

V. Diskussion

V.1. Einleitung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der kardioprotektiven Wirkung von Pyruvat am isolierten Schweineherz-Modell (n=10) unter Okklusion eines Koronararterienastes. Die Bewertung der kardioprotektiven Wirkung von Pyruvat wird anhand von globalen und lokalen funktionellen und biochemischen Parametern am Herzen dargestellt.

Zur Standardisierung des Perfusionsmodells dienten sechs hämoperfundierte Schweineherzen. Anhand dieser Kontrollherzen soll die Stabilität des Systems beurteilt und die experimentelle Brauchbarkeit der Organe im Anschluß an andere Tierversuche dargestellt werden.

Die Hämoperfusion isolierter Organe, insbesondere unter der Verwendung von Schlachttierorganen, kann bei vielen Fragestellungen eine geeignete Ersatzmethode zum Ganztierversuch darstellen. In der Erforschung kardiologischer Fragestellungen wird die Perfusion isolierter Herzen bereits seit Jahren angewendet. Besonders zur Thematik der myokardialen Ischämie sind noch viele Fragen unbeantwortet.

Bei der Betrachtung verschiedener in-vivo und in-vitro Studien zum Thema Infarktgeschehen im Vergleich, bestätigten YTREHUS et al. (1994) in ihren Versuchen ischämisches Preconditioning an in-situ und isoliert perfundierten Kaninchenherzen, daß die Ergebnisse am isolierten Herzen mit den in-vivo-Versuchen vergleichbar sind. Dieses zeigt, dass die Reduzierung von Tierversuchen zu diesem Themengebiet möglich ist.

Die meisten Herzperfusionsen werden immer noch an kleinen Laboratoriumstieren, wie Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen durchgeführt. Diese Tiere werden in Laboratorien speziell für diese Untersuchungen gezüchtet und getötet. Durch die Verwendung von Schlachttierherzen können Experimente an Ganztieren reduziert werden. Der Schlachttierkörper wird anschließend der Lebensmittelgewinnung zugeführt, so dass ethische Bedenken entfallen. Die Organentnahme wird als nicht genehmigungspflichtiger Tierversuch definiert. Dieses ermöglicht auch die Organentnahme von Tieren anderer Arbeitsgruppen im Anschluß eines bereits durchgeführten Tierversuches. Jedoch hat die Gewinnung der Organe am Schlachthof den Vorteil, dass diese in hoher Stückzahl zu bekommen sind. Besonders zu Beginn der Versuche, muß durch mangelnde Übung mit einer hohen Ausfallquote gerechnet werden. Ein weiterer Vorteil sind die geringer anfallenden Kosten. Während bei einem SPF (specific-pathogen-free species)-Versuchsschwein hohe Kosten durch die Pflege und Haltung

entstehen, ist bei einem Schlachtschwein maximal mit der Erstattung der Haut zu rechnen. Das Schweineherz hat zudem im Vergleich zu den Herzen anderer Säugetiere die größte Ähnlichkeit zum menschlichen Herzen. Vor allem Größe, Verteilung der Koronararterien, Ventrikelfunktion und Metabolismus sind dem menschlichen Herzen am ähnlichsten (VERDOUW et al. 1983, BUDRIKIS et al. 1998). Auch der intramurale Verzweigungsmodus, die Versorgung der Papillarmuskeln und das Reizleitungsgewebe (nodal conduction tissue) sind mit dem des Menschen vergleichbar (BROOKS et al. 1975, ECKSTEIN 1954). In der Erforschung der myokardialen Ischämie haben Schweineherzen aufgrund der geringen Kollateralisierung eine besondere Eignung für experimentelle Okklusionsversuche. Durch diese anatomischen und physiologischen Übereinstimmungen zum humanen Herzen sind aufschlussreichere Ergebnisse zu erzielen.

Ein interessanter Gesichtspunkt ist die Relation zwischen Herz- und Körpergewicht. Beim Menschen liegt das Verhältnis bei 5 g/kg Körpergewicht, wohingegen es bei Hunden zweimal so hoch ist. Bei Schweinen mit einem Lebendgewicht von 25-30 kg ist das Verhältnis ähnlich wie beim Menschen (HANSON 1958). Dadurch besteht die Möglichkeit Kathetermaterialien und bildgebende Diagnostikverfahren der Humanmedizin am Schweineherzen anzuwenden.

Das isolierte Schweineherz-Modell bietet noch weitere Vorteile gegenüber dem Ganztierversuch. Durch die freie Zugänglichkeit am Herzen, sowie die Unabhängigkeit neuraler, humoraler und hormoneller Systemeinflüsse, ist ein kontrollierter experimenteller Versuchsablauf möglich. Dieses Modell hat eine besondere Eignung für die Untersuchung der verschiedenen Syndrome der Ischämie, wie dem Stunning, Hibernation und Preconditioning (VERDOUW et al. 1983). Gleichwohl können mögliche Effekte verschiedener Medikamente und Substrate auf die Herzfunktion untersucht werden. Auch der Einfluß elektrischer Impulse und anderer physikalischer Effekte, z.B. nach TMLR (Transmyokardialer Laserrevaskularisierung), sowie die Stoffwechselsituation mittels myokardialer Mikrodialysetechnik können an diesem Modell direkt untersucht werden (STOLTE 2001).

Die Verbesserung der Hämodynamik und der Kontraktilität des Herzens ist das vorherrschende therapeutische Ziel bei akuter Herzinsuffizienz oder akuter Dekompensation bei chronischer Herzinsuffizienz mit geringem Herzzeitvolumen und einer erniedrigten Organperfusion (HERMANN et al. 2004). Für die Wiederherstellung einer adäquaten Gewebsperfusion werden hauptsächlich positiv inotrop wirkende Substanzen, wie die

Katecholamine oder die Phosphodiesterase-Inhibitoren eingesetzt. Viele neue Studien haben sich mit der Auswirkung positiv inotrop wirkender Substanzen wie Dopamin, Dobutamin, Isoproterenol, Epinephrin und Norepinephrin auf das „stunned“ Myokard befasst. Jedoch ist die β -adrenerge Behandlung mit einer Erhöhung der Herzfrequenz und potentiell auftretenden Herzrhythmusstörungen assoziiert. Desweiteren wird angenommen, dass sie eine myokardiale Hyperkontraktion während einer Ischämie und früher Reperfusionsphase verursachen (HORI et al. 1991). Der Einsatz dieser Substanzen geht auf Kosten eines vermehrten ATP-Verbrauches und wird an einem erhöhten Sauerstoff-Bedarf reflektiert (DE TOMBE et al. 1992, SUGA et al. 1990).

Verschiedene Studien haben bereits den positiv inotropen Effekt von Pyruvat an kleinen Laboratoriumstieren gezeigt. Es ist jedoch nicht bekannt, inwiefern diese Ergebnisse an kleinen Labortieren auf das menschliche Myokard übertragbar sind (HERMANN et al. 2002). Dazu eignet sich das isolierte Schweineherz, aufgrund der Größe, des Metabolismus und der Koronararterienverteilung wesentlich, um Schlüsse auf das humane Myokard zu gewinnen. Die vorliegende Arbeit beinhaltet die Untersuchungen zur kardioprotektiven Wirkung von Pyruvat und die Betrachtung des möglichen therapeutischen Potentials während einer myokardialen Ischämie.

