

Aus der Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin  
Komm. Direktor: Prof. Dr. med. Markus Steinfath  
Akademischer Vertreter: Prof. Dr. med. Norbert Weiler  
im Universitätsklinikum Schleswig Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Auswirkung von therapeutischer Hypothermie sowie der  
pharmakologischen Postkonditionierung auf die  
Myokardfunktion, den Myokardschaden sowie der  
Infiltration von Immunzellen und die Apoptose nach  
einem Herz-Kreislaufstillstand

*Untersuchung an einem Schweinmodell*

Inauguraldissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der  
Medizin der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Björn Wegner**

aus Hildesheim

Kiel 2011

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Meybohm, Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Lutter, Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie

Tag der mündlichen Prüfung: 13.10.2011

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 13.10.2011

gez.: Prof. Dr. Dr. I.Cascorbi, Vorsitzender des Ausschusses für Promotion

# **i Inhaltsverzeichnis**

<b>i</b>	<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	2
<b>ii</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	4
<b>iii</b>	<b>Liste der Originalarbeiten und Abstracts, die Teile der Doktorarbeit enthalten</b> .....	6
<b>iv</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	10
<b>v</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	12
<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	13
1.1	Epidemiologie des Herz-Kreislaufstillstands.....	13
1.2	Postreanimationssyndrom.....	15
1.2.1	Zerebrale Schäden nach Herz-Kreislaufstillstand.....	16
1.2.2	Myokardiale Dysfunktion nach Herz-Kreislaufstillstand.....	16
1.2.3	Systemische Antwort auf Ischämie/Reperfusion.....	17
1.3	Milde therapeutische Hypothermie.....	19
1.4	Pharmakologische Postkonditionierung.....	21
1.5	Fragestellung.....	22
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	24
2.1	Vorbereitung.....	24
2.2	Reanimationsversuch.....	27
2.3	Intensivüberwachung.....	29
2.4	Echokardiographie und Hämodynamik.....	30
2.4.1	Transösophageale Echokardiographie (TEE).....	30
2.4.2	Hämodynamische Messungen.....	34
2.5	Bestimmung des Myokardschaden.....	34
2.5.1	Organentnahme und Myokardfärbung.....	34
2.5.2	Bestimmung des Serumtroponinspiegel.....	35
2.6	Infiltration von Immunzellen und Apoptose.....	35
2.6.1	Histologie / H&E Färbung.....	35
2.6.2	Bestimmung der Aktivität der Myeloperoxidase (MPO).....	36
2.6.3	Bestimmung der Procaspase 3/aktiven Caspase 3.....	36
2.7	Statistische Auswertung.....	37

<b>3 Ergebnisse</b> .....	38
3.1 Überlebensrate und Reanimationsdaten.....	38
3.2 Echokardiographie und Hämodynamik.....	39
3.2.1 Transösophagale Echokardiographie (TEE).....	39
3.2.2 Hämodynamische Messdaten.....	42
3.3 Myokardschaden.....	46
3.3.1 Myokardfärbung.....	46
3.3.2 Serumentroponinspiegel.....	47
3.4 Infiltration von Immunzellen und Apoptose.....	49
3.4.1 Histologie.....	49
3.4.2 Aktivität der Myeloperoxidase (MPO).....	50
3.4.3 Procaspase 3/aktive Caspase 3.....	51
<b>4 Diskussion</b> .....	54
4.1 Modell.....	55
4.2 Auswirkung auf die Myokardfunktion.....	57
4.3 Auswirkung auf den Myokardschaden.....	60
4.4 Auswirkung auf die Immunzellinfiltration und Apoptose.....	63
4.5 Limitation.....	65
4.6 Schlussfolgerung.....	67
<b>5 Zusammenfassung</b> .....	68
<b>Danksagung</b> .....	70
<b>Lebenslauf</b> .....	71
<b>Literaturverzeichnis</b> .....	72

## ii Abkürzungsverzeichnis

AANR	Area-at-no-risk
AAR	Area-at-risk
AHA	American Heart Association
BL	Baseline
CI	Cardiac Index
CPR	Kardiopulmonale Reanimation (cardiopulmonary resuscitation)
cTnT	Kardiales Troponin T
E/A Rate	Rate zwischen früher (Early) und später (Atrial) Kammerfüllungsgeschwindigkeit
EKG	Elektrokardiogramm
ERC	European Resuscitation Council
FiO <sub>2</sub>	Inspiratorische Sauerstoffkonzentration
FS	Fraktionelle Verkürzung (fractional shortening)
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
HT	Hypothermiegruppe

HT+SEV	Hypothermie+Sevoflurangruppe
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MPI	Myokardialer Performance Index
NT	Normothermiegruppe
RIVA	Ramus interventricularis anterior
ROSC	Return of spontaneous circulation
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response Syndrom
TIVA	Totale intravenöse Anästhesie

### iii Liste der Originalarbeiten und Abstracts, die Teile der Doktorarbeit enthalten

#### Originalarbeiten

*[Meybohm et al. 2010]*

**Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Albrecht, M; Lucius,R; Fösel, N; Hensler, J;  
Zitta, K; Bein, B**

Mild hypothermia alone or in combination with anesthetic postconditioning reduces expression of inflammatory cytokines in the cerebral cortex after cardiopulmonary resuscitation.

*Crit Care* 14 (2009), R21

*[Meybohm et al. 2010]*

**Meybohm, P; Gruenewald, M; Albrecht, M;  
Zacharowski, K; Lucius, R; Zitta, K; Koch, A;  
Tran, N; Scholz, J; Bein, B**

Hypothermia and postconditioning after resuscitation reduce cardiac dysfunction by modulating inflammation, apoptosis and remodeling

*PloS One* 4 (2009), e7588

## Veröffentliche Abstracts

**[Gruenewald et al. 2009]** Gruenewald, M; Meybohm, P; Renner, J; Scholz, J;  
Bein, B

Measurement of fluid responsiveness in the post-cardiac arrest period.

ASA 2009

**[Meybohm et al. 2009]** Meybohm, P; Gruenewald, M; Fösel, N;  
Albrecht, M; Zacharowski, K; Scholz, J; Bein, B

Pharmacological postconditioning with sevoflurane after cardiopulmonary resuscitation may confer neuroprotective effects.

SNACC 2009

**[Meybohm et al. 2009]** Meybohm, P; Gruenewald, M; Albrecht, M;  
Zacharowski, K; Lucius, R; Scholz, J; Bein, B

Hypothermia and pharmacological postconditioning after cardiopulmonary resuscitation reduce myocardial damage and dysfunction: Implications of inflammation, apoptosis and matrix remodeling.

Circulation Suppl 2009

**[Gruenewald et al. 2009]** Gruenewald, M; Meybohm, P; Renner, J; Scholz, J;  
Bein, B

Measurement of fluid responsiveness after cardiac arrest and resuscitation.

Circulation Suppl 2009



**[Meybohm et al. 2009]**      **Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Scholz, J; Bein, B**

Hypothermia after cardiopulmonary resuscitation attenuates brain pro-inflammatory cytokine mRNA expression.

3rd Hypothermia congress, Lund (Sweden), 2009

**[Meybohm et al. 2009]**      **Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Renner, J; Scholz, J; Bein, B**

Myocardial function assessment during acute myocardial ischemia: A comparison between transesophageal echocardiography and transpulmonary thermodilution.

Acta Anesth Scand 53 (Supplement 119):49, 2009

**[Meybohm et al. 2009]**      **Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Scholz, J; Bein, B**

Hypothermia after cardiopulmonary resuscitation attenuates brain pro-inflammatory cytokine mRNA expression.

Eur J Anaesthesiol; 26 (Suppl 45): 13AP2-2, 2009

**[Meybohm et al. 2009]**      **Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Scholz, J; Bein, B**

Etablierung eines experimentellen Reanimationsmodell nach akutem Myokardinfarkt am Schwein.

Notfall Rettungsmed, Suppl 1, WATN09-09, 2009

**[Meybohm et al. 2009]**      **Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Albrecht, M; Lucius, R; Scholz, J; Bein, B**

Kardioprotektiver Effekt von milder Hypothermie am experimentellen Modell des Herz-Kreislaufstillstands infolge eines Myokardinfarktes.

Anästh Intensivmed 10, 2009

**[Meybohm et al. 2008]**      **Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Scholz, J; Bein, B**

Therapeutische Hypothermie nach Reanimation reduziert die zerebrale pro-inflammatorische Zytokin mRNA Expression.

Intensivmed 45: Suppl 1, FPV01/01, 2008

**[Meybohm et al. 2008]**      **Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Scholz, J; Bein, B**

Hypothermia after cardiopulmonary resuscitation attenuates brain pro-inflammatory cytokine mRNA expression.

J Neurosurg Anesthesiol 20: SNACC Meeting Abstract, 2008

**[Meybohm et al. 2008]**      **Meybohm, P; Gruenewald, M; Zacharowski, K;  
Scholz, J; Bein, B**

Changes of myocardial function during myocardial ischemia assessed by transpulmonary thermodilution.

Anesthesiology 109: ASA Meeting Abstracts A-1683, 2008

**[Hamann et al. 2008]**      **Hamann, L; Meybohm, P; Zacharowski, K; Scholz,  
J; Bein, B**

Therapeutic hypothermia after cardiopulmonary resuscitation reduces cerebral inflammatory response.

Anesthesiology 109: ASA Meeting Abstracts A-905

## iv Abbildungsverzeichnis

1.1	Überleben nach einem präklinischen Herz-Kreislaufstillstand.....	14
1.2	Pathogenese des Systemischen Inflammatorischen Response Syndrom.....	18
2.1	Zeitlicher Ablauf des Reanimationsversuch.....	27
2.2	Zweikammerblick bei der transösophagealen Echokardiographie.....	31
2.3	E/A Rate (Berechnung).....	32
2.4	Kurzachsenblick bei der transösophagealen Echokardiographie.....	33
2.5	Myokardialer Performance Index.....	34
3.1	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (%).....	40
3.2	Fraktionelle Verkürzung (%).....	41
3.3	E/A Rate (Ergebnisse).....	41
3.4	Myokardialer Performance Index.....	42
3.5	Myokardfärbung.....	46
3.6	Infarktgrösse in Prozent.....	47
3.7	Serum cTnT (kardiales Troponin T).....	48
3.8	H&E Färbung.....	50

3.9	MPO Aktivität.....	51
3.10	Western Blotting von Procaspase 3/ $\beta$ -actin.....	52
3.11	Signalintensität der Procaspase/ $\beta$ -actin .....	53
3.12	Immunfluoreszenz der Anti-Caspase 3.....	54

## v Tabellenverzeichnis

3.1	Zusammenfassung der Reanimationsdaten.....	38
3.2	Hämodynamische Daten (Baseline, RIVA Okklusion, ROSC).....	43
3.3	Hämodynamische Daten (Postreanimationsphase 3h-24h).....	44
3.4	Kumulative Volumengabe und Adrenalindosis in den Gruppen.....	45

# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie des Herz-Kreislaufstillstands

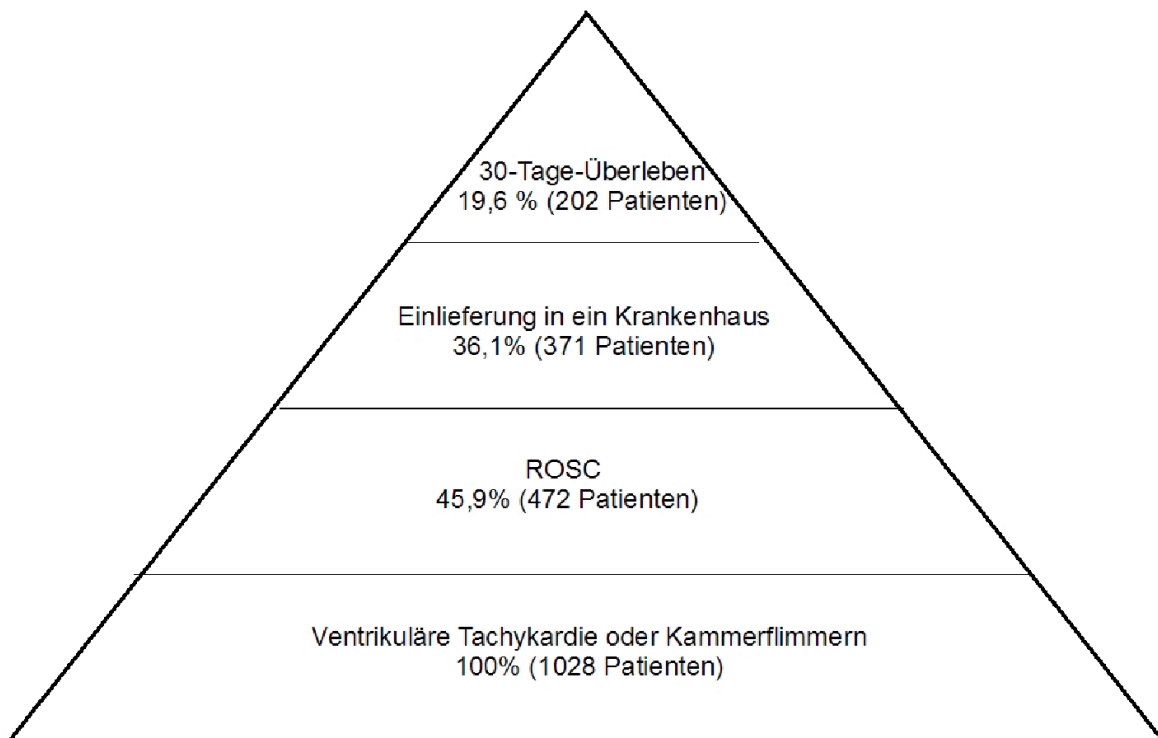
Der plötzliche Herztod wird definiert als natürlicher, unerwarteter Tod kardialer Genese mit einem Zeitintervall von weniger als einer Stunde zwischen Beginn der Symptome und Eintritt des Todes. Die Hauptursache des plötzlichen Herztodes sind maligne Herzrhythmusstörungen wie Kammerflimmern oder ventrikulärer Tachykardie auf dem Boden eines Myokardinfarktes mit Koronarischemie - Schätzungen gehen von etwa zwei Drittel aller Herz-Kreislaufstillstände ausserhalb des Krankenhauses aus [McLaughlin et al. 2009].

In Deutschland erleiden über 100.000 Menschen einen Herz-Kreislaufstillstand ausserhalb der Klinik und müssen reanimiert werden, wobei hier der plötzliche Herztod infolge eines akuten Koronarsyndrom als Hauptursache identifiziert werden konnte [Mark et al. 2006]. In den USA erleiden pro Jahr circa 700.000 Menschen einen plötzlichen Herztod. [Zheng et al. 2001].

Die Inzidenz des präklinischen Herz-Kreislaufstillstands beträgt in den Industrieländern 36 bis 128 pro 100.000 Einwohner [Becker et al. 1993; V.-Swagemakers et al. 1997].

Männer versterben häufiger am plötzlichen Herztod als Frauen (Männer/Frauen pro 100.000 Einwohner: 410,6/274,6). Weiterhin steigt die Mortalität im Alter an (Männer/Frauen pro 100.000 Einwohnern: 35-44 Jahre 34,1/11,5; 75-84 Jahre 1363,8/928,5) [Zheng et al. 2001].

Wie aus der folgenden Abbildung 1.1 hervorgeht, ist die Mortalität nach einem Herz-Kreislaufstillstand hoch. So beträgt die 30-Tage Überlebensrate zwischen 7,3% [Hollenberg et al. 2008] und 19,6% [Nishiuchi et al. 2008] und das 1-Jahres-Überleben nur 8% [Pleskot et al. 2009].



**Abbildung 1.1:** *Überleben nach einem präklinischen Herz-Kreislaufstillstand*

Nur ein kleiner Teil der Patienten, die einen Herz-Kreislaufstillstand ausserhalb eines Krankenhauses erleiden, erreichen lebend das Krankenhaus. Von diesen verstirbt wiederum ein Grossteil innerhalb der ersten 30 Tage nach dem Ereignis.

ROSC: Return of spontaneous circulation

Modifiziert nach [Nishiuchi et al. 2008; Estner et al. 2007; Grmec et al. 2007]

Die Verbesserung der Reanimationsmaßnahmen, zuletzt 2005 [BÄK 2006] hat zum Beispiel die 30-Tage-Überlebensrate deutlich erhöht, von 8,3% auf 16% [Steinmetz et al. 2008]. Dennoch wurde keine Verbesserung des Gesamtüberlebens gezeigt [Stiell et al. 2004].

Obwohl in 30-40% der Fälle nach einem Herz-Kreislaufstillstand initial stabile Herz-Kreislaufverhältnisse (Return of spontaneous circulation / ROSC) wiederhergestellt werden können, wurden nur 10-30% der in ein Krankenhaus gebrachten Patienten mit einem guten Outcome entlassen [V.-Swagemakers et al. 1997].

Diese hohe Mortalität während des Krankenhausaufenthaltes nach der Reanimation wird durch weitere Studien belegt, variierend zwischen 56% und 86% [Keenan et al. 2007; Nolan et al. 2007; Langhelle et al. 2003; Herlitz et al. 2006].

Im folgendem soll das Hauptaugenmerk auf der Phase nach erfolgreicher Reanimation liegen. Darüber hinaus werden die Ursachen für die hohe Postreanimationsmortalität erörtert (Postreanimationssyndrom) sowie mögliche Therapieansätze (milde therapeutische Hypothermie, pharmakologische Postkonditionierung) aufgezeigt.

## 1.2 Postreanimationssyndrom

Die beim Herz-Kreislaufstillstand ablaufenden Prozesse sind multifaktoriell, asynchron und untereinander sehr verzahnt. Der Zustand bei Wiedererlangen eines spontanen Kreislaufs nach einem Herz Kreislaufstillstand wird als „Postresuscitation disease“ oder auch Postreanimationssyndrom bezeichnet [Adrie et al. 2002; Negovsky et al. 1988].

