannten Gasanteilen im Perfusat wurden Kalibrierwerte erhoben. Durch in Bezugsetzung der Messwerte zu den Kalibrierwerten wurden zur weiteren Berechnung die Sauerstoffpartialdrücke unter Verwendung folgender Formel in die Einheit Pascal überführt:

$$\text{Gasdruck} = \frac{\text{Luftdruck} - \text{Wasserdampfdruck}}{\text{Gasanteil}/100}$$

$$\left[\text{Gasdruck}\right] = \frac{\text{hPa} - \text{hPa}}{\%/100} = \text{hPa}$$

Temperatur (ϑ)

Die Temperatur der Perfusionslösung wurde mit Hilfe eines Thermostats möglichst konstant auf 37 °C gehalten und mit einer Genauigkeit von ±0,1 °C im Windkessel über der Aortenkanüle gemessen. Die Temperatur schwankte nicht mehr als ±0,2 °C während eines Versuches.

Eine originalgetreue Abbildung aller auf dem Multifunktionsschreiber erfassten Messwerte ist in Abbildung 2.2 dargestellt.

2.5 Versuchsauswertung

Aus den während des Versuchs ermittelten Messwerten konnten folgende Größen berechnet werden:

Aortendruck

Aus der Aufzeichnung des phasischen Aortendrucks wurde der systolische (PS) und der diastolische (PD) Aortendruck abgelesen. Daraus wurde berechnet:

Mittlerer Aortendruck (PM) $$PM = PD + \frac{PS - PD}{3}$$

Mittlerer systolischer Aortendruck (SM) $$SM = \frac{PM + PS}{2}$$

Mittlerer diastolischer Aortendruck (DM) $$DM = \frac{PD + PM}{2}$$

Maßeinheit: [PM] = [SM] = [DM] = hPa

Relaxationszeitkonstante (τ)

Als weiterer Parameter für die Relaxation des linken Ventrikels diente neben LV dp/dt_{min} die Relaxationszeitkonstante τ. Sie ist ein Maß für die Dauer des isovolumetrischen Druckabfalls (Langer et al. 1998).

Maßeinheit: [τ] = ms

Herzzeitvolumen und Schlagvolumen

Mit Hilfe des Aortenflusses (FA) und des Koronarflusses (FC) wurden errechnet:

Herzzeitvolumen (HZV) $HZV = FA + FC$ Maßeinheit: [HZV] = ml/min

Schlagvolumen $$VB = \frac{HZV}{HF}$$ [VB] = ml

Herzleistung

Die Herzarbeit setzt sich zusammen aus der Druck-Volumen-Arbeit und der sogenannten Beschleunigungsarbeit. Da der Anteil der Beschleunigungsarbeit des linken Ventrikels an der Gesamtarbeit nur etwa 1 % beträgt, wurde er bei der Berechnung vernachlässigt. Aufgrund der fehlenden Nachlast des rechten Ventrikels leistete dieser keine Druck-Volumen-Arbeit und wurde inkl. seiner Beschleunigungsarbeit vernachlässigt. Somit bestimmt die Druck-Volumen-Arbeit des linken Ventrikels in dieser Versuchsanordnung die Herzleistung.

Die Berechnung vereinfacht sich auf das Produkt aus Druckdifferenz zwischen systolischem Mitteldruck und enddiastolischem Druck multipliziert mit dem Gesamtfluss pro Minute:

Herzleistung (MP) $MP = HZV \cdot (SM - LVEDP)$

Maßeinheit: $\left[MP\right] = \frac{ml}{min}\left(hPa - hPa\right) = 10^{-4}\frac{J}{min}$

$1\,hPa = 10^{2}\frac{N}{m^{2}}$ $1\,Nm = 1\,J$ $1\,ml = 10^{-3}\,l = 10^{-6}\,m^{3}$

Herzarbeit pro Schlag (BP)

Aus dem Quotienten von Herzleistung (Arbeit pro Minute) und Herzfrequenz wurde die Arbeit pro Schlag definiert:

Arbeit pro Schlag (BP) $BP = \frac{MP}{HF}$

Maßeinheit: $\left[BP\right] = \frac{\frac{J}{min}}{\frac{1}{min}} = J$

Sauerstoffverbrauch (O')

Die Größe des Sauerstoffverbrauchs ergibt sich nach dem Fickschen Prinzip aus der Durchblutungsgröße (Q) und der Differenz der Sauerstoffkonzentration im zufließenden arteriellen und abfließenden venösen Perfusat ($avDO_2$). Der Koronarfluss (FC) entsprach der Durchblutungsgröße.