V.2. Diskussion der Methode

V.2.1. Organgewinnung und Kardioplegie

Die Organgewinnung am Schlachthof erfolgte nach der Betäubung der Tiere durch Elektroschock und dem Entbluten durch eine Inzision der Vena cava cranialis. Entscheidend bei der Herzentnahme von Schlachttieren ist die Dauer der warmen Ischämie. Dieser Zeitraum ist von großer Bedeutung für die Qualität der Organe und dem Gelingen eines erfolgreichen Perfusionsversuches. Um die Warmischämie möglichst gering zu halten, wird bei der Schlachtung auf den Brühvorgang mit anschließender Entborstung gemäß Fleischhygieneverordnung (FIHV, Anl. 2, Kap. III, 2.2.1) verzichtet. Demnach mussten die Tiere nach der FIHV (Anl.2, Kap. III, 2.2) enthäutet werden. Die entstandenen Kosten durch den Verlust der Haut wurden dem Schlachthof erstattet. Sie liegen aber noch weit unter den Kosten, welche durch den Kauf eines SPF-Schweines anfallen. Die Warmischämiezeit nach

Wegfall des Brühvorganges mit $5,2 \pm 1,1$ Minuten liegt bedeutend unter der von KIMOSE et al. (1990) mit neun und HENZE et al. (1989) mit 10-15 Minuten angegebenen Zeit. Die unter Operationsbedingungen gewonnenen Herzen wurden in der Regel am Ende eines bereits durchgeführten Tierversuches entnommen. Durch die Optimierung der Entnahmetechnik konnte die Phase der warmen Ischämie möglichst gering gehalten werden. Dazu wurde eine in-situ-Perfusion mit einer modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung unter Zusatz von 2,3-Butandion-Monoxim (BDM) vorgenommen (Beginn der Kaltischämie). Ischämiebedingte Organschäden verursachen allerdings immer noch ein funktionelles Defizit, welches die Validität des Modells einschränkt (VON BAEYER et al. 1997). Es nimmt die ischämische Schädigung mit zunehmender Ischämiezeit zunächst langsam und dann steil ansteigend zu. Verschiedene Herzen können nach jeweils identischer Ischämiezeit unter Umständen erheblich unterschiedliche postischämische Erholungszeiten benötigen. Die Beziehung zwischen Ischämiezeit und Ischämieschaden ist von einer Reihe prä- und intranschämischer Faktoren abhängig. So schränken chronische oder auch akute Erkrankungen des Herzens die myokardiale Ischämietoleranz ein, d.h. trotz gleicher Ischämiezeit kommt es zu einem höheren Ischämieschaden und damit auch zu einem höheren postischämischen Erholungsbedarf (GEBHARD 1990).

Die am Schlachthof explandierten Herzen wurden für die Testläufe des Perfusionsaufbaues und der mehrmals vorgenommenen technischen Verbesserungen verwendet. Herzen, die sich nach Kardioplegie in einem erhöhten myokardialen Kontraktionszustand befanden, wiesen nach Reperfusion einen deutlich reduzierten Koronarfluss und eine gestörte Relaxation in der Diastole auf. Solche Herzen fanden keinen Einschluß in die Perfusionsversuche. Dieses spiegelt sich in der Erfolgsquote von 75 % der Herzperfusionen wieder. Der hohe Ausfall der Schlachttierherzen im Vergleich zu den Versuchsschweinen ist hauptsächlich durch die längeren Entnahmezeiten zu begründen. Ob in diesem Zusammenhang auch das Krankheitsgeschehen des Porcinen Stress-Syndroms eine Rolle spielen könnte, müsste in einer gesonderten Studie untersucht werden. Dazu wäre die Messung der klinischen Parameter von Laktat, Kalium, Creatinkinase (CK) und der Aspartat-Amino-Transferase (AST) unabdingbar. In diesem Projekt war die Bestimmung dieser Parameter zur Bestätigung von Risikoschweinen im Hinblick möglicher Kardiomyopathien aber leider nicht möglich.

Auch die Problematik der Perikarditiserkrankungen, die vor allem sehr häufig bei Schlachtschweinen vorkommen, können unter Umständen die Brauchbarkeit der Organe einschränken. Die im Anschluß an andere Versuche gewonnenen Herzen entstammten von SPF-Tieren. Durch die Verwendung dieser Herzen wird zwar diese Problematik

ausgeschaltet, aber sie bergen auch ihre Nachteile. So entstammen die Herzen von anästhesierten Tieren, welche zum Teil einige Stunden narkotisiert und je nach Dauer des Tierversuches erheblichen Belastungen ausgesetzt waren. Nach KIMOSE et al. (1990) ist es ein Nachteil, Herzen von anästhesierten Tieren zu verwenden, da dadurch ein Eingriff in den Metabolismus und der Funktion stattfindet. Auch BRETSCHEIDER et al. (1975) erwähnte die Anästhesie als beeinflussenden Faktor auf die Ischämietoleranz des Herzens. In diesem Zusammenhang bringt PASINI et al. (1999) ebenfalls kritische Aspekte über das hämoperfundierte Herzmodell. Es gibt keine Informationen über den Einfluß der Anästhesie und Heparinisierung auf den Metabolismus und der Hämodynamik. In dem Kapitel: „Diskussion der Ergebnisse der Kontrollherzen“ wird auf dem möglichen Einfluß der Anästhesie näher eingegangen. Nach Untersuchungen von PASINI et al. (1999) am isoliert blutperfundiertem Herzmodell wird durch die Heparinisierung ein signifikanter Anstieg der freien Fettsäuren im Plasma bewirkt. Alle anderen Parameter wie pH-Wert, pO_2 , pCO_2 , Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration werden nicht vom Heparin beeinflusst. Diese Veränderungen beeinflussen den Metabolismus, aber nicht die funktionellen Parameter des isoliert perfundierten Herzen (PASINI et al. 1999).

Die Kardioplegie erfolgte durch eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung unter Zusatz von 2,3-Butandion-Monoxim (BDM). BDM trägt durch eine reversible Desensitivierung des myokardialen kontraktilem Apparates für Calcium (VAHL et al. 1995) zu einer Verbesserung der Ischämietoleranz des Myokards bei. Bisher wurde BDM nur experimentell eingesetzt und es gibt noch keine Zulassung als Arzneimittel. Viele Studien belegen durch den Einsatz von BDM eine Reduktion der Ischämieschäden.