Das Überleben des Patienten, der erfolgreich reanimiert werden konnte, ist bestimmt durch die Schwere des Syndroms, das sich auf das kardiovaskuläre, neurologische, pulmonale, renale und metabolische System auswirkt [Negovsky et al. 1983].

Diese Auswirkungen eines Herz-Kreislaufstillstands konnten sowohl im Tierversuch als auch in klinischen Studien belegt werden [Kern et al. 1996; Laurent et al. 2002].

Die Pathophysiologie des Postreanimationssyndroms setzt sich bei näherer Betrachtung aus drei Anteilen zusammen [Neumar et al. 2008]:

- den zerebralen Schäden nach einem Herz-Kreislaufstillstand
- der gestörten Myokardfunktion
- der systematischen Antwort auf die globale Ischämie/Reperfusion



### **1.2.1 Zerebrale Schäden nach Herz-Kreislaufstillstand**

Die klinischen Symptome von Schäden am Nervensystem nach erfolgreicher Reanimation zeigen sich in Myoklonien, epileptischen Anfällen, neurokognitiver Dysfunktion, Koma bis hin zum Hirntod [Neumar et al. 2008].

Diese Symptome werden im Wesentlichen während der Phase des Herz-Kreislaufstillstands verursacht, bedingt durch die geringe Hypoxietoleranz des Hirngewebes von circa 3 Minuten.

Aber auch in der Phase nach dem eigentlichen Herz-Kreislaufstillstand sowie in der Reperusionsphase hält die Ischämie des Hirngewebes noch an. Ursachen hierfür sind Interaktion von Leukozyten, Aktivierung des Gerinnungssystem [Spöhr et al. 2005] sowie Entstehen freier Radikale und Apoptosevorgänge [Neumar et al. 2008].

Die genannten Symptome und pathophysiologischen Vorgänge einer zerebralen ischämischen Schädigung zeigen sich klinisch je nach Hirnareal Stunden bis Tage nach dem Herz-Kreislaufstillstand [Neumar et al. 2008].

### **1.2.2 Myokardiale Dysfunktion nach Herz-Kreislaufstillstand**

Die in der Postreanimatationsphase auftretende myokardiale Dysfunktion ist ein kritisches Ereignis, welches bei 45-60% aller erfolgreich reanimierten Patienten berichtet wurde [Neumar et al. 2008; Laurent et al. 2002].

Hierbei kommt es im Rahmen eines Herz-Kreislaufstillstands und erfolgreicher Reanimation zu einer reversiblen linksventrikulären Funktionseinschränkung [Gerber et al. 1999].

Ein Missverhältnis von myokardialer Perfusion und Kontraktion wurde beschrieben, dass auch als myokardiales Stunning bezeichnet wurde [Heyndrickx et al. 2006]. Vor allem ist die Kontraktion der apikalen Myokardanteile beeinträchtigt [Ruiz-Bailén et al. 2005].

Es liegt typischerweise eine reversible Schädigung am Myokard vor, sodass sich die Dysfunktion bei überlebenden Patienten vollständig erholt [Gerber et al. 1999].

Die Pumpfunktion des Herzens kann während des Stunnings durch die Gabe von positiv inotropen Substanzen verbessert werden [Kern et al. 2002].

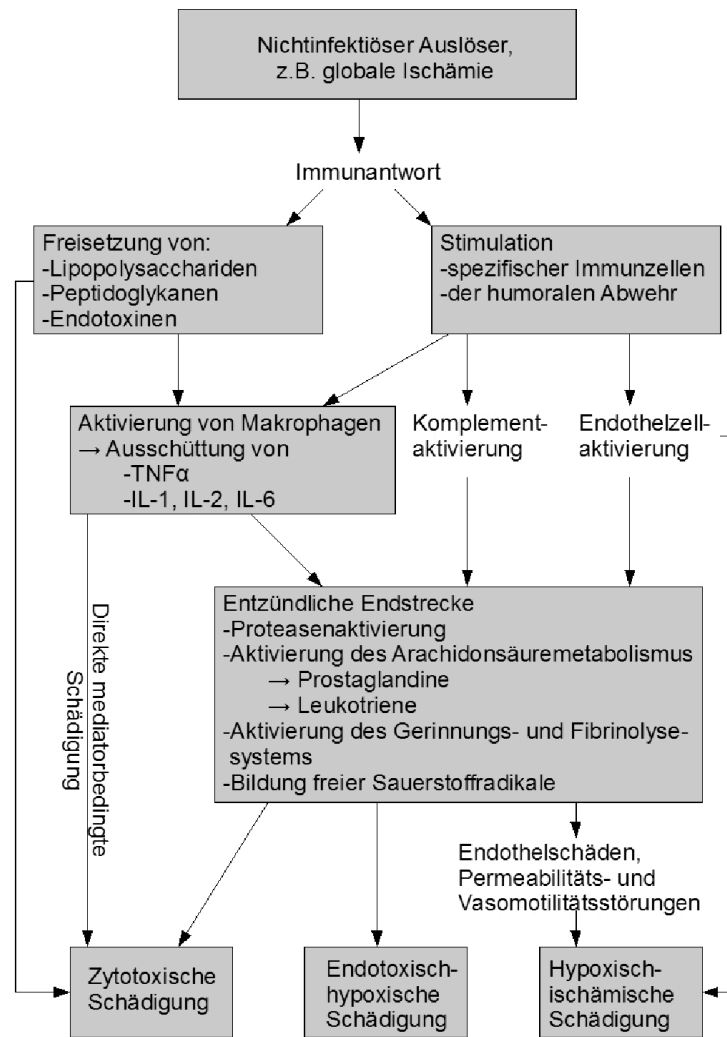
Pathophysiologisch kommen für die myokardiale Dysfunktion zum einen die Reanimationsmassnahmen, bedingt durch die Thoraxkompression, die kumulative Defibrillationsenergie sowie die verabreichten Katecholamine in Frage [Heyndrickx et al. 2006]. Zum anderen wird die Myokardfunktion durch den Ischämie/Reperfusionsschaden sowie systemisch zirkulierende Zytokine, wie den Tumor-Nekrose-Faktor alpha [Niemann et al. 2004], verschlechtert.

### **1.2.3 Systemische Antwort auf Ischämie/Reperfusion**

Nach primär erfolgreicher Reanimation entwickelt sich bei vielen Patienten ein Systemisches Inflammatorisches Response Syndrom (SIRS) als systemische Antwort auf die Ischämie sowie Reperfusion [Adrie et al. 2004].

Das SIRS ist bei fehlendem Keimnachweis definiert, durch mindestens zwei der folgenden Kriterien [Bone 1992]:

- Hypo- oder Hyperthermie (Körpertemperatur > 38°C oder < 36°C)
- Tachykardie (Herzfrequenz > 90/min)
- Tachypnoe oder Hyperventilation (Atemfrequenz > 20/min oder  $p\text{CO}_2 < 32$  mmHg)
- Leukozytose oder -penie (Leukozyten > 12.000/ $\mu\text{l}$  oder < 4000/ $\mu\text{l}$ )



**Abbildung 1.2:** Pathogenese des Systemischen Inflammatorischen Response Syndrom.

IL: Interleukin; TNFα: Tumornekrosefaktor-α [Renz-Polster et al. 2006]

Während der Ischämiezeit kommt es aufgrund der Gewebehypoxie zu einem anaeroben Stoffwechsel, der durch einen Anstieg von Laktat und eine Azidose begleitet ist [Neumal et al. 2008]. Weiterhin kommt es hierbei zu einer Freisetzung zahlreicher Mediatoren, wie zum Beispiel Bradykinin oder Noradrenalin [Kloner et al. 2001].

Die in Abbildung 1.2 aufgezeigte umfangreiche inflammatorische Antwort mit Freisetzung zahlreicher Mediatoren [Adams 2006; Valen et al. 2001; Gando et al. 2000] sowie dem gebildeten Laktat geht mit einem schlechten Outcome des Patienten einher.

So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass der Zytokinspiegel bei verstorbenen Patienten nach einem Herz-Kreislaufstillstand signifikant höher war, als bei den Überlebenden nach dem Ereignis [Adrie et al. 2004]

Weiterhin trägt auch eine veränderte Gerinnungssituation zu der systemischen Antwort auf die Ischämie/Reperfusion bei. Eine gesteigerte Aktivierung des Gerinnungssystem führt hier zu Mikrothrombenbildung und Reperusionsstörungen [Böttinger et al. 2001].

### **1.3 Milde therapeutische Hypothermie**

Die ersten klinischen Anwendungen der therapeutischen Hypothermie nach Herz-Kreislaufstillstand sind auf die vierziger und fünfziger Jahre des letzten Jahrhunderts zurückzuverfolgen [Benson et al. 1959].

Die Therapieoption wurde um 1960 aufgrund einer hohen Komplikationsrate, wie zum Beispiel Bradykardie, Herzrhythmusstörungen, Elektrolytstörungen, Gerinnungsstörungen und einer erhöhten Infektanfälligkeit [Froehler et al. 2007] verlassen.

Man unterscheidet grundsätzlich folgende Tiefen der Hypothermie [Schneider et al. 2008]:

- milde Hypothermie (32°C - 34°C)
- moderate Hypothermie (28°C bis 32°C)
- tiefe Hypothermie (< 28°C)

Seit den 1990er Jahren wurde das Konzept der therapeutischen Hypothermie wieder aufgegriffen, wobei man heute Temperaturen verwendet, die im Bereich der milden Hypothermie liegen.

Zu diesem Zeitpunkt wurden zwei grosse, kontrollierte, prospektive, klinische Studien zur milden therapeutischen Hypothermie durchgeführt, die beide ein verbessertes Überleben und eine bessere neurologische Funktion der Patienten zeigten [HACA Group 2002; Bernard et al. 2002] (HACA-Studie: Überleben in Normothermiegruppe: 39%, Überleben in der Hypothermiegruppe: 55%; In der australischen Studie lagen die entsprechenden Werte bei jeweils 26% und 49%).

Aufgrund dieser positiven Studienergebnisse wurde die milde therapeutische Hypothermie nach einem Herz-Kreislaufstillstand mit initialem Kammerflimmern in die Leitlinien des European Resuscitation Council 2005 aufgenommen [Nolan et al. 2005]. Zurzeit ist dies der einzige kausale Ansatz zur Vermeidung und Verminderung von neurologischen Folgeschäden nach erfolgreicher Reanimation.

Die Mechanismen der milden therapeutischen Hypothermie sind vielfältig. Zum einen hat das gekühlte Gewebe einen geringeren Stoffwechsel [Wong et al. 2008], was den Energie- und Sauerstoffbedarf senkt [Sick et al. 1999]. Des Weiteren konnte eine Reduktion der Apoptose im ischämischen Hirngewebe gezeigt werden [Niwa et al. 1998; Fukuda et al. 2001].

Diese Daten beziehen sich mit ihren positiven Auswirkungen bei zerebraler Ischämie vor allem auf neuronales Gewebe. Die Studienlage für weitere vitale Organe, insbesondere Myokard, ist jedoch noch sehr dürftig.

## 1.4 Pharmakologische Postkonditionierung

Die ischämische Präkonditionierung wurde erstmals 1986 experimentell beschrieben [Murry et al. 1986].

Hierbei kommt es durch eine kurzzeitige subletale Ischämie zu einer erhöhten Toleranz bei einer folgenden längeranhaltenden Ischämie [Murry et al. 1986]. Dieser Mechanismus kann bei kardiochirurgischen Eingriffen angewendet werden, um eine verbesserte Ischämietoleranz zu erzielen [Skyschally et al. 2008].

Die Technik der Präkonditionierung kann verständlicherweise nicht auf einen Patienten mit Myokardinfarkt nach einem Herz-Kreislaufstillstand angewandt werden, da der genaue Zeitpunkt des Herz-Kreislaufstillstands nicht vorausgesagt werden kann, sodass hier konditionelle Massnahmen nach der Ischämie (Postkonditionierung) theoretisch eine Alternative darstellen würden.

In einer klinischen Studie konnten durch Thibault und Kollegen gezeigt werden, dass nach einem ischämischen Myokardinfarkt und nachfolgender ischämischer Postkonditionierung sowohl kurz- wie auch langfristig die Myokardfunktion verbessert werden konnte [Thibault et al. 2008].

Die Effekte der Postkonditionierung konnten weiterhin durch das volatile Anästhetikum Sevofluran gezeigt werden, das den Myokardschaden nach Ischämie reduzieren konnte [Varadarajan et al. 2002].

Zhao und Kollegen haben in ihrer Arbeit nachwiesen, dass nach einem ischämischen Myokardinfarkt eine Postkonditionierung mit Sevofluran den Myokardschaden, wie auch die Infarktgrösse um bis zu 45 % reduzieren kann [Zhao et al. 2003].

Eine weitere Studie konnte bei einem Schweinmodell mit Herz-Kreislaufstillstand eine Reduzierung des neurologischen Schadens sowie eine Verbesserung des frühen neurologischen Defizit bei der Verwendung von Xenon, in der Reperusionsphase, nachweisen [Fries et al. 2008].

Des weiteren konnte gezeigt werden, dass die pharmakologische Postkonditionierung einen günstigen Einfluss auf das entzündliche Geschehen im Rahmen der Reperfusion hat [Pagel 2008].

Eine systematische Untersuchung der pharmakologischen Postkonditionierung im Rahmen eines Herz-Kreislaufstillstands nach Myokardinfarkt ist ein Bestandteil dieser Arbeit.

## 1.5 Fragestellung

Wie aus der bisherigen Einleitung hervorgeht, stellt der plötzliche Herztod infolge eines Myokardinfarktes, die dann erforderliche kardiopulmonale Reanimation sowie die Postreanimationsphase speziell mit dem Postreanimationssyndrom eine grosse Herausforderung im Bereich der präklinischen Notfallmedizin wie auch der klinischen Intensivmedizin dar.

Gerade das Missverhältnis zwischen dem frühen Überleben, durch neue Leitlinien noch weiter verbessert, und der schlechten Überlebensrate im weiteren Verlauf unterstreicht die Suche nach einer standardisierten Postreanimationsbehandlung, gerade unter Berücksichtigung der therapeutischen milden Hypothermie.

Hier gilt es, das bereits empfohlene und angewandte Konzept der therapeutischen milden Hypothermie, welches in Bezug auf neuronales Gewebe schon umfangreich untersucht wurde, mit Daten des myokardialen Gewebes zu ergänzen.

Weiterhin stellt die pharmakologische Postkonditionierung zur Reduktion des myokardialen Schadens nach einem Herzinfarkt, gerade im Kontext mit der Postreanimationsphase, eine interessante Alternative dar.

Die Erfahrung zeigt, dass ein Grossteil der Patienten aufgrund einer myokardialen Ischämie, auch unter dem Begriff „plötzlicher Herztod“ zusammengefasst, einen Herz-Kreislaufstillstand mit nachfolgender Reanimation erleiden.

Da gerade dieses Szenario bisher nur in wenigen Tierexperimenten berücksichtigt werden konnte, basiert unsere Studie auf einem experimentellen Modell mit einem Herz-Kreislaufstillstand nach einer akuten Koronarischämie, welches einen realistischen klinischen Ablauf als „Two hit“ Modell widerspiegelt.

Wir stellen die Hypothese auf, dass die milde therapeutische Hypothermie den myokardialen Schaden in dem Modell einer myokardialen Ischämie und Reperfusion nach einem Myokardinfarkt reduziert.

Weiterhin haben wir die Hypothese, dass das volatile Anästhetikum Sevofluran, wenn es in der Reperfusionsphase nach erfolgreicher Reperfusion als pharmakologische Postkonditionierung verabreicht wird, zusätzliche organprotektive Effekte hat.

Aufgrund der Fülle von Fragestellungen bei diesem sehr umfangreichen Thema wie auch Versuchsablauf ergeben sich für diese Arbeit folgende detaillierte Fragestellungen:

1. Welchen Einfluss hat die milde therapeutische Hypothermie und die pharmakologische Postkonditionierung auf verschiedene echokardiographische Parameter sowie auf verschiedene systemische Hämodynamikparameter unter Berücksichtigung der Infusions- und Katecholamintherapie?
2. Welchen Einfluss hat die milde therapeutische Hypothermie und die pharmakologische Postkonditionierung auf die Myokardinfarktgrösse, repräsentiert durch eine Myokardfärbung sowie den Troponinspiegel im Serum?
3. Welchen Einfluss hat die milde therapeutische Hypothermie und die pharmakologische Postkonditionierung auf die Infiltration von Immunzellen und die Apoptose, repräsentiert durch eine Histologie des Myokards, die Aktivität der Myeloperoxidase (MPO) sowie der Procaspase 3/aktiven Caspase 3 Aktivität?



## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Vorbereitung**

Das Projekt wurde von dem Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume des Landes Schleswig-Holstein genehmigt. Die Tiere wurden in Übereinstimmung mit den Richtlinien der Universität Schleswig-Holstein, Campus Kiel sowie den Utstein-Studien Richtlinien [Idris et al. 1996] behandelt.

Alle Tiere erhielten die bestmögliche Stressabschirmung, Narkose und Pflege, in Übereinstimmung mit dem „Richtlinien für die Pflege und den Einsatz von Labortieren“, veröffentlicht von dem National Institute of Health (NIH Publication No. 88.23, revised 1996).

Die Versuche wurden an 40 gesunden Schweinen, im Alter von drei bis vier Monaten beider Geschlechter und einem Gewicht von 28 - 34 kg durchgeführt. Fünf Tiere fungierten als Kontrollgruppe, die ebenfalls eine Anästhesie mittels Totaler intravenöser Anästhesie (TIVA) erhielten und auch sonst identisch bis zum Ende des Versuches behandelt wurden, ausgenommen der myokardialen Ischämie sowie der Reanimation.