Nach dem Henry-Dalton-Gesetz ist die Konzentration eines gelösten Gases in einer Flüssigkeit abhängig von dem Gaspartialdruck (p) und den speziellen Löslichkeitseigenschaften, die durch den Bunsen-Löslichkeitskoeffizienten α (Schmidt et al. 1995) charakterisiert sind. Da α auf den einfachen Atmosphärendruck bezogen ist, wurde der Luftdruck in den Nenner eingesetzt. Zur Ermittlung des Sauerstoffverbrauchs ersetzt die arteriell-koronarvenöse Sauerstoffdruckdifferenz ($pO_2art - pO_2ven$) den Gaspartialdruck:

Sauerstoffkonzentration $\left[O_2\right] = \alpha \cdot \frac{p}{Luftdruck}$

α = 0,024 (für Sauerstoff in Wasser bei 37°C)

Sauerstoffkonzentrationsdifferenz $$\left[avDO_2\right] = \alpha \cdot \frac{\left(pO_2art - pO_2ven\right)}{Luftdruck}$$

Sauerstoffverbrauch (O') $$O' = \alpha \cdot FC \cdot \frac{\left(pO_2art - pO_2ven\right)}{Luftdruck}$$

Maßeinheit: $$\left[O'\right] = \frac{ml \cdot (hPa - hPa)}{min \cdot hPa} = \frac{ml}{min}$$

Wirkungsgrad (η)

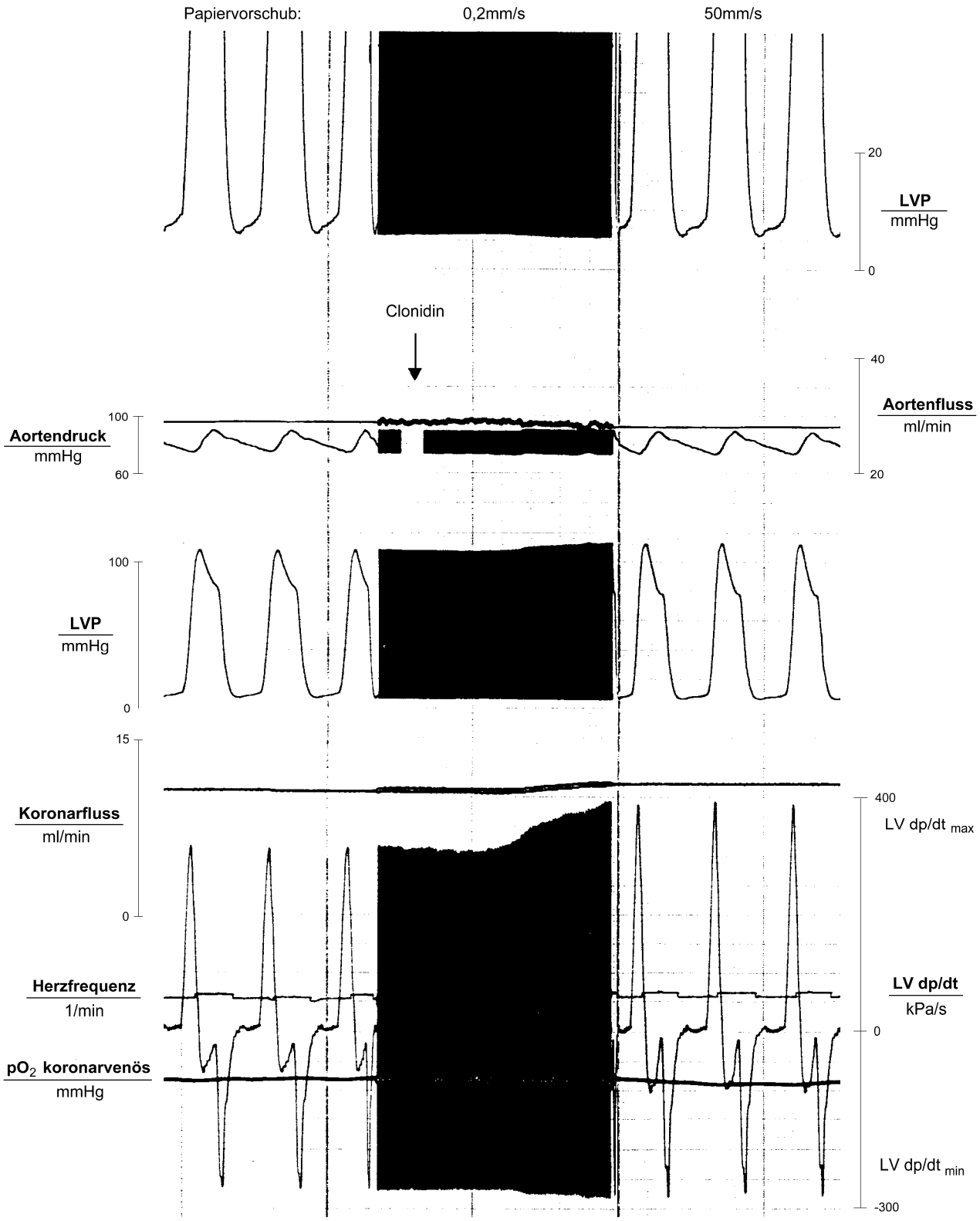
Der Wirkungsgrad berechnete sich aus Herzleistung, dem Sauerstoffverbrauch und dem Energieäquivalent von Glukose zum Sauerstoff. Er ist das Verhältnis von abgegebener zu aufgenommener Energie. Die Herzleistung entspricht der abgegebenen Energie. Die aufgenommene Energie konnte nur aus dem Umsatz von Glukose bzw. Pyruvat mit Sauerstoff stammen und berechnete sich aus dem Produkt von Sauerstoffverbrauch und Glukoseäquivalent:

Wirkungsgrad (η) $$\eta = \frac{E_{ab}}{E_{auf}} \cdot 100\% = \frac{MP}{O' \cdot E_{Gluc}} \cdot 100\%$$

Maßeinheit: $$\left[\eta\right] = \frac{\frac{J}{min}}{\frac{ml}{min} \cdot \frac{J}{min}} \cdot \% = \%$$

Das Energieäquivalent für Glucose E_{Gluc} beträgt 21,1 kJ/l O_2.

Abb. 2.2: Beispiel einer Originalregistrierung der aufgenommenen Messparameter des Acht-Kanal-Schreibers



2.6 Statistik

Als statistische Tests zur Signifikanzprüfung wurde der Student-t-Test für verbundene Stichproben verwendet (Student 1908). Für diesen Test ist eine Normalverteilung der Grundgesamtheiten Voraussetzung. Die Normalverteilung der gemessenen Parameter kann als Erfahrungswert von Untersuchungen mit größeren Stichprobenumfängen als gegeben definiert werden. Zudem ist der t-Test gegenüber Abweichungen der Normalverteilung bemerkenswert robust (Sachs 1978).

Ein signifikanter Anstieg im t-Test wurde an den Kurven in Kap. 3 mit "+" bei $p<0,05$ und mit "++" bei $p<0,01$ und ein signifikanter Abfall mit "-" bei $p<0,05$ und mit "=" bei $p<0,01$ gekennzeichnet.

Für unverbundene Stichproben wurde der U-Test nach Mann und Whitney (1947) verwendet.

Bei den Angaben über die Abweichungen der Mittelwerte wurde der erwartete Mittelwert der Standardabweichung (SEM, standard error of the mean) berechnet und jeweils grafisch bei den Ergebnissen dargestellt.

Einzelwert	x
Anzahl der Beobachtungen	n
Freiheitsgrad der Stichprobe	$v = n - 1$
Summe der Einzelwerte	$\sum X = \sum_{i=1}^{n} x_i$
Arithmetischer Mittelwert (M)	$M = \frac{\sum X}{n}$
Summe der Abweichungsquadrate (S)	$S = \sum X^2 - n \cdot M^2$
Streuung (s^2)	$s^2 = \frac{S}{v}$
Standardabweichung (s)	$s = \sqrt{s^2}$
Standardfehler des Mittelwertes (SEM)	$SEM = \sqrt{\frac{s^2}{n}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$

2.7 Versuchsübersicht

Die vorliegende Arbeit umfasste 6 verschiedene Versuchsgruppen. Die Gruppen wiederum unterteilten sich in die jeweiligen Einzelversuche.

Versuchsgruppe 1

In dieser Versuchsgruppe wurde die kumulative Wirkung von Clonidin bei isoliert arbeitenden Meerschweinchen- und Rattenherzen bei einer Kalziumkonzentration von 2,5 mmol/l im Perfusat untersucht. Dazu wurde Clonidin kumulativ in Einzeldosen alle vier Minuten in sich verdoppelnden Mengen in das Vorratsgefäß appliziert.