Zu Beginn der Reperfusion – dem Wiedereinsetzen des Koronarflusses - kann sich eine Hyperkontraktur der Myofibrillen und anschließend eine Cytolyse der Myokardzellen entwickeln. Das Phänomen dieser Zellschädigung beruht auf der Re-Energetisierung der Myokardzelle und wird auch als „oxygen paradox“ bezeichnet (SCHLÜTER et al. 1991). Durch den Zusatz von BDM (2,3-Butandion-Monoxim) zur Kardioplegie-Lösung kann dieses Phänomen verhindert werden. Dieses konnten SIEGMUND et al. (1991) an isoliert perfundierten Rattenherzen darstellen. Die Anwesenheit von BDM während der initialen Reperfusionsphase bzw. der Reoxygenierung hat einen schützenden Effekt durch die Blockierung des kontraktilem Apparates während der verwundbaren Phase.

V.2.2. Vermeidung von Reperfusionsschäden am isolierten Schweineherzen

Um die Reperfusionsschäden zu minimieren, wurde das gewonnene Vollblut mittels hocheffizientem Filter (PALL-RC 400 KLE, PALL GmbH Biomedizin) von den Leukozyten getrennt. Ebenfalls werden Thrombozyten und andere Mikroaggregate aus dem Blut entfernt. Es wird angenommen, dass aktivierte neutrophile Leukozyten durch die Erzeugung von chemotaktischen Substanzen zur „Reperfusion Injury“ beitragen und einen Verschluss der Mikrozirkulation hervorrufen. Während der Reperfusion antworten die neutrophilen Leukozyten auf diese chemotaktischen Signale und treten in hoher Zahl ins Myokard ein (BREDA et al.1989). Die chemotaktisch wirksamen Faktoren sind äußerst zahlreich und können hier nur zu einem kleinen Teil aufgezählt werden: Sie stammen von verletzten Blutgefäßen (Prostaglandine, Leukotrien B₄), aus Thrombozyten (platelet activating factor) und aus der Komplementkaskade (Proteine C3 und C5), einschließlich die Superoxid-Produktion durch die Xanthin-Oxidase (BOLLING et al.1997, BREDA et al.1989, KLINKE und SILBERNAGL 1996). Durch den Gebrauch von Leukozytenfiltern ist es möglich, Reoxygenierungsschäden zu minimieren, da Leukozyten eine primäre Quelle von Sauerstoffradikalen darstellen. Diese senken den Calciumtransport des sarkoplasmatischen Retikulums und die calciumstimulierte, magnesiumabhängige ATP-Aktivität signifikant. Versuche zeigten, dass durch die Entfernung der Leukozyten eine Verbesserung der systolischen Funktion und der diastolischen Compliance möglich ist (BOLLING et al. 1997) und die Recovery der postischämischen Kontraktilität gesteigert werden konnte (WESTLIN und MULLANE 1989).

V.2.3. Problematik der myokardialen Ödementstehung

Im Perfusionsverlauf der sechs Kontrollherzen war die Zunahme des Organgewichtes von $178,83 \pm 12,13$ g auf $247,67 \pm 25,62$ g signifikant. Auch die 10 Versuchsherzen entwickelten während des Versuchsverlaufes eine signifikante Gewichtszunahme von $170,70 \pm 6,76$ g auf $255,30 \pm 13,18$ g. Ob die Ödementstehung bedingt durch die Organschädigung in der Phase der Warmischämie oder durch den Reperfusionsvorgang entstanden ist, kann hier nicht beantwortet werden. Ein Faktor der an der Entstehung des interstitiellen Ödems beteiligt ist, ist die Verwendung von hypotonen Perfusionslösungen. Durch das Fehlen von Proteinen im Perfusat ist der kolloidosmotische Druck reduziert. Versuche von MODERSOHN et al.

(2001) zeigten nach Anreicherung des Perfusates mit Humanalbumin eine geringere Ödembildung, aber auch eine extreme Schaumbildung, welche den Versuchsablauf behinderte. Außerdem würden durch den Einsatz von Humanalbumin sehr hohe Kosten entstehen. Hier besteht in Zukunft noch Handlungsbedarf, ob zum Perfusat eine größere Menge Blut hinzugesetzt werden sollte. Zudem wird das myokardiale Ödem durch einen erhöhten Perfusionsdruck forciert. BUCKBERG (1987) empfiehlt deshalb nur einen geringen Perfusionsdruck (CPP) um 50-80 mmHg (6,65-10,64 kPa) zu wählen, um das Reperfusionsodem zu minimieren. Wobei aber auch niedrigere Ventrikeldrücke in Kauf genommen werden müssen. Bei Langzeitperfusionen führt die ödematöse Schwellung im Verlauf der Versuche zu einem Anstieg des CPP, welcher durch die Regulation des Blutflusses auf einen physiologischen Druck, um 100 mmHg (13,3 kPa), korrigiert werden konnte.

V.2.4. Präparation und Anschluß des Herzens an die Perfusionsapparatur

Vor Beginn der Präparation erfolgte die Beurteilung der Qualität der explantierten Herzen. Die myokardiale Beschaffenheit sollte eine weiche Konsistenz aufweisen, die Herzoberfläche unverletzt, frei von Verwachsungen und Fibrinauflagerungen (Hinweis auf Pericarditis-Erkrankungen) und die Koronargefäße frei von Blut sein. Die Herzen, die sich nach der Kardioplegie in einem erhöhten Kontraktionszustand befanden („stone heart“), wurden von der Perfusion ausgeschlossen. Das „stone heart“-Syndrom beruht auf der Interaktion zwischen Proteinen der dicken und dünnen Filamente, welche sogenannte Rigor-Komplexe ausbilden. Verursacht wird dieser irreversible Zustand durch den ATP-Abfall auf einen kritischen Wert. Die Präparation des Herzens sollte unter Luftabschluß in der Kardioplegie-Lösung erfolgen, um mögliche Luftembolien in den Koronargefäßen zu vermeiden. Ebenfalls kann nur dadurch eine homogene Kardioplegie gewährleistet werden.

Die Perfusion des Herzens erfolgt nach dem Prinzip der Langendorff-Präparation, indem ein Konus in die Aortenwurzel eingebunden wird. Die sorgfältige Präparation der Aorta ist von entscheidender Bedeutung für den erfolgreichen Anschluß an die Perfusionsapparatur. Bei zwei Herzen war der Aortenabriß der Grund für einen Versuchsabbruch. Hier muss in Zukunft noch eine Verbesserung des verwendeten Materials zur Fixation der Aorta stattfinden. Die Methode der separaten Kanülierung der drei großen Koronararterienäste (A.cor.dextra, RCX und RIVA der A.cor.sinistra) wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen

durchgeführt. Der Vorteil in dieser Methode liegt vor allem in der Variierbarkeit des regionalen Blutflusses.

V.2.5. Reanimation

Die Reanimation der Herzen wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst: Dem kritischen ATP-Gehalt, dem pH-Wert, der Temperatur (35-37° C), physiologische Elektrolyt- und Säure-Basen-Balance und eine genügende Blut- und Sauerstoffzufuhr bei einem moderaten koronaren Perfusionsdruck(CPP) (BRETSCHEIDER 1975). In diesen Versuchen wurde der Reperfusionvorgang mit einem niedrigen CPP von maximal 50-60 mmHg (6,65-7,98 kPa) begonnen. Erst nach einigen Herzzyklen wurde der CPP kontinuierlich auf 100 ± 20 mmHg erhöht. Dieses Verfahren hat sich nach EDDICKS (2004) an mehr als 120 Hämoperfusionsuntersuchungen am isolierten Schweineherzen bewährt. Nach der Kardioplegie und dem Anschluß des Herzens an die Perfusionsapparatur ist die spontane Aufwärmung des primär abgekühlten Organs von entscheidender Bedeutung. Die Erwärmung sollte möglichst exponentiell und nicht linear verlaufen (GEBHARD 1990).