Die Tiere stammten aus der Aufzuchtanstalt der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel in Achterwehr. Alle Schweine wurden am jeweiligen Versuchstag aus Achterwehr zum Tierexperimentellen-OP des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel transportiert. In der Nacht vor den Versuchen blieben die Schweine nüchtern, erhielten jedoch Wasser.

Alle Schweine erhielten vor dem Transport eine Gabe von 8 mg/kg Azaperon i.m. (intramuskulär) und 0,05 mg/kg Atropin i.m. Die Gabe des Sedativums wurde nach Bedarf wiederholt, so dass eine ständige Stressabschirmung der Tiere gewährleistet war.

Nach der Ankunft im Tierexperimentellen-OP bekamen die Tiere einen Venenverweilkatheter in eine Ohrvene gelegt. Die Narkoseeinleitung erfolgte mit 1-2 mg/kg Propofol i.v. (intravenös) noch in der Transportbox. Nach Verlegung auf den OP-Tisch wurde die Anästhesie mit 8 mg/kg/h Propofol sowie 0,3 µg/kg/h Sufentanil als TIVA fortgesetzt. Die Muskelrelaxierung wurde mit einer kontinuierlichen Infusion von 0,2 mg/kg/h Pancuronium sichergestellt.

Die Narkosetiefe wurde anhand des Blutdrucks sowie der Herzfrequenz gesteuert. Während der Vorbereitungsphase erhielten die Schweine weiterhin 10 ml/kg/h Ringerlaktatlösung, um den Flüssigkeitsbedarf abzudecken.

Die Schweine wurden endotracheal intubiert und volumenkontrolliert beatmet (Siemens SV 900 C, Erlangen, Deutschland). Dabei wurde ein  $\text{FiO}_2$  von 0,3 sowie eine Atemfrequenz von 20 Atemzügen pro Minute mit einem Tidalvolumen von 8 ml/kg eingestellt. Der positiv endexpiratorische Druck betrug 5 mmHg. Der inspiratorische Sauerstoffpartialdruck sowie der endtidale Kohlenstoffdioxidpartialdruck wurden überwacht (M-PRESTIN, Datex-Ohmeda Inc., Helsinki, Finnland).

Weiterhin wurde ein zentraler Venenkatheter (7F) in Seldingertechnik perkutan in die rechte Jugularvene eingebracht. Im weiteren Verlauf wurden alle Medikamente über diesen Zugangsweg appliziert.

Ebenfalls in Seldingertechnik wurde ein Thermodilutionskatheter (4F) in die rechte Femoralarterie gelegt. Nach Konnektion mit dem PiCCO (Puls Contour Cardiac Output)-System (Pulsion Medical Systems, München, Deutschland) wurde der mittlere arterielle Blutdruck (MAP), die Herzfrequenz (HF) sowie die Bluttemperatur kontinuierlich über diesen Katheter abgeleitet.

---

Des Weiteren wurden über den Katheter diskontinuierlich zu definierten Zeitpunkten das Herzzeitvolumen (HZV), basierend auf der Stewart-Hamilton-Gleichung berechnet.

$$\text{HZV} = \frac{k \cdot V_1 \cdot (T_B - T_1)^{-1}}{\sigma T \int B_{(t)} dt} \quad [\text{Stewart 1921; Kinsman et al. 1929}]$$

Zur Ermittlung des HZV wurde drei Mal in rascher Folge 10 ml NaCl-Lösung über den zentralen Venenkatheter appliziert und die gemessenen Ergebnisse arithmetisch gemittelt.

Der Cardiac Index wurde aus dem Quotient von HZV/Körperoberfläche (Körperoberfläche:  $0,0734 \cdot (\text{Körpergewicht in KG})^{0,656}$ ) [Kelley et al. 1973] berechnet.

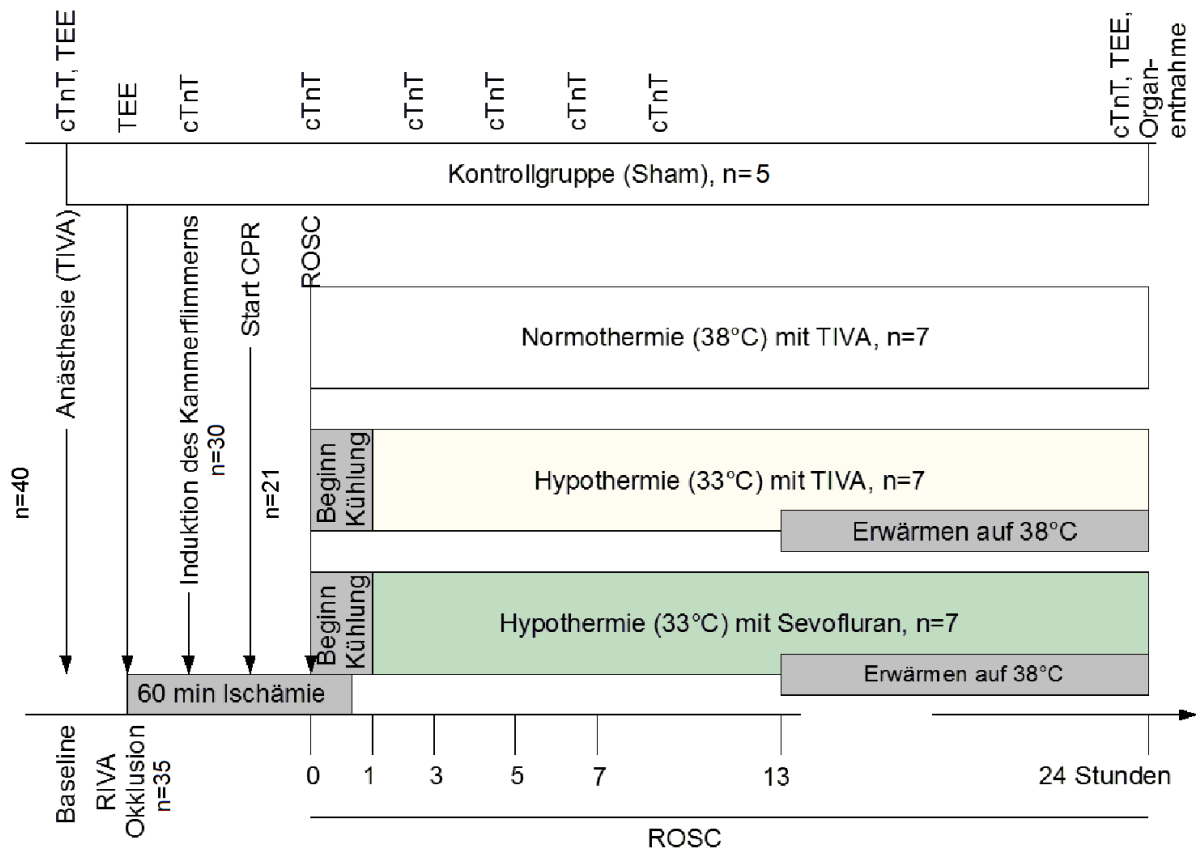
Die intravasalen Katheter wurden an einen Druckmesser (PiCCO plus, Software Version 6.0, Pulsion Medical Systems, München, Deutschland) angeschlossen, der an die Höhe des rechten Vorhofs angepasst wurde.

Alle Katheter wurden mit isotonischer Kochsalzlösung, versetzt mit 5 IE/ml Heparin und mit einem Fluss von 3 ml/h, gespült.

Der Herzrhythmus und mögliche Erregungsrückbildungsstörungen wurden mit einer kontinuierlichen EKG-Ableitung von II und V5 überwacht.

<sup>1</sup> HZV=Herzzeitvolumen, k=Konstante,  $V_1$ =Injektionsvolumen,  $T_B$ =Bluttemperatur,  $T_1$ =Injektionstemperatur,  $\sigma T \int B_{(t)} dt$  Flächenintegral der durch den Kältebolus hervorgerufenen Temperaturänderungen

## 2.2 Reanimationsversuch



**Abbildung 2.1:** Zeitlicher Ablauf des Reanimationsversuch

In der oberen Zeile sind die Zeitpunkte für die Entnahme des kardialen Troponin T (cTnT) und der transösophagealen Echokardiographie (TEE) vermerkt. Die unterste Zeile stellt die Zeitachse dar.

TIVA: Totale intravenöse Anästhesie; RIVA: Ramus interventricularis anterior; ROSC: Return of spontaneous circulation.

Die Abbildung 2.1 gibt einen Überblick über den Zeitablauf des Reanimationsversuch.

Nach Abschluss der Vorbereitungen wurde der Brustkorb der Schweine links lateral im vierten Intercostalraum unter sterilen Bedingungen chirurgisch geöffnet und der Ramus interventricularis anterior (RIVA) freipräpariert.

Zur Antikoagulation wurden 100 IE/kg Heparin i.v. injiziert. Nach Gabe von 10 ml Magnesium 10% und 50 mg Amiodaron i.v. zur Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen wurde eine Schlinge um den RIVA gelegt und zugezogen. Anschließend wurde der Brustkorb wieder verschlossen. Bei allen Tieren wurde standardisiert 20 Minuten nach RIVA-Okklusion Kammerflimmern elektrisch induziert.

Die Beatmung und die Narkose wurden mit Beginn des Kammerflimmerns unterbrochen.

Sieben Minuten nach Induktion des Kammerflimmerns wurde mit der Reanimation begonnen. Die Herzdruckmassage erfolgte manuell mit einer Frequenz von 100 Thoraxkompressionen pro Minute sowie einer Beatmung mit einem  $\text{FiO}_2$  von 1,0 im Verhältnis 30:2 für zwei Minuten.

Nach zwei Minuten wurde mit den erweiterten Maßnahmen entsprechend den aktuellen Richtlinien der American Heart Association begonnen [AHA 2005]. Zwei Minuten nach Beginn der Kardiopulmonalen Reanimation (CPR) wurde mit 100 J biphasisch defibriert (M-Serie Defibrillator, Zoll Medical Corporation, Chelmsford, USA) gefolgt von 120 J biphasischen Defibrillationen im Zwei-Minuten Intervall. Die Thoraxkompressionen erfolgten entsprechend den Richtlinien kontinuierlich und die Beatmung wurde mit einem  $\text{FiO}_2$  von 1,0 und 20 Atemzügen die Minute fortgesetzt. Darüber hinaus wurde im Drei-Minuten Intervall  $45 \mu\text{g/kg}$  Adrenalin verabreicht, unterbrochen von einmalig  $0,4 \text{ IE/kg}$  Vasopressin, entsprechend den American Heart Association Richtlinien.

Entsprechend den Utstein-Studien Richtlinien wurde der ROSC definiert durch einen nichtunterstützten Puls sowie einen systolischen Blutdruck  $\geq 60 \text{ mmHg}$  über 10 zusammenhängenden Minuten [Idris et al. 1996].

Beim Nicht-Eintreten vom ROSC wurden die Reanimationsmaßnahmen spätestens 30 Minuten nach Induktion des Herz-Kreislaufstillstands abgebrochen. Es wurde routinemässig eine Autopsie vorgenommen, um potentielle Thorax-Abdomenverletzungen dokumentieren zu können.

## 2.3 Intensivüberwachung

Bei allen Tieren wurde eine Stunde nach Beginn der RIVA-Okklusion die Schlinge gelöst, so dass eine myokardiale Reperfusion stattfinden konnte. Zu diesem Zeitpunkt wurde auch der  $\text{FiO}_2$  von 1,0 auf 0,4 reduziert. Die Überwachung der Beatmung erfolgte anhand des arteriellen  $\text{O}_2$ - sowie des  $\text{CO}_2$ - Partialdruck, kontrolliert durch kontinuierliche Blutgasanalysen.

Alle Tiere wurden intensivmedizinisch betreut. Es wurden dabei Zielbereiche für die folgenden Kreislaufparameter definiert:

- ein mittlerer arterieller Blutdruck > 60 mmHg
- ein zentralvenöser Druck > 6 mmHg
- eine zentralvenöse Sättigung von  $\geq 70\%$

Nach klinischen Kriterien wurden die Tiere je nach Bedarf mit Adrenalin, Noradrenalin und Vollelektrolytlösungen versorgt. Weiterhin erhielten sie im 8-Stunden-Intervall 1g Cefuroxim i.v. als Antibiotikaprophylaxe.

Nach Eintritt des ROSC wurde mit der gruppenspezifischen Therapie begonnen. Hierfür wurden die Tiere nach erfolgreicher Reanimation randomisiert in eine der folgenden Versuchsgruppen zugeteilt:

1. Normothermie (NT) bei  $38^\circ\text{C}$  mit TIVA
2. Milde therapeutische Hypothermie (HT) bei  $33^\circ\text{C}$  mit TIVA
3. Milde therapeutische Hypothermie kombiniert mit pharmakologischer Postkonditionierung mit Sevofluran (HT+SEV) bei  $33^\circ\text{C}$
4. Kontrollgruppe (Sham) bei  $38^\circ\text{C}$  mit TIVA

Die Tiere der Normothermiegruppe erhielten eine TIVA-Narkose und wurden bei einer Körpertemperatur von  $38^\circ\text{C}$  24 Stunden überwacht. Die weitere Vorbereitung erhielten sie wie in Abschnitt 2.1 beschrieben.

Die Tiere in der Hypothermiegruppe wurden mit Hilfe von kalten Druckinfusionen (Ringerlaktat bei 4°C) und oberflächlichen Eisaufgaben auf 33°C gekühlt. Nach Erreichen der Zieltemperatur wurden die Schweine 12 Stunden bei dieser Temperatur gehalten. Das Wiedererwärmen erfolgte mittels Wärmelampen und gewärmten Infusionen.

Die Tiere der Hypothermie+Sevoflurangruppe wurden entsprechend dem Protokoll für die Hypothermiegruppe gekühlt und wiedererwärmt. Die Anästhesie erfolgte mittels Sevofluran, bei einer angestrebten Minimalen alveolären Konzentration von 1, sowie 0,3 µg/kg/h Sufentanil. Die Muskelrelaxierung wurde mit einer kontinuierlichen Infusion von 0,2 mg/kg/h Pancuronium sichergestellt.

Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten eine TIVA-Narkose und wurden bei einer Körpertemperatur von 38°C 24 Stunden überwacht. Sie erhielten ebenfalls eine Thorakotomie, es wurde aber keine Okklusion des RIVA und auch kein Herz-Kreislaufstillstand induziert.

## **2.4 Echokardiographie und Hämodynamik**

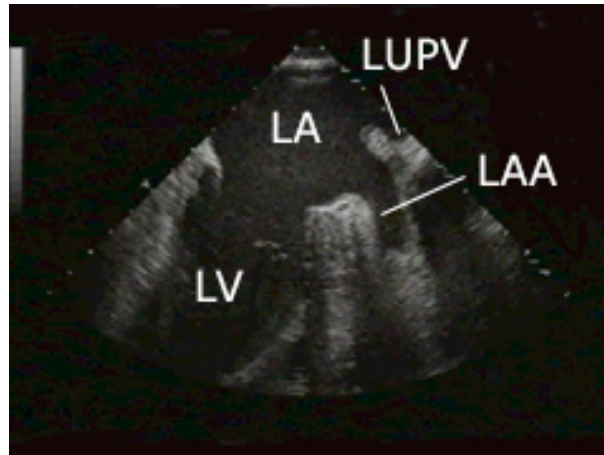
### **2.4.1 Transösophagale Echokardiographie (TEE)**

Alle echokardiographischen Messungen wurden aus dem Mittel von drei zusammenhängenden Herzzyklen aufgezeichnet und erfolgten entsprechend den Empfehlungen der Amerikanischen Gesellschaft für Echokardiographie [Gottdiener et al. 2004]. Die Echokardiographiedaten wurde stets von dem selben, erfahrenen Untersucher ermittelt (GE Healthcare, München, Deutschland).

Zu den Zeitpunkten Baseline, 20 Minuten nach der RIVA-Okklusion und 24h nach ROSC wurde eine transösophagale Echokardiographie durchgeführt.

---

Um die Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) zu bestimmen, wurde zur Errechnung der Volumina des linken Ventrikels in der Systole und in der Diastole unter Einstellung der Längsachse des Herzens und im Zweikammerblick die Ränder des Endokards unter Einschluss der Papillarmuskeln abgefahren.



**Abbildung 2.2:** Zweikammerblick bei der transösophagealen Echokardiographie

LA: Linker Vorhof; LV: Linke Kammer; LAA: Linke Vorhofohr; LUPV: Linke obere Pulmonalvene

Die Volumina wurden dann mit Hilfe der modifizierten biplanen Scheibchensummationsmethode nach Simpson berechnet:

$$\text{Volumen} = \frac{\pi}{4} \sum_{i=1}^n a_i \cdot b_i \cdot \frac{L}{n} \quad [\text{Solomonen 2007}]$$

Aus den berechneten endsystolischen und enddiastolischen Volumina wurden nach folgender Formel die LVEF berechnet:

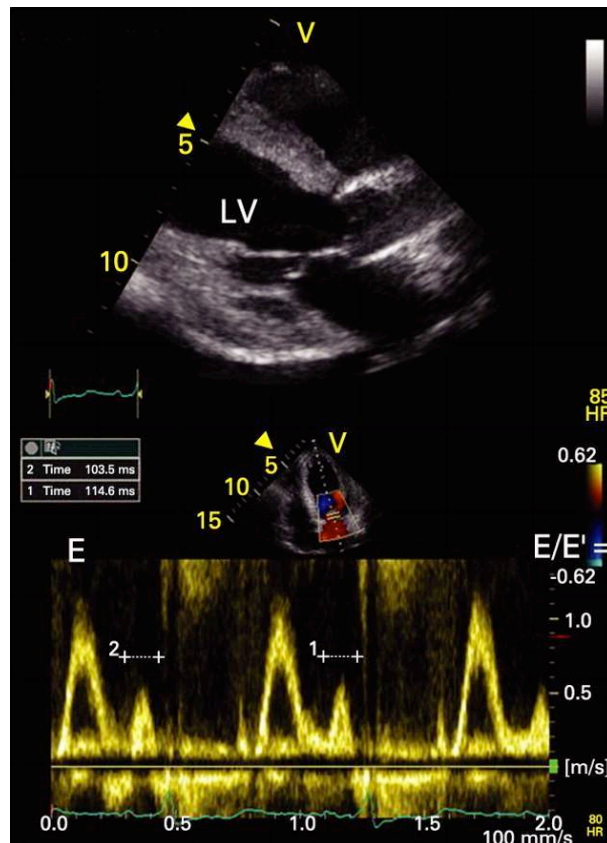
$$\text{LVEF} = \frac{\text{EDV} - \text{ESV}}{\text{EDV}} \cdot 100\% \quad [\text{Solomonen 2007}]$$

<sup>1</sup> n=Anzahl der Scheibchen, a=Durchmesser des Scheibchen in der 1. Ebene, b=Durchmesser des Scheibchen in der 2. Ebene, L=Länge des Ventrikels



<sup>2</sup> EDV=enddiastolische Volumen, ESV= endsystolische Volumen

Um die E/A Rate zu bestimmen, wurde der Geschwindigkeitsgipfel transmitral in der frühen (e) sowie in der späten (a) Phase der Diastole gemessen. Hierzu wurde die Mitralklappe aus der mittleren Ösophagusposition im Vierkammerblick dargestellt und mit dem PW-Doppler in der Diastole gemessen. Aus den gemessenen Ergebnissen wurde dann die E/A Rate berechnet.