Versuchsgruppe 2

In diesen Versuchen sollte an Meerschweinchenherzen die Clonidinwirkung bei reduzierten (1,25 mmol/l) und stark erhöhten (10 mmol/l) Kalziumkonzentrationen im Perfusat untersucht werden. Eine Kalziumkonzentration von 1,25 mmol/l entspricht etwa der physiologischen Konzentration im Serum, da nur etwa die Hälfte des gesamten Kalziums (2,5 mmol/l) physikalisch gelöst und damit wirksam ist. Eine Konzentration von 10 mmol/l Kalzium im Perfusat hingegen kommt einer vollständigen intrazellulären Kalziumsättigung nahe. Die kumulative Applikation von Clonidin erfolgte in gleicher Weise wie in der ersten Versuchsgruppe.

1,25 mmol/l Kalzium: Nach dem initialen Belastungstest mit 2,5 mmol/l Kalzium wurde die Konzentrationsänderung durch Umschalten auf Perfusat mit 1,25 mmol/l Kalizum aus dem zweiten Vorratsgefäß herbeigeführt.

10 mmol/l Kalzium: Auch hier enthielt das Ausgangsperfusat 2,5 mmol/l Kalzium. Durch Zugabe von Kalzium wurde die Konzentration in sechs Stufen von je 1,25 mmol/l alle drei Minuten auf 10 mmol/l erhöht.

Versuchsgruppe 3

Diese Versuchsreihe diente zur Untersuchung des Verhaltens der Meerschweinchenherzen bei Auswaschen des kumulativ applizierten Clonidins. Die Gruppe folgte unmittelbar der Versuchsgruppe 1. Nach Erreichen eines steady state im Anschluss an die letzte Clonidindosis, etwa 15 Minuten, wurde durch Umschalten auf Clonidin-freies Perfusat aus dem zweiten Reservoir das Clonidin aus dem Herzkreislauf entfernt. Die Registrierung der Messparameter erfolgte nach Umschalten 45 Minuten lang.

Versuchsgruppe 4

In dieser Gruppe wurde der Effekt von mehreren aufeinanderfolgenden submaximal wirksamen Einzeldosen Clonidin mit jeweiligem Auswaschen auf Meerschweinchenherzen untersucht. Die Kalziumkonzentration betrug 2,5 mmol/l. Die submaximale Dosis bezieht sich auf die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (LV dp/dt_{max}) und wurde aus den Ergebnissen der Versuchsgruppe 1 ermittelt.

Hier wurde zunächst eine submaximale Dosis von $7{,}2 \cdot 10^{-6}$ mol Clonidin appliziert. Die Messparameter wurden nach drei und fünf Minuten registriert. Daraufhin wurde das Clonidin analog zu Versuchsgruppe 3 ausgewaschen. Nach 30 Minuten erfolgte die Applikation einer erneuten Einzeldosis Clonidin, dann erneutes Auswaschen und schließlich eine letzte Einzeldosis Clonidin.

Versuchsgruppe 5

In dieser Gruppe wurde die kumulative Wirkung von Clonidin auf Meerschweinchenherzen bei einer Temperatur von 31 °C untersucht. Die Kalziumkonzentration betrug 2,5 mmol/l. Nach dem initialen Belastungstest bei 37 °C wurde die Temperatur des Perfusats über einen Zeitraum von ca. 30 Minuten auf 31 °C gesenkt. Nach Erreichen eines steady state wurde mit der Applikation von Clonidin analog zu Versuchsgruppe 1 begonnen.
Außerdem wurde die kumulative Wirkung von Histamin auf Meerschweinchenherzen bei einer Temperatur von 31 °C anhand dreier Einzelversuche untersucht.

Versuchsgruppe 6

In diesen Versuchen sollte der Effekt von submaximal wirksamen Einzeldosen Clonidin (s. Gruppe 4) nach Gabe des H_2-Rezeptoren-Blockers Ranitidin untersucht werden. Ranitidin wurde in Anlehnung an eine parallele Studie (Hübner K, Dissertation in der Arbeitsgruppe) in einer Dosis von 3,2 µmol/l Perfusat appliziert. Im Anschluss an die Einzeldosis Clonidin wurden die Herzen mit Hilfe zweier Schrittmacher-Elektroden an der Vorhof- und der Aortenkanüle mit Rechteckimpulsen stimuliert. Die durchschnittliche Reizstärke betrug 2 V, die Impulsdauer 2 ms. Die eingestellte Herzfrequenz entsprach derjenigen vor Gabe der Clonidin-Dosis.
Als Kontrollversuche dienten zwei Versuche zum Effekt von submaximal wirksamen Einzeldosen Histamin auf Meerschweinchenherzen nach Ranitidin-Block.