Die Herzen wurde mit 10-40 Joule defibrilliert. Es waren durchschnittlich zwischen zwei und 10 Defibrillationen zur Reanimation erforderlich. Nach KIMOSE et al. (1990) wurden die Herzen konsequent nach 10-minütiger Reperfusion defibrilliert. Die hier auftretenden Reperfusionsarrhythmien wurden medikamentös beeinflusst. Im Allgemeinen erreichten alle im Versuch verwendeten Herzen nach ca. 15-20 Minuten eine regelmäßige Herzrhythmickeit.

Nach einer initialen Anpassungsphase von 30 Minuten an das Perfusionssystem wurde mit der Datenerhebung begonnen. Nach VERDOUW et al. (1998) sollte eine Datenerhebung erst nach 20-30 Minuten Perfusionsdauer erfolgen, da nach diesem Zeitraum davon ausgegangen werden darf, dass die Phase der reaktiven Hyperämie abgeschlossen ist.

V.3. Diskussion der Ergebnisse

V.3.1. Beurteilung der Stabilität des Systems

Zur Beurteilung der Stabilität des Systems geben VERDOUW et al. (1998) die Parameter, Herzfrequenz, entwickelter Druck und den Blutfluß an. Verabreichte Anästhetika haben mögliche Nebenwirkungen auf das Herz-Kreislaufsystem der Tiere. Diese können die Nutzung der Herzen im Anschluß eines Tierversuches einschränken. Hier werden die Ergebnisse von sechs Kontrollherzen diskutiert, welche im Anschluß eines Tierversuches entnommen und über einen Zeitraum von 60 Minuten perfundiert wurden.

V.3.1.1. Hämodynamik und mechanische Herzfunktion der Kontrollherzen

In den sechs isoliert hämoperfundierten Schweineherzen betrug der gesamte koronare Blutfluss pro 100g (CBF_{100g}) Herzmasse $158,40 \pm 2,33$ ml/min bei einem mittleren koronaren Perfusionsdruck (CPP) von $91,78 \pm 1,27$ mmHg. Der CBF_{100g} liegt deutlich über den von SCHEUNERT u. TRAUTMANN (1987) angegebenen Referenzwerten. Der mittlere CPP liegt zu jedem Messzeitpunkt innerhalb des Referenzwertes von 80-120 mmHg (10,64-15,96 kPa).

Nach dem Anschluß der Herzen an die Perfusionsapparatur und einer Anpassungsphase begann die Erhebung der Messdaten. Die Herzfrequenz (HR) betrug während der Perfusion durchschnittlich $124,28 \pm 1,74$ Herzschläge pro Minute. Die Herzfrequenzen zeigten keine signifikanten Abweichungen während der 60-minütigen Perfusion. Jedoch in der 60. Minute sank die HR signifikant auf einen Wert von $108,17 \pm 6,96$ Schläge pro Minute durch zuweilen auftretende Arrhythmien. Die physiologische Herzfrequenz liegt beim ausgewachsenen Schwein in vivo zwischen 70 und 90 Herzschlägen pro Minute. Die vom physiologischen Bereich abweichende Herzfrequenz ist beim isolierten Herzen durch die fehlende nervale und humorale Steuerung zu begründen.

Die linke Ventrikelfunktion wurde mittels isovolumetrischer Druckmessung bestimmt. Diese Methode ist bei der Untersuchung der mechanischen Funktion des linken Ventrikels in isolierten Tiermodellen weit verbreitet (KLOOKER et al. 1982, GUTH et al. 1984). Während der 60-minütigen Perfusion konnte ein durchschnittlicher linker systolischer Ventrikeldruck (LVP_{max}) von $96,64 \pm 2,32$ mmHg erreicht werden. Damit liegt der gemessene Wert unterhalb

des von SCHEUNERT und TRAUTMANN (1987) angegebenen Druckes von 130-170 mmHg. Hier muß, wie bei der Herzfrequenz berücksichtigt werden, dass die Herzen keiner humoralen oder nervalen Steuerung unterliegen (SAMAJA et al. 1999), welche in vivo die Druckentwicklung nach dem jeweiligen Bedarf reguliert. Innerhalb des Perfusionsverlaufes war der linke systolische Ventrikeldruck stabil und wies keinen signifikanten Druckunterschied während der Messzeitpunkte auf. In Versuchen von KIMOSE et al. (1990) war der entwickelte linke Ventrikeldruck bei einem konstanten Wert ebenfalls stabil während der gesamten Reperfusionphase. Diese Ergebnisse differieren von Versuchen anderer Perfusionen. Es nahm der entwickelte Druck während Langzeitkontrollperfusionen stetig ab. Dadurch ist es erschwert, während der Reperfusion Effekte von Medikamenten oder Substraten auf die linke Ventrikelfunktion zu testen (DOBBS et al. 1983, KIMOSE et al. 1990).

Der linke enddiastolische Ventrikeldruck (LVEDP) mit einem durchschnittlichen gemessenen Wert von $19,53 \pm 0,78$ mmHg, zeigte keine signifikanten Druckunterschiede im Verlauf der Perfusion. Im Vergleich zu in-vivo Modellen ist der Ventrikeldruck in isoliert perfundierten Herzen niedriger. In in-vivo-Experimenten lag der diastolische Druck bei 70-85 mmHg (VERDOUW et al. 1998). Keinen Anstieg des linken enddiastolischen Ventrikeldruckes oder Abnahme des totalen myokardialen Blutflusses zeigen, dass keine Schäden während der Reperfusion entstanden sind (KIMOSE et al. 1990). Ein Faktor der die diastolischen Eigenschaften des linken Ventrikels beeinträchtigt, ist das myokardiale Ödem. Das Ödem verursacht einen Anstieg des extravaskulären Widerstandes und eine Reduktion der ventrikulären Compliance (POGATSA et al. 1976).

Es konnte bereits durch GROSSE-SIESTRUP et al. (2002) belegt werden, dass der entwickelte Druck in diesem Modell allgemein niedriger ist als unter in-vivo-Bedingungen, aber über den Versuchszeitraum vergleichbare Reaktionen zeigt wie im Ganztier. Die in den sechs Kontrollherzen gewonnenen Daten zur mechanischen Herzfunktion weisen über den 60-minütigen Perfusionsverlauf Stabilität auf. Die Anästhetika haben auf die gewonnenen Organe keinen signifikanten Einfluß, jedoch sollten nach EDDICKS (2004) im Vorfeld Pharmaka mit geringem Einfluß auf die Herzfunktion gewählt werden.