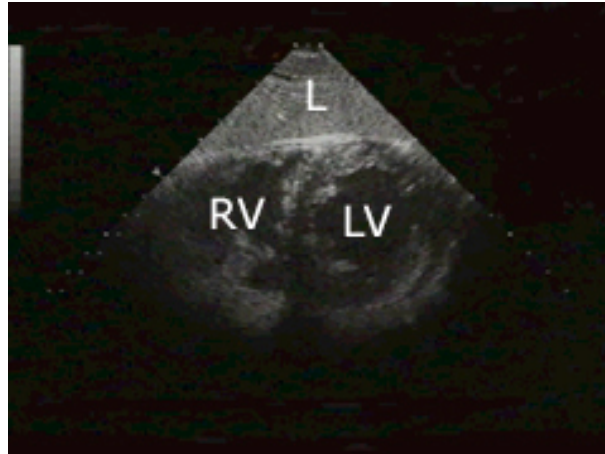


**Abbildung 2.3:** E/A Rate (Berechnung)

Geschwindigkeitsgipfel transmitral; E: Frühe Diastole; +---+: Späte Diastole

LV: Linker Ventrikel

Um die Fraktionelle Verkürzung (fractional shortening) zu bestimmen, wurde der transgastrale, mittelpapilläre Kurzblick des linken Ventrikels eingestellt, um den linksventrikulären endsystolischen und enddiastolischen Durchmesser mit dem multiplane Schallkopf im M-Mode zu messen.



**Abbildung 2.4:** Kurzachsenblick bei der transösophagealen Echokardiographie

L: Leber; RV: Rechte Kammer; LV: Linke Kammer

Hieraus wurde die Fraktionelle Verkürzung (fractional shortening) errechnet:

$$FS = \frac{EDD - ESD}{EDD} \cdot 100\% \quad [Solomonen 2007]$$

Der Myokardiale Performance Index hat sich als geeignet herausgestellt, um die systolische und diastolische Funktion zu beurteilen [Tei et al. 1995].

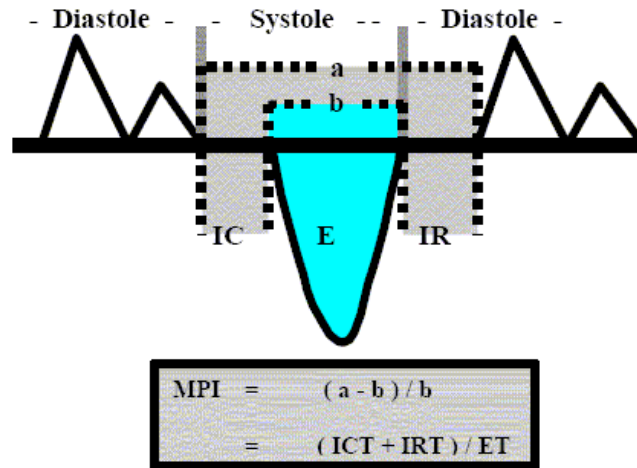
Das Intervall (a) wurde gemessen als die Zeit zwischen der Mitralklappenöffnung und dem Mitralklappenschluss. Diese Zeit ist gleich zu setzen mit der Summe der isovolumetrischen Kontraktionszeit, der Auswurfzeit sowie der isovolumetrischen Relaxionszeit. Die Ejektionszeit (b) wurde gemessen als die Zeit vom Beginn bis zum Ende des Blutflusses im linksventrikulären Ausflusstrakt.

Die Summe der isovolumetrischen Kontraktionszeit und der isovolumetrischen Relaxionszeit erhält man durch die Subtraktion (b) von (a).

Der MPI wird dann berechnet als:

$$MPI = \frac{a - b}{b}$$

<sup>1</sup> EDD=enddiastolische Ventrikeldurchmesser, ESD=endsystemische Ventrikeldurchmesser



**Abbildung 2.5:** Myokardialer Performance Index

ICT: Isovolumetrische Kontraktionszeit; IRT: Isovolumetrische Relaxationszeit;  
ET: Austreibungszeit

## 2.4.2 Hämodynamische Messungen

Die hämodynamischen Daten bestehen aus dem mittleren arteriellen Blutdruck (MAP), der Herzfrequenz (HF), dem endtidalen  $\text{CO}_2$  und dem Cardiac Index {Quotient aus HZV/Körperoberfläche (Körperoberfläche:  $0,0734 \cdot (\text{Körpergewicht in KG})^{0,656}$ )} [Kelley et al. 1973].

Diese Parameter wurden bei Baseline (BL), 20 Minuten nach der RIVA-Okklusion sowie 3h, 7h, 13h, sowie 24h nach ROSC ermittelt.

## 2.5 Bestimmung des Myokardschaden

### 2.5.1 Organentnahme und Myokardfärbung

Um zwischen ischämischem (Area-at-risk = AAR) und nicht-ischämischem Myokardgewebe (Area-at-no-risc = AANR) zu unterscheiden, wurde 24 Stunden nach ROSC der RIVA wieder okkludiert und der Farbstoff Evans Blue (40 ml von einer 2% Lösung) über den zentralvenösen Katheter injiziert. Die AANR Abschnitte des Myokard färben sich dabei blau, während sich die AAP Abschnitte nicht färben.

Anschließend wurde das Herz entnommen und der linke Ventrikel in sechs 4-mm dicke Scheiben geschnitten und digital photographiert. Daran anschließend wurden die Scheiben mit Triphenyl-tetrazolin-chlorid (1% Lösung) bei 37°C inkubiert und ein zweites Mal photographiert, um das Infarktareal zu ermitteln. Hierbei färbt sich das Infarktgewebe rot, während sich das Nicht-Infarktgewebe nicht färbt [Roesner et al. 2007]. Die Infarktgröße wurde von einem unabhängigen, verblindeten Untersucher als der prozentuale Anteil von der AAR ermittelt.

Ischämische und nicht-ischämische Herzgewebeproben wurden dann

- in flüssigen Stickstoff schockgefroren und bei -80°C gelagert, sowie
- in ca. 1 cm<sup>3</sup> große Stücke geschnitten und in 4% Formalin gelegt, um anschließend histologisch aufgearbeitet zu werden.

## **2.5.2 Bestimmung des Serumtroponinspiegel**

Den Schweinen wurden zu den Zeitpunkten Baseline, direkt nach ROSC sowie 1h, 3h, 5h, 7h, 13h und 24h nach ROSC Blutproben entnommen. Aus diesen wurde durch abzentrifugieren (3000g für 5 Minuten) das Serum gewonnen und bis zur Messung des kardialen Troponin T (cTnT) bei -20°C gelagert.

Das cTnT wurde von dem Institut für klinische Chemie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel gemessen. Der Gebrauch von humanen Prüfungen ist für die Bestimmung von tierischen cTnT zulässig [O'Brain et al. 1998].

## **2.6 Infiltration von Immunzellen und Apoptose**

### **2.6.1 Histologie / H&E Färbung**

Die in Formalin eingelegten Gewebsblöcke wurden zur Fixierung in Paraffin getaucht. Daraus wurden Scheiben von 7 µm Dicke geschnitten. Diese Proben wurden entfettet und anschließend in einer absteigenden Alkoholreihe je eine Minute lang gewässert.

Nach der Wässerung wurden die Schnitte zur Kernfärbung mit Hämatoxylin gefärbt. Die Plasmafärbung erfolgte mit Eosin, worin die Schnitte 2 Minuten lang inkubiert wurden. Danach wurden sie in einer aufsteigenden Alkoholreihe je eine Minute lang entwässert und abschließend mit Xylol geklärt sowie mit einem Deckglas versehen. Das Färbungsprotokoll entspricht dem der gängigen HE-Färbung [Lang 2006].

Die so gefärbten Schnitte wurden lichtmikroskopisch von einem unabhängigen, verblindeten Untersucher deskriptiv ausgewertet.

### **2.6.2 Bestimmung der Aktivität der Myeloperoxidase (MPO)**

Myeloperoxidase ist ein Enzym, welches in Leukozyten vorkommt und als Marker für die Immunzellinfiltration im Gewebe herangezogen werden kann [v. Bismarck et al. 2007].

Die Quantifizierung der Myeloperoxidaseaktivität in ischämischen (AAR) und nicht-ischämischen (AANR) myokardialen Gewebeproben wurde mit einem Myeloperoxidase Proben Kit (Cytostore, Calgary, Alberta, Canada) durchgeführt. Hierzu wurde die Absorption bei 450 nm direkt nach sowie darauf folgend im 60 Sekunden Intervall nach Zusatz von Chromogen gemessen.

### **2.6.3 Bestimmung der Procaspase 3/aktiven Caspase 3**

Caspase ist eine Protease, welche in der apoptotischen und inflammatorischen Kaskade involviert ist, besonders Caspase 3 ist ein zentraler Mediator der apoptotischen Kaskade [Abbate et al. 2002].

Um die Apoptose zu quantifizieren, wurde in einem ersten Schritt die ungespaltene Procaspase 3 durch Western Blotting ermittelt. Die Proteinexpression der 32-kDa Procaspase-3 (Cell signaling Technology, Danvers, USA) und des  $\beta$ -actin (ABCAM, Cambridge, USA) wurde aus homogenisierten Proben im gefrorenen, ischämischen myokardialen Gewebe ermittelt.

Um die Resultate des Western Blotting zu untermauern, wurde in einem zweiten Schritt eine Immunfluoreszenz benutzt, um die aktive Form der Caspase 3 in dem ischämischen myokardialen Gewebe darzustellen.

Hierzu wurden Paraffinblöcke durch Xylene vom Paraffin befreit. Hiernach wurden die Abschnitte in 10 ml Natriumcitrat erhitzt, eine Minute bei 740W, gefolgt von 9 Minuten bei 370W und für 15 Minuten bei 100W. Die Abschnitte wurden bei 4°C mit primären rabbit-antibodies gegen gespaltene Caspase 3 inkubiert (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA; AF 835), welche die p20/p17 Untereinheit in dem Zytoplasma der apoptotischen Zellen erkennen.

Die sekundären goat-, anti-rabbit antibodies (Alexa Fluor 488 SFX Kit, A 31628; Invitrogen, Paisley, UK) wurden mit grün-fluoreszierender Färbung markiert. Die Abschnitte wurden kontrastfarbend mit Bispenzimide (Sigma Aldrich, St. Louis, USA; B 2883) gefärbt. Nun wurden die immunfluoreszierenden Abschnitte mit einem Fluoreszenzmikroskop (Axiovert 200; Carl Zeiss, Jena, Deutschland) ausgewertet und photographiert.

## **2.7 Statistische Auswertung**

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit der Statistiksoftware GraphPad Prism 5.0 für Windows (GraphPadSoftware, San Diego, USA). Die Ergebnisse sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler bzw. Standardabweichung dargestellt.

Gruppenunterschiede wurden mit dem Vorzeichenrangtest von Wilcoxon untersucht, zweiseitige P-Werte von  $\leq 0,05$  wurden dabei als signifikant angesehen. Der Wilcoxon-Test setzt keine Normalverteilung voraus und eignet sich gut für die Analyse kleiner Datenmengen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Überlebensrate und Reanimationsdaten

Bei fünf von insgesamt 35 Tieren trat ein vorzeitig spontanes Kammerflimmern auf. Diese Tiere wurden ausgeschlossen. Von 30 Tieren mit induzierten Kammerflimmern konnte bei 21 ein ROSC erreicht werden. Diese 21 Tiere wurden in drei Gruppen randomisiert, so dass sich in jeder Gruppe sieben Tiere befanden.

Detaillierte Reanimationsdaten sind in folgender Tabelle dargelegt:

**Tabelle 3.1:** Zusammenfassung der Reanimationsdaten

	NT	HT	HT+SEV	p Werte
24h Überleben (n)	5/7	7/7	7/7	-
CPR Zeit bis zur erfolgreichen Reanimation (min)	9,7±2,8	10,3±3.4	10,5±3,1	0,939
Kumulative Adrenalinindosis [ $\mu$ g/kg]	100±44	101±47	93±33	0,828
Kumulative Vasopressindosis [IU/kg]	0,8±0,2	0,8±0,3	0,8±0,3	0,897
Kumulative Defibrillationsenergie [J]	755±420	703±413	795±199	0,854
Koronarer Perfusionsdruck 10 min. [mmHg]	31±9	26±11	28±6	0,559
Koronarer Perfusionsdruck 15 min. [mmHg]	39±28	40±25	38±24	0,890
Zeit bis zur Zieltemperatur 33°C [min]	-	47±10	45±15	-

Mittelwert  $\pm$  SD

CPR: Kardiopulmonale Reanimation; ROSC: Return of spontaneous circulation

Wie aus der Tabelle 3.1 hervorgeht, war die CPR Zeit bis zu einer erfolgreichen Reanimation, die kumulative Adrenalin- wie auch Vasopressindosis, die kumulative Defibrillationsenergie und der koronare Perfusionsdruck nach 10 bzw. 15 Minuten zwischen den Gruppen vergleichbar ( $p > 0,05$ ).

In den Gruppen Hypothermie und Hypothermie+Sevofluran überlebten sieben von sieben Tieren 24 Stunden. In der Normothermiegruppe überlebten 5 von sieben Tieren, zwei Tiere starben in der Postreanimationsphase aufgrund von hämodynamischer Instabilität. Diese Gruppenunterschiede im Überleben waren nicht signifikant ( $p = 0,65$ ).

Nur die Daten der Tiere, die bis zum Versuchende überlebt haben, gingen in die Auswertung mit ein.

## **3.2 Echokardiographie und Hämodynamik**

### **3.2.1 Transösophagale Echokardiographie (TEE)**

Vor dem Herz-Kreislaufstillstand konnte als Folge des akuten Verschlusses der RIVA sowohl in der Normothermie-, als auch in der Hypothermie- und in der Hypothermie +Sevofluran-Gruppe eine signifikante Reduktion der LVEF ( $p < 0,05$ ), des FS ( $p < 0,05$ ), der E/A Rate ( $p < 0,01$ ) sowie ein Anstieg des MPI ( $p < 0,05$ ) beobachtet werden.

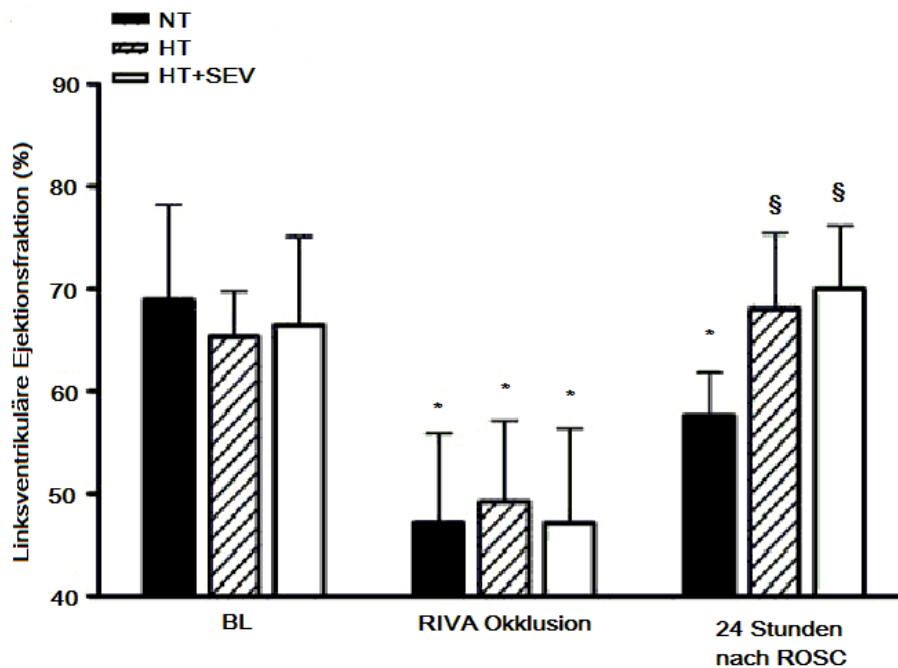
In der Normothermiegruppe zeigte sich 24 Stunden nach ROSC im Vergleich zur Baseline weiterhin eine signifikante Reduktion der LVEF ( $p < 0,05$ ), des FS ( $p < 0,05$ ), der E/A Rate ( $p < 0,05$ ) sowie Anstieg des MPI ( $p < 0,001$ ).