V.3.1.2. Die Stoffwechsellage der Kontrollherzen

Durch die Anreicherung des Dialysates mit Sauerstoff konnte während der 60-minütigen Perfusion der sechs Kontrollherzen ein durchschnittlicher Sauerstoffpartialdruck (pO_2) von $337,51 \pm 13,40$ mmHg ($44,89 \pm 1,78$ kPa) im arteriellen Schenkel erreicht werden. Dieser über dem arteriellen Referenzwert (100-200 mmHg / 13,3-26,6 kPa) liegende pO_2 soll den Folgen der ischämischen Organschädigung entgegen wirken (VON BAEYER et al. 1997).

Unter der Verwendung von Tyrode-Lösung als Dialysat, wie sie in diesen Versuchen eingesetzt wurde, ist das Eiweißdefizit und eine Anämie weniger ausgeprägt. Dieses zeigte die Methode VON BAEYER et al. (1997), der Ex-vivo-Vollblut-Perfusion isolierter Warmblüterorgane, dass die Blutzusammensetzung besser den Kontrolldaten entsprach.

Ein Indikator der Zellschädigung ist der Kalium-Gehalt im Perfusat. Kalium kommt unter physiologischen Verhältnissen zu 98% intrazellulär vor. Ein Anstieg des Kalium-Gehaltes würde auf eine Zerstörung von Zellen, den Myokardzellen oder Erythrozyten hindeuten.

Während der 60-minütigen Perfusion wurde ein durchschnittlicher Kalium-Gehalt von $3,75 \pm 0,03$ mMol/l im arteriellen Perfusat gemessen. Damit liegt der Kalium-Gehalt unter dem angegebenen Referenzwert von 4,4-6,5 mMol/l. Dieser ist durch die Verdünnung des Blutes mit dem Perfusat zu erklären, belegt aber eine ausreichende Perfusion des Herzens in diesem Zeitraum.

V.3.2. Beurteilung der Ergebnisse am isolierten Schweineherzen unter Pyruvateinfluß

V.3.2.1. Wann liegt die PDH in aktivierter Form vor?

Pyruvat treibt seine eigene Oxidation durch die direkte Aktivierung des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes an. Die physiologische arterielle Konzentration von Pyruvat liegt zwischen 0,2 und 1,1 mMol (PANCHAL et al. 2000). Der dosisabhängige kardioprotektive Effekt von Pyruvat ist jedoch bisher unbekannt. In dieser Arbeit wurde eine Konzentration von 5 mMol Pyruvat gewählt. Diese Konzentration mit dem größtmöglichen Effekt wurde in etlichen Vorversuchen ermittelt. Bereits veröffentlichte Studien über die Anwendung einer überphysiologischen Konzentration von Pyruvat (BÜNGER et al. 1986, SCHOLZ et al. 1995, MONGAN et al. 1999) berichteten von einem positiven funktionellen und/oder metabolischen Effekt zwischen 2 und 10 mMol Pyruvat. Die überphysiologischen Konzentrationen von Pyruvat lassen den entwickelten linken Ventrikeldruck ansteigen. Dieser Effekt hat nach MALLET (2000) sein Plateau bei einer Konzentration von 5-10 mMol Pyruvat und es konnte bewiesen werden, dass beim Vorliegen dieser Konzentrationen von Pyruvat, der Pyruvat-Dehydrogenase-Enzymkomplex in aktivierter Form vorliegt. Auch DENNIS et al. (1979) zeigten in einer Studie, dass die PDH bei einer Konzentration von 0-1 mMol Pyruvat inaktiviert ist, während bei einer Konzentration von 1-10 mMol die PDH in aktivierter Form vorlag. Die höchsten Aktivitäten der PDH wurden bei einer Konzentration zwischen 3,9 und 9,3 mMol Pyruvat gefunden. Vor allem bei einer Konzentration von 9,3 mMol im Perfusionsmedium war die PDH zu 98 % aktiviert. Eine Konzentration von 10 mMol Pyruvat verwendeten HERMANN et al. in Versuchen mit Myokardzellen von Kaninchen (2000) und in menschlichen Myokardzellen (2002). Die Anwendung dieser hohen Pyruvat-Konzentration birgt jedoch die Gefahr einer Hyperosmolarität der Myokardzellen.

V.3.2.2. Beurteilung der globalen und lokalen mechanischen Herzfunktion während der präischämischen Versuchsphase

In der präischämischen Versuchsphase konnten keine signifikanten Veränderungen der mechanischen Funktionsparameter beobachtet werden. Zum Kontrollzeitpunkt wurde ein LVP_{\max} von $89,40 \pm 9,06$ mmHg gemessen. Unter normothermer Hämoperfusion und dem Zusatz von 5 mMol/l Pyruvat zum Dialysat stieg der LVP_{\max} auf $92,70 \pm 10,99$ mmHg nicht

signifikant an. Ebenfalls weist der LVP_{dev} keine signifikante Druckänderung unter dem Zusatz von Pyruvat auf. Entgegen den Beobachtungen anderer Studien, welche von einer Verbesserung der Kontraktilität auch im nicht ischämischen Myokard berichten. Diese in-vivo-Experimente führte MENTZER et al. (1989) an anästhesierten Hunden durch. Auch LIEDTKE und NELLIS (1978) bestätigten, dass Pyruvat in überphysiologischen Konzentrationen, einen positiven inotropen Effekt im normalen und postischämischen Myokard ausübt. Der Zusatz von Pyruvat vor einer Ischämie lässt zwar die aktivierte Form der PDH ansteigen, hat aber nach SAIKI et al. (1998) keinerlei Einfluß auf die gemessenen funktionellen Parameter.

Die Beurteilung der regionalen myokardialen Funktion erfolgte durch Messungen des intramyokardialen Druckes (IMP) und der Wanddickenänderung (Wth). Es wurde bereits durch EDDICKS (2004) gezeigt, dass eine regionale Differenzierung der mechanischen Funktion an einem isolierten Herzen möglich ist. Der IMP wurde durch den Einsatz eines Mikro-Tipmanometers ins mittlere Myokard in zwei verschiedenen Regionen, dem Versorgungsgebiet des RIVA (IMP1) und in der Kontrollregion des RCX (IMP2) aufgezeichnet. Nach der Applikation von Pyruvat unterlagen IMP1 und IMP2 in der präischämischen Versuchsphase keinen signifikanten Veränderungen.

Die prozentuale Wanddickenänderung im Versorgungsgebiet des RIVA (Wth1) und in der Kontrollregion (Wth2) zeigten keine signifikanten Veränderungen unter der Applikation von Pyruvat auf. Ebenfalls unterlag der Flächeninhalt der Druck-Weg-Schleife (loop) aus Wanddickenänderung und Ventrikeldruck im Versorgungsgebiet des RIVA keiner Signifikanz. Entgegen den Untersuchungen von MENTZER et al. (1989), er berichtet von einer signifikanten Zunahme der Wanddicke nach Infusion von Pyruvat in der präischämischen Versuchsphase. Diese Zunahme ist reversibel, nachdem die 20-minütige Infusion von Pyruvat beendet wurde.

V.3.2.3. Ischämieinduktion infolge Okklusion des RIVA

Die Okklusion des RIVA mittels Ligatur bewirkte eine signifikante Abnahme der Druckamplitude im linken Ventrikel. Ein Nachteil dieser einfach durchzuführenden Okklusionstechnik mittels Ligatur des RIVA besteht in der mangelhaften Steuerbarkeit der Okklusionsstärke und damit eine schwierige Standardisierung für die Induktion subkritischer Stenosen (EDDICKS 2004).

Die Fläche der Druck-Weg-Schleife (loop) verringerte sich signifikant ($p = 0,005$) während der Okklusion des RIVA. Ebenfalls sind die Druckamplituden des linken Ventrikels signifikant reduziert. Ein weiteres Kriterium der erfolgten Okklusion ist der drastische Anstieg des koronaren Perfusionsdruckes (CPP). Der CPP wurde sofort wieder über den Blutfluß auf 100 mmHg (13,3 kPa) korrigiert. Die 15-minütige Okklusion führte zu reversiblen Myokardschäden – dem „stunned“ Myokard im Versorgungsgebiet des RIVA. Die mechanische Funktionsstörung wird durch die Abnahme des ATP-Spiegels verursacht und es kommt zur Akkumulation von Protonen im Gewebe. Ebenso wird durch den Mangel an ATP und den Anstieg von AMP der Stoffwechsel der Membranphospholipide gestört. Daraus resultiert eine Akkumulation von freien Fettsäuren und Acetyl-CoA, welche eine Störung der Zellmembran erzeugen, die dann zu der mechanischen Dysfunktion führt.

Während der RIVA-Okklusion verminderte sich die regionale Kontraktilität in der ischämischen Region (IMP_{sys}) signifikant ($p = 0,005$) von $81,4 \pm 10,2$ mmHg auf $43,5 \pm 7,5$ mmHg. HOBBAHN et al. (1989) beziehen die Verschlechterung der regionalen Funktion in ihre Definition einer „kritischen Stenose“ ein. Die infolge der Okklusion des RIVA auftretende Ischämie im Versorgungsgebiet ist, im Gegensatz zur globalen Ischämie, die unter dem Schutz der Kardioplegie-Lösung stattfand, eine „ungeschützte Ischämie“. Diese wird von KRUKENKAMP als „schwere Ischämie“ bezeichnet, die sich durch metabolische Veränderungen und schwere mechanische Depression äußert (KRUKENKAMP 1993). Nach VERDOUW et al. (1983) ist nach der Ligatur einer Koronararterie ein Anstieg von H^+ , K^+ , Laktat und ATP-Kataboliten zu verzeichnen.

Innerhalb weniger Sekunden nach Reduktion des Blutflusses verringerte sich die Wanddicke ($Wth1\%$) in der ischämischen Region signifikant ($p = 0,005$). Dieses konnten auch VERDOUW et al. (1983) bestätigen. Nach Reduktion des Blutflusses in Schweineherzen nahm die myokardiale Wanddicke innerhalb weniger Sekunden ab. In einer in-vitro Studie bestätigten MENTZER et al. (1989) ebenfalls, dass die regionale Wanddicke im Versorgungsgebiet des RIVA nach Okklusion signifikant reduziert ist und ein Indikator des „stunned“ Myokards darstellt.

Der IMP_{2sys} und $Wth2\%$ in den nichtischämischen Kontrollarealen zeigten sich durch die Phase der Okklusion weniger beeinträchtigt. In den Kontrollarealen beider Parameter war keine signifikante Reduktion nachweisbar.

V.3.2.4. Die „Recovery“ – Wiederherstellen der Herzfunktion nach einer Ischämie

Nach Aufhebung der Okklusion des RIVA werden die präischämischen Ausgangswerte nach 15-minütiger Reperfusion nicht erreicht. Diese postischämische myokardiale Dysfunktion bei normalem Blutfluß wird, wie oben bereits erwähnt, als „stunning“ bezeichnet. Das Hauptcharakteristikum dieser funktionellen Verschlechterung liegt in der Reversibilität und der unbeeinträchtigten zellulären Integrität. Die Zeit für eine funktionelle Erholung nach der Okklusion einer Koronararterie kann zwischen Minuten und Tagen oder Wochen variieren (HEYNDRICKX et al. 1975). Die Mechanismen, welche zum myokardialen stunning beitragen, sind eine gestörte Calciumhomöostase und die Bildung freier Radikale (BOLLI 1990). Die maximale Verschlechterung der Herzfunktion wird dabei nach BUDRIKIS et al. (1998) zwischen zwei und sechs Stunden nach Reperfusion erreicht, wobei die vollständige Recovery der myokardialen Funktion aber erst nach 24-48 Stunden wiederhergestellt ist.

V.3.2.5. Verbesserung der Kontraktilität unter dem Einfluß von Pyruvat während einer Ischämie

Die Applikation einer überphysiologischen Konzentration von Pyruvat (5 mMol/l) zum Dialysat bewirkte eine signifikante Steigerung der globalen Funktionsparameter in der Ischämiephase. Die Ergebnisse zeigten eine 58,8 %ige Steigerung des LVP_{max} während der Okklusion 2 im Vergleich zur ersten Okklusion ohne dem Zusatz von Pyruvat. Der LVP_{dev} war unter der zweiten Ischämiephase um 80,1 % gesteigert im Vergleich zur Okklusion 1. Allerdings erreichten die globalen Funktionsparameter, während der zweiten Okklusion unter Pyruvateinfluß, nicht die Werte der präischämischen Versuchsphase. MALLET (2000) bestätigt, dass dieser positiv inotrope Effekt besonders eindrucksvoll in ischämiegeschädigtem Myokard, dem „stunned“ Myokard ist. Die Datenerhebung fand 15 Minuten nach Applikation von Pyruvat zum Dialysat statt. Dieses Zeitintervall wurde gewählt, da das Pyruvat vom Dialysemolul in den Blut-Perfusat-Kreislauf übertreten mußte. Zudem berichteten verschiedene Autoren von einer vorübergehenden Abnahme der Herzfunktion in den ersten Minuten nach der Behandlung mit Pyruvat. Der Mechanismus des vorübergehenden kardiodepressiven Effekts von Pyruvat ist unbekannt. Es wird aber

angenommen, dass dieser Effekt aufgrund des H^+ -Symports aus dem Sarcolemm resultiert. Nach 10-30 Minuten nach der Applikation von Pyruvat wird ein „steady state“ erreicht (HERMANN et al. 2000, MALLET 2000).

Nach der Applikation von Pyruvat ergaben die Messungen der regionalen myokardialen Funktion signifikante Verbesserungen des intramyokardialen Druckes (IMP1) und der Wanddickenänderung (Wth1) in der ischämischen Region. Der prozentuale Vergleich des $IMP_{1_{sys}}$ der beiden RIVA-Okklusionen zeigte, dass Okklusion 1 mit $53,3 \pm 6,3$ % unter dem Kontrollwert lag. Während der zweiten Okklusion mit Pyruvatzusatz konnte sich der intramyokardiale Druck in der Systole auf $144,6 \pm 14,2$ % verbessern. Der lokal gemessene IMP_{dev} im Versorgungsgebiet des RIVA steigerte sich um 79,1 % während der zweiten Okklusion unter Pyruvateinfluß. Die erreichten Druckamplituden lagen aber noch unter den gemessenen Werten der präischämischen Versuchsphase.