In der Hypothermiegruppe erreichten die echokardiographischen Variablen 24 Stunden nach ROSC die Messwerte der Baseline, beziehungsweise waren im Vergleich zu der Normothermiegruppe signifikant verbessert (LVEF  $p < 0,05$ , FS  $p < 0,05$ , E/A Rate  $p < 0,05$  und MPI  $p < 0,01$  vs. Normothermie).



In der Hypothermie+Sevoflurangruppe erreichten die echokardiographischen Variablen ebenfalls 24 Stunden nach dem ROSC die Messwerte der Baseline, beziehungsweise waren ebenfalls im Vergleich zu der Normothermiegruppe signifikant verbessert (LVEF  $p < 0,05$ , FS  $p < 0,05$ , E/A Rate  $p < 0,05$ ) und MPI  $p < 0,01$  vs. Normothermie).

In den nachfolgenden Abbildungen sind die Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (Abb. 3.1), die fraktionelle Verkürzung (Abb. 3.2), die E/A Rate (Abb. 3.3) sowie der Myokardiale Performance Index (Abb. 3.4) in für die Normothermiegruppe, die Hypothermiegruppe und die Hypothermie+Sevoflurangruppe zu den Zeitpunkten der BL, der RIVA Okklusion und 24 Stunden nach ROSC graphisch dargestellt.

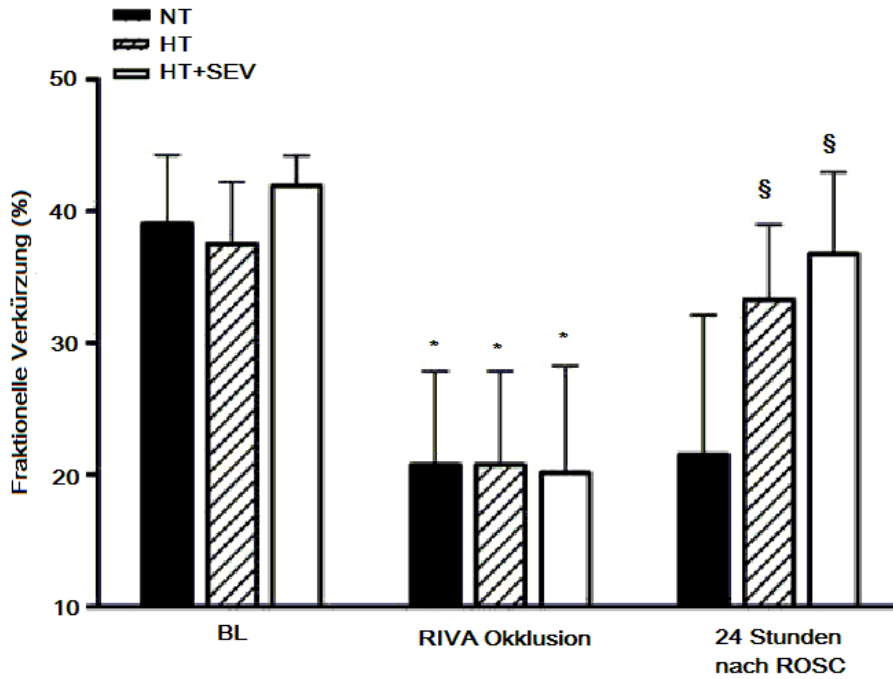


**Abbildung 3.1:** Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (%)

\* $p < 0,05$  vs. Baseline; § $p < 0,05$  vs. NT

RIVA: Ramus interventrikularis anterior; BL: Baseline;

ROSC: Return of spontaneous circulation

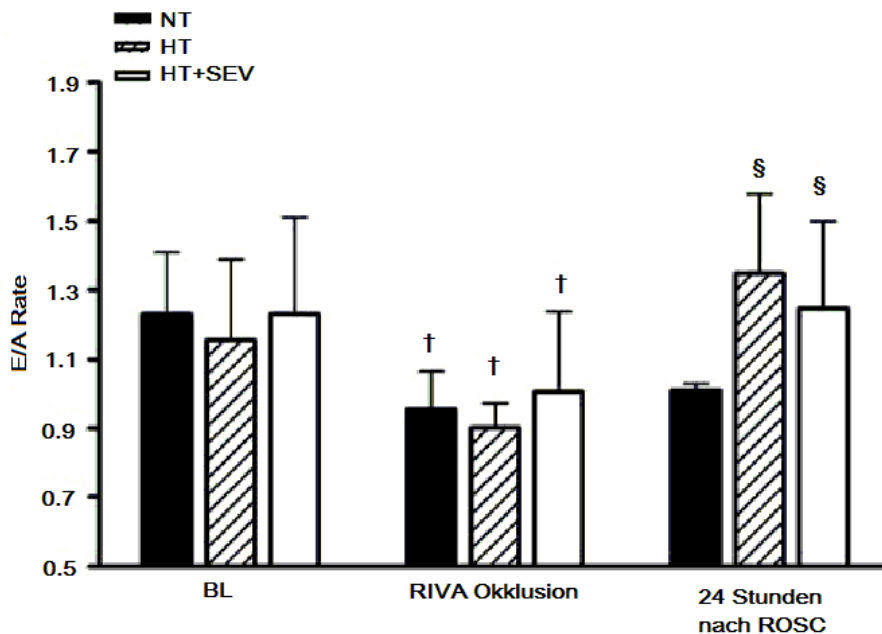


**Abbildung 3.2:** *Fraktionelle Verkürzung (%)*

\*p<0,05 vs. Baseline; §p<0,05 vs. NT

RIVA: Ramus interventrikularis anterior; BL: Baseline

ROSC: Return of spontaneous circulation

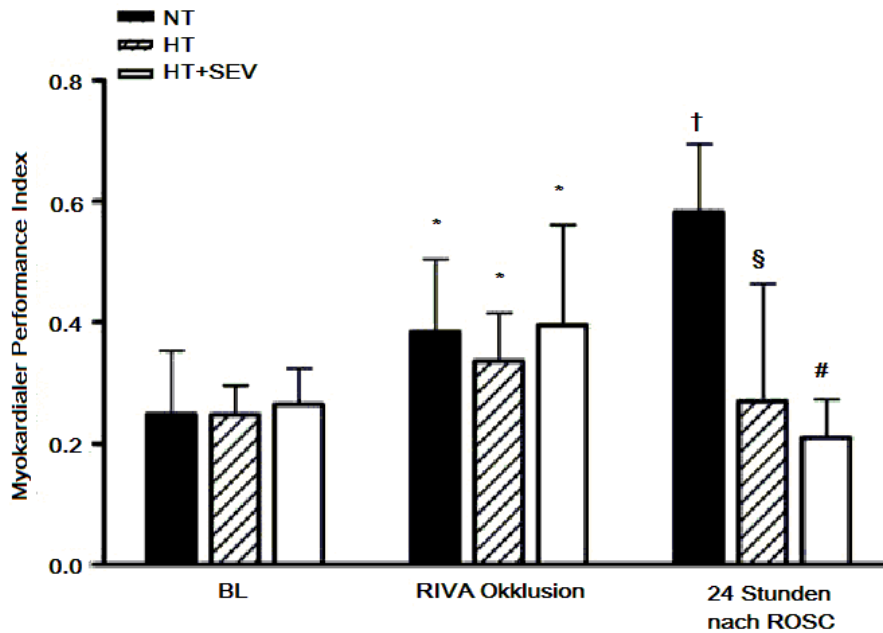


**Abbildung 3.3:** *E/A Rate (Ergebnisse)*

†p<0,01 vs. Baseline; §p<0,05 vs. NT

RIVA: Ramus interventrikularis anterior; BL: Baseline

ROSC: Return of spontaneous circulation



**Abbildung 3.4:** Myokardialer Performance Index

\* $p < 0,05$ , † $p < 0,01$  vs. Baseline; § $p < 0,05$ , # $p < 0,01$  vs. NT

RIVA: Ramus interventrikularis anterior; BL: Baseline

ROSC: Return of spontaneous circulation

### 3.2.2 Häemodynamische Messdaten

Die hämodynamischen Messdaten, bestehend aus der Herzfrequenz, dem MAP, dem endtidalen  $\text{CO}_2$  sowie dem Cardiac Index {Quotient aus HZV/Körperoberfläche (Körperoberfläche:  $0,0734 \cdot (\text{Körpergewicht in KG})^{0,656}$ )} [Kelley et al. 1973] differierten nicht signifikant zwischen den einzelnen Gruppen (korrigiert für wiederholte Zeitmessungen, mit einem zweiseitigen  $p$  Wert  $\leq 0,007$ ).

Tabelle 3.2 und 3.3 gibt einen Überblick über die ermittelten Messdaten.

**Tabelle 3.2:** *Hämodynamische Daten (Baseline, RIVA Okklusion, ROSC)*

	<b>NT</b>	<b>HT</b>	<b>HT+SEV</b>	<b>p Werte</b>
<b>Baseline</b>				
HF	107±21	105±14	96±15	0,342
MAP [mmHg]	65±13	70±11	71±13	0,314
ET <sub>CO<sub>2</sub></sub> [mmHg]	40±5	36±4	37±5	0,180
CI [L/min/m <sup>2</sup> ]	7,4±1,8	6,8±1,3	7,4±1,7	0,580
<b>RIVA Okklusion</b>				
HF	103±14	99±17	95±18	0,609
MAP [mmHg]	57±6	57±7	63±13	0,469
ET <sub>CO<sub>2</sub></sub> [mmHg]	40±3	40±3	36±5	0,050
CI [L/min/m <sup>2</sup> ]	5,1±0,7	5,1±0,8	5,4±1,1	0,662
<b>ROSC</b>				
HF	94±18	99±33	96±21	0,988
MAP [mmHg]	55±6	65±21	60±8	0,225
ET <sub>CO<sub>2</sub></sub> [mmHg]	39±9	42±4	39±7	0,363
CI [L/min/m <sup>2</sup> ]	4,4±0,5	4,5±1,9	4,6±1,0	0,982

HF: Herzfrequenz; MAP: Mittlerer arterieller Blutdruck;

ET<sub>CO<sub>2</sub></sub>: Expiratorische Kohlenstoffdioxidkonzentration; CI: Cardiac Index;

ROSC: Return of spontaneous circulation; RIVA: Ramus interventricularis anterior

**Tabelle 3.3:** Hämodynamische Daten (Postreanimationsphase 3h-24h)

	NT	HT	HT+SEV	p Werte
<b>3h ROSC</b>				
HF	131±19	147±8	117±19	0,005
MAP [mmHg]	58±6	58±6	55±6	0,799
ET <sub>CO<sub>2</sub></sub> [mmHg]	39±5	36±4	35±4	0,080
CI [L/min/m <sup>2</sup> ]	6,3±1,2	5,9±0,7	6,4±1,7	0,819
<b>7h ROSC</b>				
HF	131±17	140±22	127±20	0,821
MAP [mmHg]	58±4	59±12	61±8	0,820
ET <sub>CO<sub>2</sub></sub> [mmHg]	37±7	35±4	35±2	0,731
CI [L/min/m <sup>2</sup> ]	6,2±0,4	5,5±1,1	7,6±1,2	0,010
<b>13h ROSC</b>				
HF	135±20	121±44	116±17	0,627
MAP [mmHg]	53±4	58±6	60±10	0,474
ET <sub>CO<sub>2</sub></sub> [mmHg]	38±7	36±3	36±7	0,636
CI [L/min/m <sup>2</sup> ]	5,7±0,4	5,7±0,4	7,0±1,4	0,175
<b>24h ROSC</b>				
HF	154±25	143±19	124±24	0,297
MAP [mmHg]	46±6	57±12	54±4	0,249
ET <sub>CO<sub>2</sub></sub> [mmHg]	37±4	41±1	37±2	0,180
CI [L/min/m <sup>2</sup> ]	5,6±0,2	7,1±1,6	8,7±1,8	0,139

HF: Herzfrequenz; MAP: Mittlerer arterieller Blutdruck;

ET<sub>CO<sub>2</sub></sub>: Expiratorische Kohlenstoffdioxidkonzentration; CI: Cardiac Index;

ROSC: Return of spontaneous circulation; RIVA: Ramus interventricularis anterior.

Die kumulative Gabe von kristalloider Infusionslösung sowie die kumulative Adrenalindosis waren 24 Stunden nach ROSC zwischen den Gruppen (Volumengabe  $p=0,540$ , Adrenalindosis  $p=0,812$ ) nicht signifikant verschieden (Tab. 3.4).

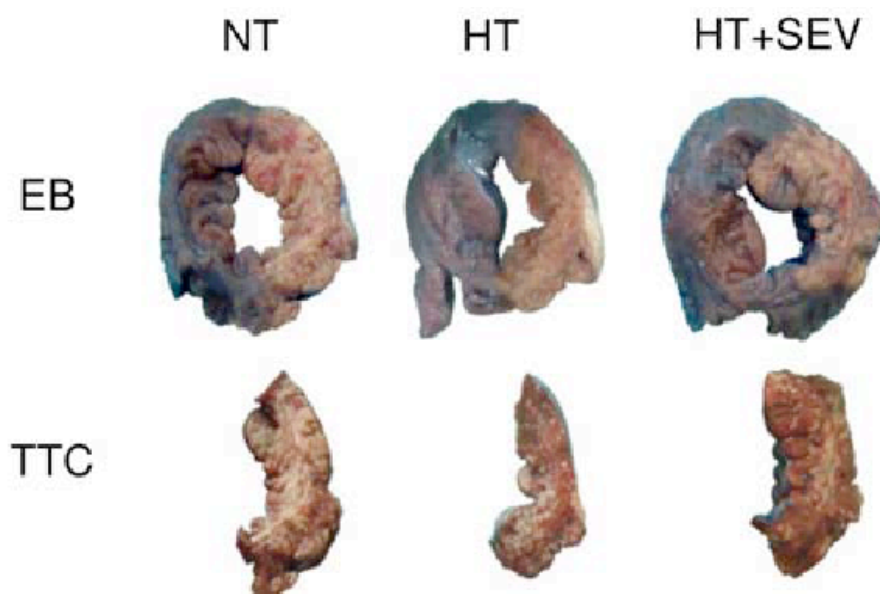
**Tabelle 3.4:** Kumulative Volumengabe und Adrenalindosis in den Gruppen

	<b>NT</b>	<b>HT</b>	<b>HT+SEV</b>	<b>p Werte</b>
Volumengabe [ml]	4241±1244	3987±932	4627±1056	$p=0,540$
Adrenalindosis [mg]	4,4±1,6	4,9±2,1	5,1±1,8	$p=0,812$

### 3.3 Myokardschaden

#### 3.3.1 Myokardfärbung

Abbildung 3.5 zeigt exemplarisch die Doppelfärbung. Die blauen Anteile (EB=Evans blue) repräsentieren die gesunden, perfundierten Herzabschnitte (AANR=Area-at-no-risk), die unter EB nicht blau gefärbten Anteile die AAR (Area-at-Risk). Die AAR differiert nicht zwischen den Gruppen. In der darauf folgenden Färbung mit Triphenyltetrazolium (TTC) konnte das Infarktareal markiert werden. Die Infarktgröße wurde als der prozentuale Anteil der AAR ermittelt.



**Abbildung 3.5:** *Myokardfärbung*

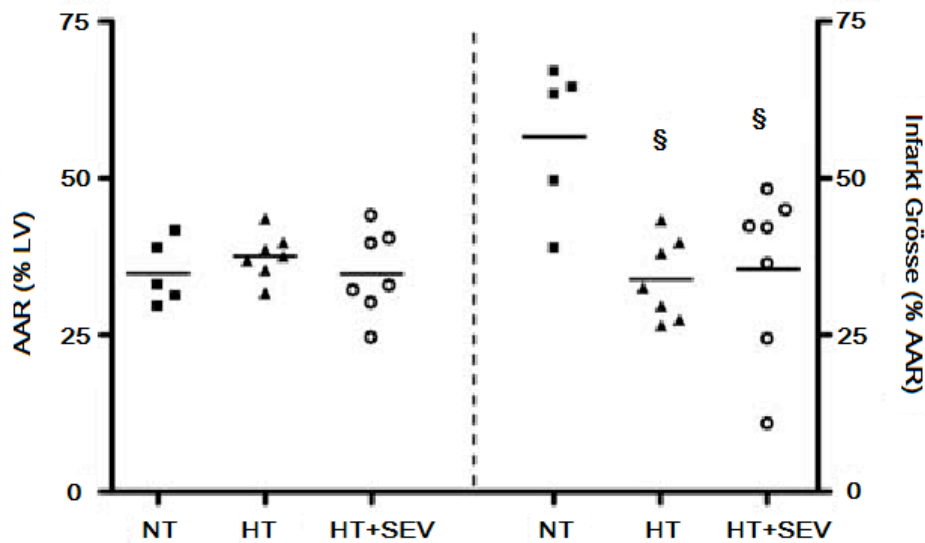
EB: Evans blue=Gesundes, perfundiertes Myokard; TTC: Triphenyltetrazolium=Ausgeschnittene Area-at-risk mit rot markiertem Infarktareal;

NT: Normothermiegruppe; HT: Hypothermiegruppe;

HT+Sev: Hypothermie+Sevoflurangruppe

In der Normothermiegruppe lag die Infarktgrösse bei  $57\% \pm 12\%$ . In der Hypothermiegruppe zeigte sich eine Infarktgrösse von  $34\% \pm 7\%$  und in der Hypothermie+Sevoflurangruppe von  $35\% \pm 7\%$ .

Mit diesen Ergebnissen war die Infarktgrösse in der Hypothermiegruppe und in der Hypothermie+Sevoflurangruppe im Vergleich zu der Normothermiegruppe signifikant reduziert ( $p < 0,05$ , siehe Abbildung 3.6).