Eine Zunahme der Herzarbeit beinhaltet eine verstärkte Ventrikelkontraktion in der Systole und infolgedessen eine Zunahme der Wanddicke. Dieses konnte durch die 97,5 %ige Zunahme der Wanddicke während der zweiten Okklusion bestätigt werden. Ebenfalls ist der Flächeninhalt der Druck-Weg-Schleife (loop) aus Wanddickenänderung und Ventrikeldruck in der ischämischen Region unter Pyruvateinfluß um 68,3 % gesteigert. Eine verbesserte regionale ventrikuläre Funktion und die Zunahme der Wanddicke unter Pyruvateinfluß wurde auch von der Arbeitsgruppe von MENTZER (1989) bestätigt. Die Versuche erfolgten aber in einer in-vitro-Studie am postischämischen Myokard. Es konnte durch die direkte Infusion von Pyruvat eine signifikant gesteigerte Wanddickenänderung erreicht werden. In der vorliegenden Arbeit liegen die erreichten Werte der Wanddickenänderung noch unter den Werten der präischämischen Versuchsphase.

Die Herzfrequenz liegt im Versuchsverlauf zwischen $150,2 \pm 20,5$ und $155,7 \pm 18,3$ Herzschläge pro Minute und unterlag keinen signifikanten Veränderungen. Entgegen den herkömmlichen positiv inotrop wirkenden Substanzen, wie den Katecholaminen, welche generell mit einer gesteigerten Herzfrequenz einhergehen und Herzarrhythmien verursachen, konnte unter dem Pyruvateinfluß keine chronotrope Wirkung nachgewiesen werden. Der nicht nachgewiesene positiv chronotrope Effekt, beruht auf einer Veränderung der Kaliumkanalleitfähigkeit.

Der positiv inotrope Effekt von Pyruvat verfügt grundsätzlich über einen anderen Mechanismus als bei den Katecholaminen. Diese wirken über die aktivierte cAMP-abhängige Proteinkinase, welche die Phosphorylierung von Membranproteinen am Ca^{2+} -Kanal bewirkt. Dadurch ist der Ca^{2+} -Kanal häufiger geöffnet und es kann mehr Ca^{2+} ins Faserinnere

gelangen. Während in Anwesenheit von Pyruvat der Energiestatus des Myokards verbessert wird und die Thermodynamik der Ca^{2+} -Pumpe und der Ca^{2+} -Gradient des sarkoplasmatischen Retikulums ansteigt (CHEN et al. 1998).

Die Art der Wirkung des Pyruvates wurde bereits in-vivo-Experimenten, in tierischen Myokardzellen und im humanen Myokard untersucht (MENTZER et al. 1989, YANOS et al. 1994, SCHOLZ et al. 1995, MARTIN et al. 1998, TJERO-TALDO et al. 1998, HERMANN et al. 2000 und 2002, BÜNGER et al. 1988). Gemäß dieser Studien, werden verschiedene Mechanismen postuliert, welche dem positiv inotropen Effekt von Pyruvat unterliegen. Der dominierende Effekt von Pyruvat beinhaltet den Anstieg des cytosolischen Phosphorylierungspotentials $[\text{ATP}] / ([\text{ADP}] \times [\text{Pi}])$, die Einstellung des cytosolischen Redox-Status und die Reduzierung des anorganischen Phosphates (P_i) (SCHOLZ et al. 1995, LAUGHLIN et al. 1994, MALLET 2000). Ebenfalls steigen das mitochondriale NADH_m und Phosphocreatins (PCr) an. Dabei sinkt im Cytoplasma der Gehalt des $\text{NADH}_c/\text{NAD}_c^+$ ab (SCHOLZ et al. 1995, MEYER et al. 1998).

Andere Arbeitsgruppen beschreiben den positiven Effekt von Pyruvat durch die gesteigerte Ca^{2+} -Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum. Dadurch nimmt die Sensitivität der Myofilamente zu und infolgedessen ist die Kreuzbrücken-Kinetik verändert (MARTIN et al. 1998, MALLET 2000, HASENFUSS et al. 2002).

Dieser Anstieg des Ca^{2+} -Flusses resultiert aus der energetischen Stimulation der Calcium-Pumpe des sarkoplasmatischen Retikulums (SR), bedingt durch eine Zunahme des Phosphorylierungs-Potentials (SCHOLZ et al. 1995, BÜNGER et al. 1988). Durch den Anstieg des Phosphorylierungs-Potentials ermöglicht es der Ca^{2+} -ATPase des SR wesentlich effizienter zu arbeiten.

Abschließend ist zu berücksichtigen, dass eine lang andauernde Ischämie mit hohen intrazellulären Konzentrationen von Laktat, intrazellulärer Azidose und einer Freisetzung von kardialen lysosomalen Enzymen verbunden ist. Hier fungiert Pyruvat als ein effektiver und natürlicher Inhibitor zur myokardialen Laktataufnahme, da Pyruvat eine 5-10fach höhere Affinität zum Monocarboxylat-Transporter hat als Laktat (BASSENGE et al. 2000) und die cytoplasmatische Aufnahme exponentiell mit der extrazellulären Pyruvatkonzentration variiert (POOLE et al. 1989).

V.3.2.6. Beeinflussung der Ergebnisse durch ischämisches „Preconditioning“?

Ein oder mehrere kurze ischämische Perioden mit anschließender Reperfusion führen zum sogenannten ischämischen „Preconditioning“. Das ischämische „Preconditioning“ verleiht dem Myokard eine gewisse Ischämietoleranz gegenüber längeren Ischämiephasen. MURRY et al. (1986 und 1987) begründen diese zunehmende ischämische Toleranz durch die Erhaltung von Energiereserven und / oder durch eine reduzierte Akkumulation von toxischen Kataboliten. In der vorliegenden Arbeit wurde durch zwei gleich andauernde Okklusionen, kein typischer „preconditioning“-Versuch durchgeführt. Ob möglicherweise die erste 15-minütige Okklusion mit anschließender Reperfusion einen Einfluß auf eine Ischämietoleranz während der zweiten Okklusion hat, kann nicht völlig ausgeschlossen werden. In einer Studie wurde jedoch veröffentlicht, dass der Schutz durch das Preconditioning verloren geht, wenn Herzen anstelle von Glucose mit Pyruvat reperfundiert werden (OMAR et al. 1991). Diese Resultate lassen vermuten, dass durch die Ischämie ein Defekt in den Mitochondrien verursacht wurde. Die präkonditionierten Herzen sind anscheinend fähig, bei vorhandener Glucose eine zusätzliche metabolische Stütze durch die Glycolyse bereitzustellen. Dadurch ist es den Myozyten möglich in einer kritischen Phase zu überleben (LIU et al. 1992).

V.3.2.7. Pyruvat als möglicher cytosolischer Antioxidant?

Die myokardiale Reperfusion mit einhergehender Ischämie ist mit einem Anfall von freien Radikalen, besonders den Hydroxylradikalen und Sauerstoffradikalen assoziiert (BASSENGE et al. 2000, BOLLI 1990). Nach BOLLI (1990) spielen die freien Radikale und eine gestörte Calciumhomöostase die Hauptrolle bei der Entstehung des Stunningphänomens. Die freien Radikale verursachen einen oxidativen Stress, der zu einer Modulation der Aktivität einiger zellulärer Enzyme und Proteine (z.B. sarkolemmaler Na-/Ca-Austauscher, Na-K-ATPase, Ca-ATPase, Ca-Pumpen) führt, da diese durch den Redoxstatus einer oder mehrerer Thiolgruppen am aktiven Zentrum kontrolliert werden. Die freien Radikale modifizieren die Regulation der Ca^{2+} -Transportproteine und bewirken damit den Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration mit der daraus resultierenden myokardialen Funktionseinschränkung (HEARSE und BOLLI 1992). Oxidoreduktasen, wie die membranassoziierte NADH-Oxidase tragen ebenfalls zur Radikalbildung in isolierten Kardiomyocyten bei. Diese NADH-

abhängigen Enzyme scheinen zum Teil vom Verhältnis des $[NAD^+]$ / $[NADH]$ kontrolliert zu werden (BÜNGER 1985). Der Redox-Status des cytoplasmatischen NADH korreliert schließlich mit dem Verhältnis der Konzentration von Pyruvat im Gewebe und der L-Laktat-Konzentration. Hier fungiert Pyruvat als cytosolischer Antioxidant.

Zwei verschiedene Mechanismen scheinen für den antioxidativen Effekt von Pyruvat verantwortlich zu sein. Pyruvat und andere α -Ketonsäuren neutralisieren direkt die Wasserstoffperoxide und Lipidperoxide in einer nichtenzymatischen Reaktion. Ein zweiter indirekt wirkender Antioxidant-Mechanismus könnte im Myokard vorhanden sein. Die Pyruvatcarboxylation lässt den Citratgehalt ansteigen. Das Citrat inhibiert die Phosphofruktokinase und leitet somit den glykolytischen Fluß zum Hexosemonophosphat um, die hauptsächliche Quelle des NADPH (Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat, reduziert). Dieses regeneriert GSH (Glutathion) durch die Oxidation von GSSG (Glutathion-disulfid), dem endogenen Antioxidant-System der Zellen bzw. der Kardiomyozyten.

Das Aufrechterhalten der Redox-Reaktanden wie Pyruvat und L-Laktat ist assoziiert mit einer veränderten Aktivität oder Expression der Laktat-Dehydrogenase (LDH) und der Glutathion-Peroxidase und kann ebenfalls einen Einfluß auf den Antioxidant-Status des Glutathion-Systems haben (BASSENGE et al. 2000).

V.4. Schlussfolgerungen und Ausblick

Der in dieser Arbeit dargestellte kardioprotektive Effekt des Pyruvates stellt eine mögliche Alternative zu den herkömmlichen inotrop wirkenden Substanzen, vor allem in der Behandlung von ischämiegeschädigten Myokard oder nach erfolgter kardiovaskulärer Chirurgie. Die Effektivität einer kardioprotektiven Maßnahme offenbart sich während der postischämischen Reanimation des Herzens, sowie in der Fähigkeit des Myokards seine präoperative Funktion wiederzuerlangen. Primäres Ziel einer Kardioprotektion muss also eine Downregulation der energieverbrauchenden Stoffwechselprozesse sein (EDDICKS 2004).

Anders als die Katecholamine, entleert Pyruvat nicht die Energiereserven, sondern lässt die kardiale Energie parallel zur Herzfunktion ansteigen. Die gesteigerte Herzfunktion konnte hier anhand der globalen und lokalen Herzfunktionsparameter dargestellt werden. Unter dem Einfluß von Pyruvat wurde kein positiv chronotroper Effekt nachgewiesen. Desweiteren wird Pyruvat als potenter Antioxidant diskutiert, im Gegensatz zu den Katecholaminen, welche die Bildung von reaktiven Sauerstoff-Radikalen stimulieren (SINGAL et al. 1982).

Die klinische Anwendung von Pyruvat wurde bereits von verschiedenen Autoren in Betracht gezogen (MALLET 2000). Seit neuestem wurde eine Studie von HERMANN et al. (2004) über die Anwendung von Pyruvat beim Menschen mit Herzinsuffizienz der Klassen NYHA II-III veröffentlicht. Es konnte in dieser Studie durch intrakoronare Applikation von Pyruvat ein positiv inotroper und positiv lusitroper Effekt in diesen Patienten nachgewiesen werden. Es wurden verschiedene überphysiologische Konzentrationen von Pyruvat (1,5 mM – 6 mM) ausgewählt. Jedoch bereitet die Art der Applikation noch ein Problem. HERMANN et al. (2004) geben für den hämodynamischen Effekt eine erforderliche Pyruvatkonzentration von 1 mM intrakoronar an, welche relativ schnell metabolisiert wird. Unter der intravenösen Applikation sind höhere Pyruvatgaben notwendig, wobei die Problematik einer Hyperosmolarität besteht.

So würde Pyruvat allein oder in Kombination mit Katecholaminen eine potentielle Alternative in der Behandlung der akuten Herzinsuffizienz darstellen und eine mehr effektive inotrope Therapie ergeben (HERMANN et al. 2000, 2004). Durch den Erhalt der Energiereserven im Myokard, hat Pyruvat den Vorteil gegenüber den traditionellen inotropen Substanzen in der Behandlung von postischämischen kontraktile Dysfunktionen (MENTZER et al. 1989).

Auch in der Kardioplegie könnten durch den kardioprotektiven Effekt von Pyruvat Ischämieschäden verringert werden. Die Bildung von freien Sauerstoffradikalen während der Herztransplantation, begründen noch die kurze Kardioplegiezeit der Spenderherzen. Die Applikation von Pyruvat kann aufgrund seiner antioxidativen Wirkung diese Zeit verlängern (DOBSAK et al. 1999).

Abschließend sei angemerkt, dass die Konsequenzen der akuten myokardialen Ischämie am isolierten Herzmodell durch kontrollierbare Konditionen am besten studiert werden können (VERDOUW et al. 1998). Es konnte bereits in mehreren Studien belegt werden, dass Versuche am isolierten Herzen, insbesondere von Schlachttierherzen zum großen Teil mit in-vivo-Experimenten vergleichbar sind. So sollte das isolierte Herzmodell in der pharmazeutischen Industrie zur Testung von Effekten primär nicht herzwirksamen Arzneimitteln oder im Hinblick auf Abstoßungsreaktionen bei der Xenotransplantation, speziell gefördert werden. Um in Zukunft die Tierversuchszahlen zu senken, müsste die Verwendung von Schlachthoforganen gesetzlich vorgeschrieben werden.