**Abbildung 3.6:** Infarktgrösse in Prozent

AAR (Area at risk) in % des linken Ventrikel (LV); Infarktgrösse in % der AAR (Area at risk), § $p < 0,05$  vs. NT

NT: Normothermiegruppe; HT: Hypothermiegruppe

HT+Sev: Hypothermie+Sevoflurangruppe

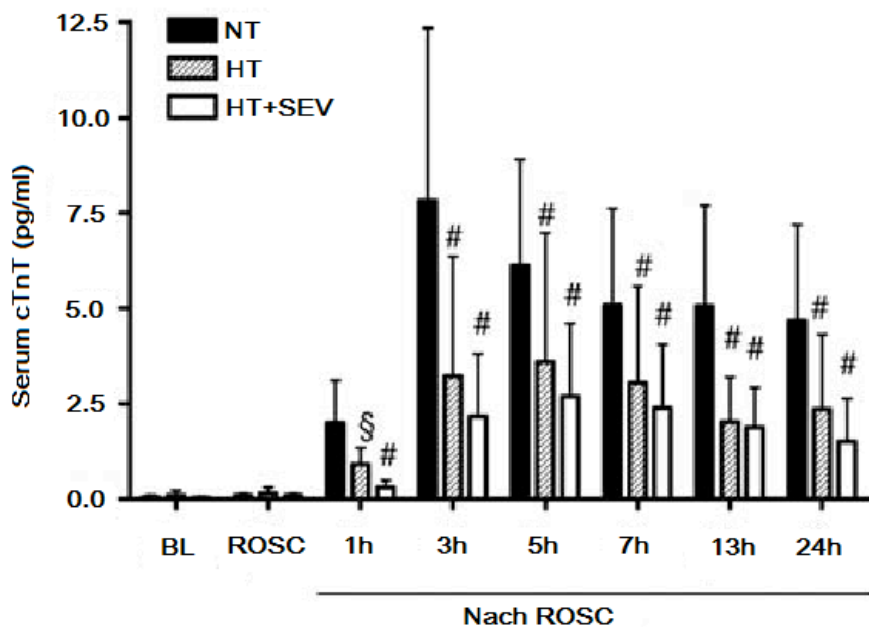
### 3.3.2 Serumentroponinspiegel

Zu den Zeitpunkten der Baseline, des ROSC sowie 1h, 3h, 5h, 7h, 13h und 24h nach ROSC wurden die entsprechenden Messungen des Serumspiegels von Troponin T vorgenommen. Für die Gruppen Normothermie, Hypothermie, Hypothermie +Sevofluran wurde der Mittelwert aus den Werten der Tiere der jeweiligen Gruppe bestimmt und die Standardabweichung berechnet.



Die Baselinemessungen sowie die Messungen zum ROSC-Zeitpunkt jeder Gruppe unterschieden sich statistisch nicht signifikant.

Der maximale cTnT Anstieg der Normothermiegruppe (7,82 pg/ml  $\pm$  4,52 pg/ml) war signifikant höher als der maximale Anstieg in der Hypothermiegruppe (3,61 pg/ml  $\pm$  3,37 pg/ml,  $p < 0,01$ ) sowie in der Hypothermie+Sevoflurangruppe (2,69 pg/ml  $\pm$  1,91 pg/ml,  $p < 0,01$ ).



**Abbildung 3.7:** Serum cTnT (kardiales Troponin T)

Mittelwert  $\pm$  SD; § $p < 0,05$ ; # $p < 0,01$  vs. NT

BL: Baseline; ROSC: Return of spontaneous circulation

NT: Normothermiegruppe; HT: Hypothermiegruppe

HT+Sev: Hypothermie+Sevoflurangruppe

Die Abbildung 3.7 zeigt, dass die Troponin T Serumspiegel der Normothermiegruppe nach ROSC stets statistisch signifikant höher waren als in der Hypothermiegruppe ( $p < 0,01$ ).

Im Vergleich zur Normothermiegruppe stieg bei der Hypothermie+Sevoflurangruppe der Troponin T Serumspiegel langsamer an und erreichte einen deutlich niedrigeren Spitzenwert, was sich durch signifikante Unterschiede der beiden Gruppe zeigt ( $p < 0,001$ ).

Die Spitzenwerte der Hypothermie+Sevoflurangruppe waren zwar tendenziell niedriger als in der Hypothermiegruppe, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

### **3.4 Infiltration von Immunzellen und Apoptose**

#### **3.4.1 Histologie**

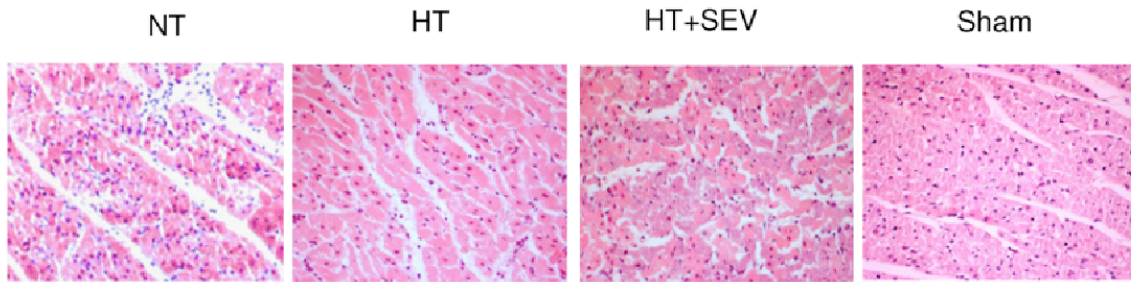
Von den Myokardgewebeproben jedes Tieres wurden histologische Schnitte hergestellt. Im Folgenden werden exemplarisch je ein Schnitt aus jeder Gruppe gezeigt (Abb. 3.8).

In der Kontrollgruppe (Sham) war gesundes Myokardgewebe zu sehen. Die Zellkerne waren normal gross und in normaler Anzahl vorhanden. Anzeichen für apoptotisches Geschehen wie Kernverkleinerung oder Kernfragmentierung waren nicht zu sehen.

Die Histologie des Myokardgewebes der Tiere aus der Normothermiegruppe zeigte eine vermehrte Leukozyteninfiltration.

In der Hypothermiegruppe waren ebenfalls Leukozyteninfiltrationen zu erkennen, doch deutlich weniger ausgeprägt als in der Normothermiegruppe.

Auch im Myokardgewebe der Tiere der Hypothermiegruppe+Sevofluran war eine Leukozyteninfiltration zu erkennen, doch wieder weniger ausgeprägt, als im Vergleich zu der Normothermiegruppe. In der Tendenz war sogar ein geringerer Schädigungsgrad als in der Hypothermiegruppe zu erkennen.



**Abbildung 3.8:** *H&E Färbung*

Vermehrte Leukozyteninfiltration in der Normothermiegruppe

NT: Normothermiegruppe; HT: Hypothermiegruppe

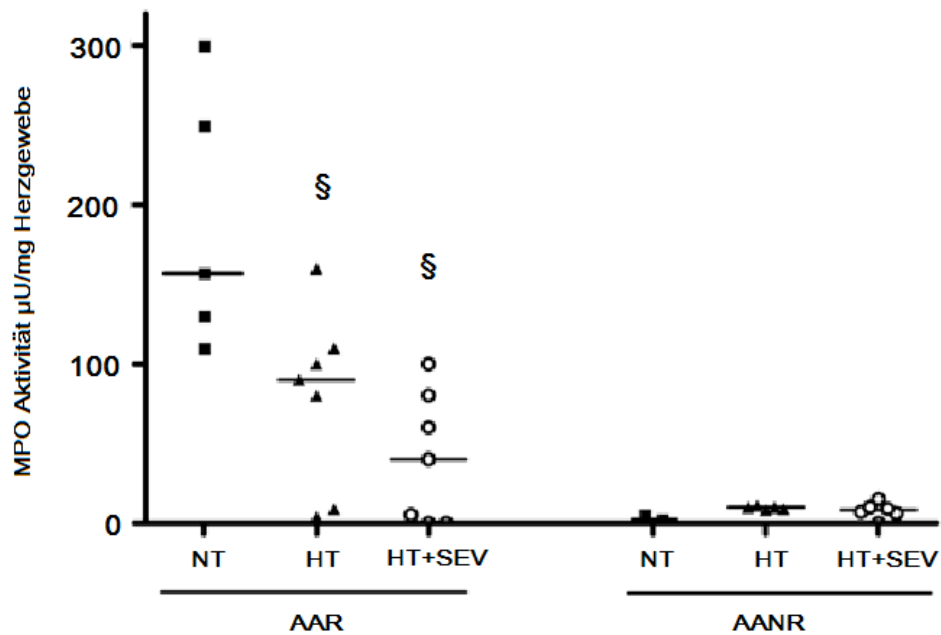
HT+Sev: Hypothermie+Sevoflurangruppe; Sham: Kontrollgruppe

### 3.4.2 Aktivität der Myeloperoxidase (MPO)

Die Aktivität der MPO liegt in der Normothermiegruppe bei  $190 \pm 80 \mu\text{U}/\text{mg}$ , in der Hypothermiegruppe bei  $80 \pm 50 \mu\text{U}/\text{mg}$  und in der Hypothermie+Sevoflurangruppe bei  $40 \pm 40 \mu\text{U}/\text{mg}$ .

Der Unterschied der Normothermiegruppe zu der Hypothermiegruppe und der Hypothermie+Sevoflurangruppe war damit signifikant ( $p < 0,05$ , siehe Abbildung 3.9). Dieses Ergebnis korreliert mit dem morphologischen Resultaten der Histologie.

Zwischen der Hypothermiegruppe und der Hypothermie+Sevoflurangruppe konnten keine statistischen Unterschiede gezeigt werden ( $p > 0,05$ ), es zeigten sich aber auch hier in der Hypothermie+Sevoflurangruppe in der Tendenz kleinere Werte der MPO-Aktivität als in der Hypothermiegruppe.



**Abbildung 3.9:** MPO Aktivität

§ $p < 0,05$  vs. NT

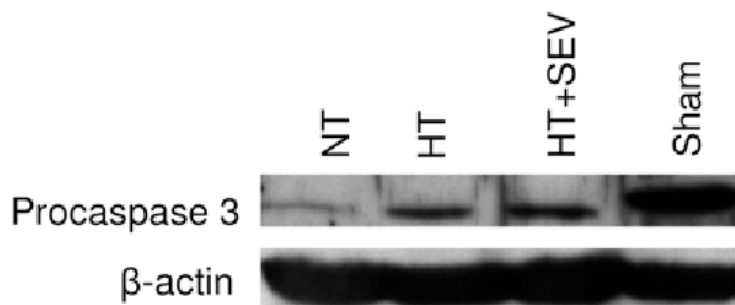
AAR=Area-at-risk; AANR=Area-at-no-risk

NT: Normothermiegruppe; HT: Hypothermiegruppe

HT+Sev: Hypothermie+Sevoflurangruppe

### 3.4.3 Procaspase 3/aktive Caspase 3

Die myokardiale Proteinexpression von Procaspase 3 und  $\beta$ -actin wurden von allen Tieren der Studie per Western Blotting bestimmt. Abbildung 3.10 zeigt exemplarisch Banden von Procaspase 3 und  $\beta$ -actin.

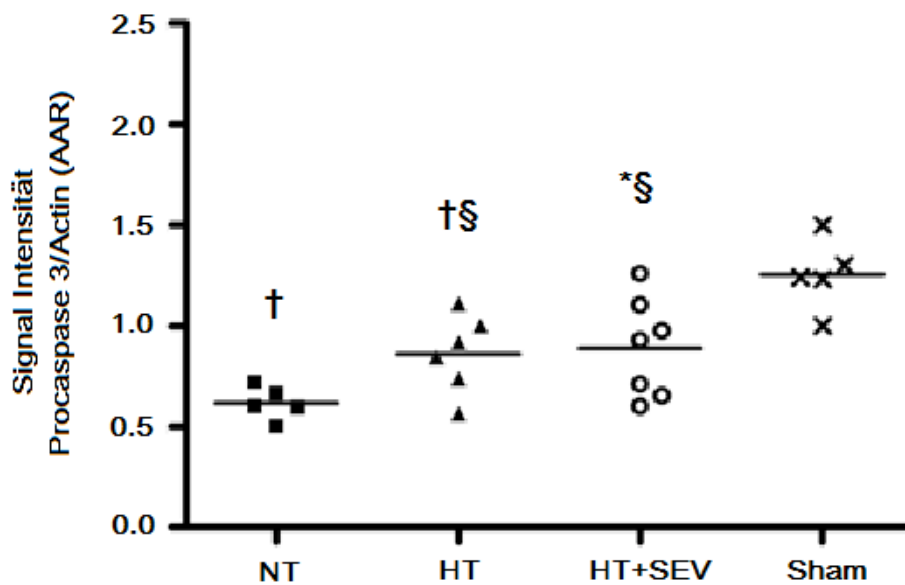


**Abbildung 3.10:** Western Blotting von Procaspase 3/ $\beta$ -actin

NT: Normothermiegruppe; HT: Hypothermiegruppe; HT+Sev: Hypothermie +Sevoflurangruppe; Sham: Kontrollgruppe

Die Proteinkonzentrationen von Procaspase 3 war in der Normothermiegruppe ( $0.62 \pm 0,08$  a.u.) im Vergleich zu der Shamgruppe ( $1,25 \pm 0,18$  a.u.) signifikant erniedrigt ( $p < 0,01$ ), erkennbar in Abbildung 3.11.

Ebenso zeigte sich die Proteinkonzentration von Procaspase 3 im Vergleich der Hypothermiegruppe sowie der Hypothermie+Sevoflurangruppe zu der Normothermiegruppe signifikant erniedrigt ( $p < 0,05$ ).



**Abbildung 3.11:** Signalintensität der Procaspase/ $\beta$ -actin)

\* $p < 0,05$ , † $p < 0,01$  vs. Sham; § $p < 0,05$  vs. NT

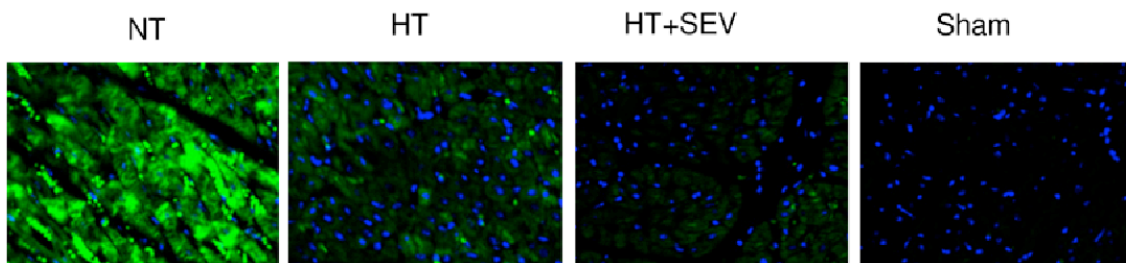
AAR=Area-at-risk Gewebe; NT: Normothermiegruppe; HT: Hypothermiegruppe

HT+Sev: Hypothermie+Sevoflurangruppe; Sham: Kontrollgruppe

Um das Ergebnis des Western Blotting zu bestätigen, wurde in einem zweiten Schritt eine Immunfluoreszenz benutzt, um die deutliche Senkung der aktiven Caspase 3 in der Hypothermiegruppe und Hypothermie+Sevoflurangruppe im Vergleich zu der Normothermiegruppe zu belegen (Abbildung 3.12).

Hier konnte eine erhöhte Caspase 3 Aktivität in der Normothermiegruppe im Vergleich zu der Kontrollgruppe (Sham) gezeigt werden.

Weiterhin war eine Reduktion der Caspase 3 Aktivität in der Hypothermie- und in der Hypothermie+Sevoflurangruppe im Vergleich zu der Normothermiegruppe zu erkennen.



**Abbildung 3.12:** *Immunfluoreszenz der Caspase 3 Aktivität*

NT: Normothermiegruppe; HT: Hypothermiegruppe

HT+Sev: Hypothermie+Sevoflurangruppe; Sham: Kontrollgruppe

## 4 Diskussion

Das akute Koronarsyndrom auf dem Boden einer koronaren Herzkrankheit ist die Hauptursache für einen präklinischen Herz-Kreislaufstillstand [Neumar et al. 2008; Pell et al. 2003].

Obwohl ein Grossteil der Patienten mit einem Herz-Kreislaufstillstand initial erfolgreich reanimiert werden kann, ist das Langzeitüberleben nach einer erfolgreichen Reanimation aber seit Jahren unverändert schlecht. Hauptursache für das schlechtere Langzeitüberleben stellen neurologische Schäden dar [Roewer et al. 1985]. Weitere große Probleme, welche ebenfalls die Mortalität wie auch die Morbidität erhöhen, sind im Rahmen des Postreanimationssyndroms das sekundäre Herz-Kreislaufversagen, myokardiale Funktionsstörungen, Entzündungsreaktionen und Homöostasestörungen [Oddo et al. 2008].

Im Rahmen des Postreanimationssyndrom steht im Bezug auf die reduzierte Myokardfunktion das so genannte myokardiale Stunning im Vordergrund [Heyndrickx et al. 2006]. Hier ergibt sich bedingt durch die Reanimationsmaßnahmen sowie die Ischämie und Reperfusionvorgänge eine reversible linksventrikuläre Funktionseinschränkung.

Die milde therapeutische Hypothermie hat sich im Rahmen von zwei grossen Studien im Jahre 2002 [HACA Group 2002; Bernard et al. 2002] als geeignet erwiesen, über die Verlangsamung von Stoffwechselfvorgängen zum Beispiel eine Reduktion von Apoptosevorgängen im Hirngewebe zu bewirken, was sich sowohl signifikant positiv auf das Überleben wie auch die Überlebensqualität ausgewirkt hat. Dies führte zu einer Aufnahme der milden therapeutischen Hypothermie in die Reanimationsrichtlinien aus dem Jahre 2005 [Nolan et al. 2005]. Bei anderen vitalen Geweben, wie dem Myokard, konnten diese positiven Effekte bisher noch nicht nachgewiesen werden.

Insbesondere in der Herzchirurgie hat sich die pharmakologische Postkonditionierung als eine Möglichkeit herausgestellt, den Myokardschaden signifikant zu reduzieren [Kawamura et al. 2006]. Hier zeigte sich, dass das Sevofluran im Vergleich zu anderen Narkotika Vorteile aufweist [Bein et al. 2005].

Gerade in Bezug auf das Postreanimationssyndrom infolge eines Myokardinfarktes, hier unter besonderer Betrachtung des Myokardschadens, liegen aktuell wenige Daten vor. Daher beschäftigt sich der Versuchsaufbau mit einem Myokardinfarkt am Schweinmodell mit nachfolgender Reanimation, mit der Postreanimationsphase und hier speziell mit dem zentralen Problem der Auswirkungen des Postreanimationssyndroms am Myokard.

Im Rahmen dieser Arbeit wird die gängige Standardtherapie der Normothermie mit zwei Therapieansätzen, der milden therapeutischen Hypothermie sowie der pharmakologischen Postkonditionierung in Verbindung mit der milden therapeutischen Hypothermie, in der Postreanimationsphase verglichen.

Wir konnten zeigen, dass die milde therapeutische Hypothermie nach myokardialer Ischämie und kardiopulmonaler Reanimation den Myokardschaden und die myokardiale Dysfunktion signifikant reduziert. Darüber hinaus senkt die milde therapeutische Hypothermie die Immunzellinfiltration wie auch die Apoptose.

Weiterhin konnten wir zeigen, dass die pharmakologische Postkonditionierung mit Sevofluran in Verbindung mit der milden therapeutischen Hypothermie diese positiven Effekte auf das Myokard noch verstärkt, wenngleich keine statistische Signifikanz vorlag.

#### **4.1 Modell**

Die alleinige Okklusion einer Koronararterie zur Induktion einer regionalen Myokardischämie ohne einen nachfolgendem Herz-Kreislaufstillstand stellt ein seit Jahren etabliertes Modell dar [Vilahur et al. 2009; Holz et al. 2009; Schuleri et al. 2008].

Ebenso stellt die Induktion von Kammerflimmern mit globaler Ischämie im Rahmen eines Herz-Kreislaufstillstands seit Jahrzehnten ein Modell dar, um Maßnahmen der kardiopulmonalen Reanimation zu untersuchen [Meybohm et al. 2008; Theochari et al. 2008; Lozano et al. 2008].



In der klinischen Praxis tritt aber bei einem Grossteil der Patienten mit einem Herz-Kreislaufstillstand die Kombination aus regionaler myokardialer Ischämie und globaler Ischämie auf.

Insbesondere ist die Koronarischämie im Rahmen eines akuten Koronarsyndrom auf dem Boden der koronaren Herzkrankheit die Hauptursache für einen präklinischen Herz-Kreislaufstillstand [Neumar et al. 2008; Pell et al. 2003]. Dieser tritt in bis zu zwei Drittel aller Fälle auf [McLaughlin et al. 2009].

Auf diesen epidemiologischen Zusammenhang wurde in vorausgegangenen experimentellen Studien im Rahmen des Versuchsaufbaus nur unzureichend eingegangen. Insofern soll in dieser Arbeit ein möglichst realitätsnahes Szenario des Herz-Kreislaufstillstands mit einer myokardialen Ischämie die Grundlage bilden.

Verschiedene Studien konnten bereits zeigen, dass eine regionale Myokardischämie nicht nur den Reanimationserfolg, sondern auch die Postreanimationsfolgen beeinflusst.

Laurent und Kollegen konnten zum Beispiel nachweisen, dass eine Verminderung der kardialen Funktion durch eine myokardiale Ischämie den Reanimationserfolg signifikant verringert, im Vergleich zu einer normalen kardialen Funktion vor einem Herz-Kreislaufstillstand [Laurent et al. 2002].

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass nach einer Okklusion des RIVA die Reanimation schwieriger war und Herz-Rhythmusstörungen häufiger auftraten [Wang et al. 2007].

So konnten Ristagno und Kollegen ebenso wie Niemann und Kollegen nachweisen, dass bereits allein durch das Okkludieren des RIVA während der Reanimation die Reanimierbarkeit, das Überleben nach Reanimationen, wie auch die kardiale Funktion reduziert waren [Ristagno et al. 2007; Niemann et al. 2007].

Darüber hinaus ist die Konzentration von Entzündungs- und Apoptosemediatoren im Serum erhöht, wenn parallel zur Reanimation eine Okklusion des RIVA vorliegt [Niemann et al. 2008]. Dies ist im Hinblick auf die Untersuchung der Infiltration von Immunzellen sowie der Apoptose im Myokard im Rahmen unsere Untersuchung von besonderem Interesse.

Das vorliegende Modell simuliert das Eintreten eines Myokardinfarktes durch die komplette Okklusion des Ramus interventricularis anterior. Im Anschluss daran wurde als „second hit“ ein Herz-Kreislaufstillstand mit Kammerflimmern elektrisch induziert. Daran anschließend gab es eine Phase mit 7-minütigen Kammerflimmern, welches den Zeitraum bis zum Eintreffen eines möglichen Ersthelfers, First Responders beziehungsweise des Rettungsdienstes widerspiegelt. Nach weiteren zwei Minuten Basisreanimation begannen die erweiterten Reanimationsmaßnahmen, was laut aktuellen Reanimationsrichtlinien die Zeit darstellt, in welcher eine Herzdruckmassage stattfinden soll, wenn ein nicht beobachteter Herz-Kreislaufstillstand vorgefunden wird.

## **4.2 Auswirkung auf die Myokardfunktion**

Unsere Daten zeigen, dass die Hypothermiegruppe die Myokardfunktion im Vergleich zu der Normothermiegruppe verbessert.

Diese verbesserte Myokardfunktion in der Hypothermiegruppe zeigt sich vorallem in den Daten der transösophagealen Echokardiographie.

Hier war die linksventrikuläre Ejektionsfraktion als Zeichen der systolischen Herzfunktion in allen Gruppen zum Zeitpunkt der Okklusion im Vergleich zu der Baseline erniedrigt.

Nach 24 Stunden zeigte sich sowohl in der Hypothermiegruppe wie auch in der Hypothermiegruppe plus Sevofluran eine linksventrikuläre Ejektionsfraktion auf Baselinenniveau, die damit signifikant besser im Vergleich zu der Normothermiegruppe war.

Bei den weiteren Parametern der transösophagealen Echokardiographie, wie der fraktionellen Verkürzung, der E/A Rate und dem Myokardialen Performance Index konnte ebenfalls eine signifikante Verbesserung der beiden Hypothermiegruppen im Vergleich zu der Normothermiegruppe aufgezeigt werden.

Die schlechtere 24h Überlebensrate in der Normothermiegruppe könnte unter anderem durch die verminderte Myokardfunktion begründet sein, wenngleich sich aufgrund der geringen Fallzahlen die Unterschiede als nicht signifikant erwiesen.

Die positiven Effekte auf die Myokardfunktion durch die milde therapeutische Hypothermie konnten in der Vergangenheit bereits durch mehrere Studien nachgewiesen werden.

So wurde gezeigt, dass das myokardiale Stunning infolge der Reanimation bei einem Herz-Kreislaufstillstand, welcher nicht durch eine Myokardischämie bedingt war, durch die Anwendung der milden therapeutischen Hypothermie verbessert werden konnte [Tsai et al. 2008].

Hamamoto und Kollegen konnten bei Schafen nachweisen, dass nach einstündiger myokardialer Ischämie durch den Einsatz der milden therapeutischen Hypothermie die Myokardfunktion ebenfalls verbessert werden konnte [Hamamoto et al. 2009].

Kern und Kollegen haben belegt, dass die linksventrikuläre Ejektionsfraktion bei der Reanimation an einem Schweinemodell nach 30 Minuten deutlich reduziert war, während sie sich ohne besondere Therapie nach 48 Stunden wieder erholt hat [Kern et al. 1996].

Mit der hier vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass mit der Anwendung der Hypothermie wie auch mit Hypothermie und pharmakologischer Postkonditionierung die Erholung der LVEF bereits nach 24 Stunden vollzogen war, was eine deutliche Verbesserung der Erholungszeit des Myokards darstellen könnte.

Die Arbeitsgruppe um Hsu konnte die Verbesserung der Myokardfunktion nach einer Reanimation durch eine moderate therapeutische Hypothermie bei 30-31°C nachweisen [Hsu et al. 2009].

Mit der vorliegenden Arbeit war diese Verbesserung bereits mit 33 °C zu erreichen, was für den klinischen Alltag eine Reduktion potentieller Komplikationen bedeuten könnte.

Insoweit zeigen diese Daten, dass die milde therapeutische Hypothermie, sofern verfügbar, für den klinischen Alltag eine viel versprechende neue Therapieoption darstellt, die bei einer reduzierten Myokardfunktion in Folge eines Herz-Kreislaufstillstands in der Postreanimationsphase positive Effekte hat.

In der klinischen Routine zeichnen sich hier aber auch kontroverse Betrachtungsweisen ab [Holzer et al. 2008].

Zwar konnten Wolfrum und Kollegen nachweisen, dass die Kombination von früher Kühlung und Perkutaner transluminärer Koronarer Angioplastie bei Patienten mit einem Herz-Kreislaufstillstand nach myokardialer Ischämie möglich, sicher und vorteilhaft für den Patienten ist [Wolfrum et al. 2008].

Dem gegenüber stehen Ergebnisse, die bei Patienten mit einem Myokardinfarkt ohne Herz-Kreislaufstillstand keinen positiven Nutzen der milden therapeutischen Hypothermie zeigten [Dixon et al. 2002; Ly et al. 2005].

Daher muss im klinischen Alltag wohl zwischen Patienten mit einer regionalen myokardialen Ischämie allein und Patienten, die im Rahmen der koronaren Ischämie einen Herz-Kreislaufstillstand mit einer globalen Ischämie erleiden und reanimiert wurden, unterschieden werden.

Bezüglich des Nutzens der pharmakologischen Postkonditionierung mit Sevofluran konnte in einigen Studien gezeigt werden, dass die Herzfunktion günstig beeinflusst wird.

So wurde im Tierexperiment an isolierten Ratten- und Schweineherzen gezeigt, dass sowohl die pharmakologische Postkonditionierung allein am normothermen Herzen [Chen et al. 2008; Deyhimi et al. 2007] wie auch die Kombination von pharmakologischer Postkonditionierung in Verbindung mit Hypothermie [Chen et al. 2002], die Myokardfunktion positiv beeinflusst.

In einer klinischen Studie konnten durch Thibault und Kollegen weiterhin gezeigt werden, dass nach einem ischämischen Myokardinfarkt und nachfolgender ischämischer Postkonditionierung sowohl kurz- wie auch langfristig die Myokardfunktion verbessert werden konnte [Thibault et al. 2008].

### 4.3 Auswirkung auf den Myokardschaden

Der Myokardschaden wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit mit zwei Methoden objektivierbar gemacht.

Zum einen wurde eine Myokardfärbung durchgeführt, um die Infarktgrösse zu ermitteln, wie sie in Vorarbeiten bereits beschrieben wurde [Roesner et al. 2007].

Hier konnte eine signifikante Reduzierung der Infarktgrösse in den beiden Hypothermiegruppen im Vergleich zu der Normothermiegruppe ermittelt werden.

Dieses Ergebnis stimmt mit den aufgezeigten positiven Effekten der Hypothermie auf die Myokardfunktion überein. Weiterhin könnte hier aber auch eine Ursache für die positiven Auswirkungen der Hypothermiegruppen auf die myokardiale Funktion vorliegen.

So konnten zum Beispiel Zhao und Kollegen in einer Arbeit nachweisen, dass nach einem ischämischen Myokardinfarkt eine Postkonditionierung mit Sevofluran den Myokardschaden, wie auch die Infarktgrösse um bis zu 45 % reduziert [Zhao et al. 2003].

In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass die regionale Anwendung von Hypothermie eine Reduktion der Zellschäden in der Area at Risk bewirkt [Dave et al. 1998].

Die vorliegende Arbeit hat ergeben, dass eine signifikante Reduktion der Infarktgrösse in unserem Modell eines Herz-Kreislaufstillstands bei vorausgegangenem ischämischen Myokardinfarkt mit der milden therapeutischen Hypothermie wie auch in der Kombination von milder therapeutischer Hypothermie und pharmakologischer Postkonditionierung im Vergleich zu der Normothermie erreicht werden kann.

Zum anderen wurde zur Ermittlung des Myokardschadens der Serumspiegel des kardialen Markers Troponin T bestimmt.

Dieses Herzenzym ist ein sensitiver Marker für Myokardschäden, welcher bereits wenige Stunden nach dem ischämischen Ereignis ansteigt. Aufgrund der weiterhin vorhandenen hohen Spezifität für Myokardzellen stellt das Troponin T daher im klinischen Alltag den Goldstandard zur Diagnostik des ischämischen Myokardinfarktes dar [ESC 2000].

In der Normothermiegruppe stieg das kardiale Troponin T im Serum im Vergleich zur Baseline signifikant an. Der Maximale Anstieg war nach drei Stunden zu beobachten.

Sowohl in der Hypothermiegruppe wie auch in der Hypothermiegruppe in Kombination mit Sevofluran konnten signifikant niedrigere Serumtroponinspiegel im Vergleich zu der Normothermiegruppe ermittelt werden. Ebenso war in den beiden Hypothermiegruppen der maximale Anstieg des kardialen Troponin T niedriger als in der Normothermiegruppe.

Damit konnte aufgezeigt werden, dass die milde therapeutische Hypothermie zu einer Reduktion des Myokardschadens geführt hat.

Die in der Tendenz niedrigeren Werte in der Gruppe mit Hypothermie und Sevofluran im Vergleich zu der alleinigen Hypothermie waren zwar nicht signifikant, können aber einen zusätzlichen Nutzen der pharmakologischen Postkonditionierung vermuten lassen.

Es liegen keine Studien vor, die mit einem ähnlichen Versuchsaufbau die Wirkung der milden therapeutischen Hypothermie auf das Troponin T bisher untersucht hätten.

Zwei Studien haben ergeben, dass sich im Rahmen von Herzoperationen mit Hilfe der milden therapeutischen Hypothermie der Troponin I Spiegel signifikant senken lässt [Vazquez-Jimenez et al. 2001; Codispoti et al. 2006]. Obwohl bei diesen Studien das Troponin I untersucht wurde, kann man Hinweise erkennen, dass durch die milde therapeutische Hypothermie der Myokardschaden verringert werden kann.

Im Hinblick auf den Einfluss der pharmakologischen Postkonditionierung mit Sevofluran auf die Freisetzung von Troponin T lässt sich anhand der aktuellen Studienlage kein ähnlicher Versuchsaufbau mit einem Reanimationsmodell finden.

Wieder ist es der Bereich der Kardiochirurgie, der die Erkenntnisse hervorgebracht hat, dass Sevofluran kardioprotektiver im Vergleich zu Propofol ist, gezeigt an niedrigeren Troponin T Spiegel [Yildirim et al. 2009].

Unsere Arbeitsgruppe um Bein und Kollegen konnte bei Herzoperationen ebenfalls die kardioprotektive Wirkung des Sevofluran im Vergleich zu Propofol herausarbeiten [Bein et al. 2005].

Die Effekte der Postkonditionierung konnten ebenfalls durch Sevofluran gezeigt werden, das, in der Reperfusionphase appliziert, den Myokardschaden nach Ischämie reduziert [Varadarajan et al. 2002].

Eine weitere Studie konnte bei einem Schweinemodell mit Herz-Kreislaufstillstand eine Reduzierung des neurologischen Schadens sowie eine Verbesserung des frühen neurologischen Defizit bei der Verwendung von Xenon in der Reperfusionphase nachweisen [Fries et al. 2008].

Der Effekt von milder therapeutischer Hypothermie in Verbindung mit pharmakologischer Postkonditionierung auf die Freisetzung von Troponin T nach ischämischen Myokardinfarkt und nachfolgender Reanimation ist gänzlich unerforscht.

Zusammenfassend lässt sich hier sagen, dass es für die milde therapeutische Hypothermie sowie auch für die milde therapeutische Hypothermie in Verbindung mit der pharmakologischen Postkonditionierung mit Sevofluran bei ischämischen Myokardinfarkt und nachfolgender Reanimation keine ausreichende Datenlage in Bezug auf den Troponinspiegel gibt.

Es gibt zwar einige Studien, die grundlegende Zusammenhänge aufzeigen, aber in wieweit ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Troponin T Spiegel und schlechtem Outcome bei Myokardinfarkt und nachfolgender Reanimation besteht und ob das Troponin T bei diesen Patienten ein unabhängiger Risikofaktor ist, müssen erst noch weitere Studien herausarbeiten.

#### 4.4 Auswirkung auf die Immunzellinfiltration und Apoptose

Die Immunzellinfiltration wie auch Apoptosevorgänge wurden im Rahmen dieser Arbeit anhand von drei Parametern betrachtet.

Zum Einen wurde anhand einer H&E-Färbung die Immunzellinfiltration deskriptiv untersucht, zum Anderen wurde über die Aktivität der Myeloperoxidase (MPO) eine quantitative Beurteilung der Immunzellinfiltration getroffen.

Anhand der Bestimmung der Procaspase 3 sowie der Caspase 3 konnten Apoptosevorgänge verglichen werden und über eine darauf folgende Immunfluoreszenz sichtbar gemacht werden.

Wir konnten in der vorliegenden Arbeit bei der H&E-Färbung zeigen, dass die Immunzellinfiltration wie auch der deskriptiv beschriebene Zellschaden, sowohl in der Hypothermiegruppe wie auch in Hypothermiegruppe in Verbindung mit Sevofluran, deutlich geringer ausfiel, als in der Normothermiegruppe.

Aufgrund des deskriptiven Vorgehens ist eine Vergleichbarkeit mit anderen Studien nur bedingt möglich, zumal keine vergleichbaren histologischen Präparate vorliegen.

In einem weiteren Schritt konnten wir quantitativ nachweisen, dass die Aktivität der Myeloperoxidase, als Maß für die Immunzellinfiltration, in der Hypothermiegruppe sowie noch deutlicher in der Hypothermiegruppe mit Sevofluran im Vergleich zu der Normothermiegruppe signifikant reduziert waren.

Dieses Ergebnis korreliert mit der in der H&E-Färbung ermittelten reduzierten Immunzellinfiltration in der Hypothermiegruppe und der Hypothermie plus Sevoflurangruppe.

Auch für die Aktivität der Myeloperoxidase gibt es keine vergleichbaren Daten. Die reduzierte Immunzellinfiltration in den Hypothermiegruppen stellt aber sicherlich einen weiteren Marker dar, um den Myokardschaden bei einem ischämischen Myokardinfarkt und nachfolgender Reanimation beurteilen zu können.



Die Proteinkonzentration von Procaspase 3 als inaktive Form der Caspase 3 war sowohl in der Hypothermiegruppe wie auch in der Hypothermiegruppe in Verbindung mit Sevofluran signifikant erhöht im Vergleich zu der Normothermiegruppe.

Diese Ergebnisse konnten über eine darauf folgende Immunfluoreszenz sichtbar gemacht werden und korrelierten eng mit den quantitativ ermittelten Daten aus dem Western Blotting.

So wurde bereits in zwei Studien eine positive Wirkung von milder therapeutischer Hypothermie auf das Myokardgewebe sowie auf neuronales Gewebe gefunden.

Pastuszko und Kollegen konnten im Rahmen einer Herz Operation am Neugeborenen-Schweinmodell durch die Anwendung der milden therapeutischen Hypothermie eine Reduzierung der Expression von Caspase-3 nachweisen [Pastuszko et al. 2009].

Phanithi und Kollegen konnten zeigen, dass die Expression von Caspase-3 nach einer neuronalen Ischämie durch die Anwendung von milder therapeutischer Hypothermie reduziert werden konnte [Phanithi et al. 2000].

Ren und seine Kollegen haben nachgewiesen, dass der Schlüsselfaktor nach myokardialer Ischämie die Infiltration von Immunzellen ist und über die darauf folgenden Immunprozesse, wie Apoptose, der Myokardschaden maßgeblich mitbestimmt wird [Ren et al. 2003].

Hier konnte durch die vorliegende Arbeit gezeigt werden, dass unter dem Einfluss der Hypothermie wie auch der Hypothermie in Verbindung mit einer pharmakologischen Postkonditionierung mit Sevofluran die Immunzellinfiltration und darauf folgende Apoptosevorgänge bei ischämischen Myokardinfarkt und nachfolgender Reanimation verringert werden konnten.

Dies stellt sicherlich einen zusätzlichen Erklärungsansatz dar, um die ebenfalls ermittelte verbesserte myokardiale Funktion in den Hypothermiegruppen zu erklären.

## 4.5 Limitation

In einigen Punkten mussten bei diesem experimentellen Schweinemodell, welches ein Herz-Kreislaufstillstand in Folge einer Myokardischämie simuliert und ein möglichst realitätsnahes klinisches Szenario widerspiegelt, Einschränkungen in Kauf genommen werden. Dies betrifft vor allem die folgenden Punkte:

Die notfallmedizinische Forschung hat nicht nur zum Ziel, die Überlebensraten zu untersuchen, sondern auch die Lebensqualität des Patienten nach dem Überleben eines Herz-Kreislaufstillstandes zu beurteilen. Insbesondere ist hier das neurologische Outcome von entscheidender Bedeutung.

Im aktuellen Projekt war aber aus ethischer Sicht das Aufwachen der Tiere nach offener Thorakotomie, erfolgreicher Reanimation und intensivmedizinischer Betreuung nicht möglich.

Die Induktion der Hypothermie startete nach Wiedereinsetzen des Spontankreislaufs, aber noch während der myokardialen Ischämie, was sich auf die kardioprotektiven Effekte der Hypothermie ausgewirkt haben könnte.

Hier zeigen allerdings tierexperimentelle und klinische Studien [Hale et al. 1997; Holzer et al. 2008], dass die Hypothermie vor einer myokardialen Reperfusion indiziert ist, da sonst der protektive Effekt der Hypothermie komplett verloren gehen würde, wenn der Start der Kühlung verspätet in der Reperfusionsphase beginnt.

Die komplette Verblindung der Untersuchung war aufgrund des Versuchsaufbaus nicht durchgehend zu gewährleisten. Die Ermittlung der Infarktgrösse, die Auswertung der TEE Parameter, wie auch die Serum- und Gewebeprobe wurden von verblindeten Untersuchern analysiert.

Weiterhin befanden sich die Tiere bei der Induktion der Ischämie bereits in Narkose, was sicherlich nur in Ausnahmefällen der Realität entspricht. Hier könnten durch Stressreduktion durch Anästhesie bereits protektive Effekte vorgelegen haben. Diese waren aber durch den kontrollierten Versuchsablauf bei allen Tieren gleich.

Bei dem Versuch wurden Schweine verwendet. Schweine sind mit ihren anatomischen und physiologischen Eigenschaften dem Menschen am ähnlichsten. Bei aller Ähnlichkeit zum Menschen lassen sich sicherlich aber nicht alle Erkenntnisse auf den Menschen übertragen.

Die jungen Schweine entsprachen auch nicht den typischen Patienten mit koronarer Herzerkrankung, da sie nicht den typischen Risikofaktoren wie Nikotinabusus, Hypertonus, Diabetes mellitus oder einer Hypercholesterinämie ausgesetzt waren und somit keine Arteriosklerose aufwiesen.

Längerfristige Folgen gerade im Bereich des Myokards wie auch die Folgen der unterschiedlichen Therapien konnten nicht untersucht werden. Obwohl der Versuchsaufbau mit einer 24-stündigen Überwachungsphase, der entsprechenden Vorbereitung und Nachbereitung, wie auch der Anzahl der Tiere bereits ein deutlich überdurchschnittlicher Versuchsaufbau war, verglichen mit anderen Studien, hätte diese Untersuchung noch ein Vielfaches an finanziellen wie auch logistischen Mehraufwand erfordert.

Zum Schluss konnten gerade bei der Hypothermiegruppe mit Sevofluran im Vergleich zu der reinen Hypothermiegruppe zusätzliche protektive Effekte aufgezeigt werden, die sich aber nicht als statistisch signifikant darstellten. Dies könnte an den bereits ausgeprägten positiven Effekten der milden therapeutischen Hypothermie liegen, sodass sich die pharmakologische Postkonditionierung dagegen nicht mehr abhebt. Gegebenenfalls verhindert die Hypothermie auch die effektive Wirkung der pharmakologischen Postkonditionierung durch die Verlangsamung des Metabolismus. Weiterhin könnte die geringe Fallzahl in diesem Zusammenhang noch eine Rolle spielen.

## 4.6 Schlussfolgerung

Zusammenfassend konnte gezeigt werden:

- Nach einem Myokardinfarkt mit anschließendem Herz-Kreislaufstillstand zeigte sich eine kardiale Dysfunktion sowie eine myokardiale Schädigung. Darüber hinaus konnte die Infiltration von Immunzellen und eine erhöhte Apoptoserate nachgewiesen werden.
- Durch die milde therapeutische Hypothermie in der Postreanimationsphase konnte im Vergleich zur Normothermie die kardiale Dysfunktion, die myokardiale Schädigung wie auch die Infiltration von Immunzellen und die Apoptoserate reduziert werden.
- Die pharmakologische Postkonditionierung in Kombination mit der Hypothermie in der Reperusionsphase konnte weitere positive Effekte auf die kardiale Funktion, die myokardiale Schädigung wie auch die Infiltration von Immunzellen und die Apoptose im Vergleich zu der alleinigen Hypothermie aufweisen. Diese Effekte zeigen sich aber nicht als statistisch signifikant.

In weiteren tierexperimentellen- wie auch klinischen Studien wäre es sicherlich interessant, die positiven Effekte der Sevoflurananwendung, gerade auch unabhängig von der Hypothermie, weiter zu ergründen.

Eine weitere Verbesserung könnte darin bestehen, den Koronarstatus der Schweine realistischer abzubilden, um dem Gefäßstatus eines Patienten mit koronarer Herzkrankheit näher zukommen.

## 5 Zusammenfassung

Trotz verbesserter Reanimationsmaßnahmen und ein daraus resultierendes besseres primäres, initiales Überleben nach präklinischer Reanimation bleibt das Langzeitüberleben bei Patienten mit präklinischen Herz-Kreislaufstillstand immer noch sehr schlecht. Hier liegen die Gründe vor allem in der schwierigen Behandlung des Postreanimationssyndroms.

Bei dieser Arbeit wurden drei Therapieoptionen i) die Normothermie, ii) die milde therapeutische Hypothermie und iii) die pharmakologische Postkonditionierung mit Sevofluran in Kombination mit milder therapeutischen Hypothermie speziell unter Betrachtung der Auswirkungen auf die Myokardfunktion, den Myokardschaden sowie die Infiltration von Immunzellen und die Apoptose in der Postreanimationsphase verglichen.

Hierzu wurden in einem tierexperimentellen Schweinemodell 30 Tiere nach einer Okklusion des RIVA und 7-minütigen Kammerflimmern auf Basis der aktuell gültigen Reanimationsrichtlinien reanimiert, sowie bei Wiedereinsetzen des Spontankreislaufs (n = 21) in eine von den folgenden drei Gruppe randomisiert:

- Normothermiegruppe bei 38 °C mit intensivmedizinischer Behandlung (n = 7)
- Hypothermiegruppe bei 33 °C mit intensivmedizinischer Behandlung (n = 7)
- Hypothermiegruppe bei 33 °C in Verbindung mit Sevofluran bei einem MAC von 1 mit intensivmedizinischer Behandlung (n = 7)

Fünf zusätzliche Tiere wurden als Kontrolltiere anästhesiert, thorakotomiert und überwacht, erhielten aber keine Okklusion und keinen Herz-Kreislaufstillstand.

Eine Stunde nach Wiedereinsetzen des Spontankreislaufs wurde die Okklusion des RIVA aufgehoben und die Tiere 24 h überwacht.

Im Rahmen der 24-stündigen Überwachungsphase wurden zu definierten Zeitpunkten Daten durch eine transösophagale Echokardiographie erhoben, ausgewählte Hämodynamikdaten aufgezeichnet, sowie der Troponin T Serumspiegel bestimmt.

Nach 24 Stunden wurde das Herz entnommen, um mittels Myokardfärbung den Myokardschaden sichtbar zu machen. Ein Teil des Myokardgewebes der Organentnahme wurde für eine histologische Untersuchung in Formalin asserviert. Ein anderer Teil der Myokardproben wurde eingefroren, um im nächsten Schritt die Infiltration von Immunzellen und Apoptosevorgänge untersuchen zu können.

In der Hypothermiegruppe und der Hypothermiegruppe in Verbindung mit Sevofluran konnte im Vergleich zu der Normothermiegruppe eine bessere Myokardfunktion gezeigt werden. Dieses Ergebnis wurde durch signifikant bessere Messwerte in der transösophagalen Echokardiographie belegt.

Zusätzlich konnte ein geringerer Myokardschaden in der Hypothermiegruppe im Vergleich zu der Normothermiegruppe im Rahmen der Myokardfärbung wie auch beim Troponin T Serumspiegel gefunden werden. Weiterhin wurde eine Reduktion der Infiltration von Immunzellen sowie einer Reduktion von Apoptosevorgängen in der Hypothermiegruppe im Vergleich zu der Normothermiegruppe nachgewiesen.

Mit dieser Arbeit konnte der für das neurologische Outcome schon nachgewiesene Nutzen der milden therapeutischen Hypothermie auch für das Myokard nachgewiesen werden.

Obwohl die pharmakologische Postkonditionierung in Verbindung mit der milden therapeutischen Hypothermie keinen signifikant zusätzlichen Nutzen erzielen konnte, zeigen positive Tendenzen aber eine interessante Therapieoption auf. Hier sollte in weiteren Studien, grade auch unabhängig von der Hypothermie, der positive Nutzen der pharmakologischen Postkonditionierung mit Sevofluran untersucht werden. Dieses könnte in der intensivmedizinischen Postreanimationsbehandlung eine weitere Therapieoption darstellen, welche dazu beiträgt, das Langzeitüberleben wie auch die Lebensqualität der Patienten signifikant zu verbessern.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med P. Meybohm für die Überlassung dieses Themas sowie für die durchgehend gute Zusammenarbeit während der Versuche und vor allem für die hervorragenden Betreuung beim Schreiben dieser Arbeit.

Ebenfalls möchte ich allen danken, die bei der praktischen Arbeit an diesem Projekt kollegial mitgearbeitet haben: Dr. med. M. Grünewald, S. Rossee, M. Maracke, I. Bressler, N. Fösel und C. Rodde.

Mein persönlicher Dank gilt Dr. med. S. Zenz und meinem Bruder Dipl.-Ing. (FH) G. Wegner für die konstruktive Kritik sowie die Unterstützung beim Schreiben wie auch während der gesamten Studienzeit.

Weiterhin Bedanken möchte ich mich bei meinem Vater Prof. (a.D.) Dr.-Ing. N. Wegner sowie meinen Freunden, welche mich während meiner gesamten Studienzeit unterstützt haben.

# Lebenslauf

## **Persönliche Daten**

Björn Wegner  
geboren am 12.09.1974 in Hildesheim  
ledig

## **Berufsausbildung**

Juli 2001 bis Dezember 2001	Ausbildung zum Rettungsassistenten Rettungsassistenten seit Januar 2002
Februar 2004	Weiterbildung zum Lehrrettungsassistenten
März 2005	Weiterbildung zum Lehrer an Rettungsdienstschulen
Juni 2005	Weiterbildung zum Luftrettungsassistenten

## **Schulbildung**

Juni 1994	Allgemeine Hochschulreife
-----------	---------------------------

## **Studium**

WS 1995/96	Jurastudium an der Universität Osnabrück
WS 1996/97 bis zum WS 1998/99	Medizinstudium an der Universität Magdeburg
März 1999	Ärztliche Vorprüfung
SS 1999 bis zum SS 2002	Medizinstudium an der MH Hannover
SS 2006 bis zum SS 2010	Medizinstudium an der Universität Kiel
Mai 2010	Ärztliche Prüfung
Juni 2010	Ärztliche Approbation



## **M**      Literaturverzeichnis

### **[Abbate et al. 2002]**

**Abbate, A; Biondi-Zoccai, GG; Baldi, A**

Pathophysiologic role of myocardial apoptosis in post-infarction left ventricular remodeling.

*J Cell Physiol* 193 (2002), 145-153

### **[Adams 2006]**

**Adams, JA**

Endothelium and CPR

*Critical Care Medecine* 34 (2006), 458-465

### **[Adrie et al. 2004]**

**Adrie, C; Laurent, I; Monchi, M; Cariou, A; Dhainaou, JF; Spaulding, C**

Postresuscitation disease after cardiac arrest: A sepsis-like syndrom?

*Current Opinion in Critical Care* 10 (2004), 38-44

### **[Adrie et al. 2002]**

**Adrie, C; Adib-Conque, M; Laurent, I; Monchi, M; Vinsonneau, C; Fitting, C; Fraise, F; Dinh-Xuan, AT; Carli, P; Spaulding, C; Dhainaut, JF; Cavillon, JM**

Successful cardiopulmonary resuscitation after cardiac arrest as a „sepsis-like“ syndrom.

*Circulation* 106 (2002), 562-568

### **[AHA 2005]**

**ECC Committee, Subcommittees and Task Forces of the American Heart Association**

2005 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care.

*Circulation* 112 (2005), IV 1-203

### **[BÄK 2006]**

**Bundesärztekammer, Hrsg.**

Reanimation - Empfehlungen für die Wiederbelebung.

*Deutscher Ärzteverlag*, 2006

### **[Becker et. al. 1993]**

**Becker, LB; Smith, DW; Rhodes, KV**

Incidence of cardiac arrest: Aneglected factor in evaluating survival rates.

*Ann Emerg Med* 22 (1993), 86-91

### **[Bein et al. 2005]**

**Bein, B; Renner, J; Caliebe, D; Scholz, J; Paris, A; Fraund, S; Zaehle, W; Tonner, PH**

Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function during minimally invasive direct coronary artery bypass surgery.

*Anesth Analg* 100 (2005), 610-616

**[Benson et al. 1959]****Benson, DW; Williams, GR; Spencer, FC; Yates, AJ**

The use of hypothermia after cardiac arrest.

*Anesthesia and Analgesia* 38 (1959), 423-428**[Bismarck et al. 2007]****von Bismarck, P; Klemm, K; Wistadt, CF; Winto-Morbach, S; Uhlig, U; Schütze, S; Uhlig, S; Lachmann, B; Krause; MF**

Surfactant „fortification“ by topical inhibition of nuclear factor-kappaB activity in a newborn piglet lavage model.

*Crit Care Med* 35 (2007), 2309-2318**[Böttinger et al. 2001]****Böttinger, BW; Martin, E**

Thrombolytic therapy during cardiopulmonary resuscitation an the role of coagulation activation after cardiac arrest.

*Current Opinion in Critical Care* 7 (2001), 176-183**[Bone 1992]****Bone, RC**

Toward an epidemiology and natural history of SIRS (systemic inflammatory response syndrom).

*JAMA* 268 (1992), 3452-3455**[Bernard et al. 2002]****Bernard, SA; Gray, TW; Buist, MD; Jones, BM; Silvester, W; Gutteridge, G; Smith, K**

Treatment of Comatose Survivors of out-of-hospital cardiac arrest with induced hypothermia.

*The New England Journal of Medicine* 346 (2002), 557-563**[Chen et al. 2008]****Chen, HT; Yang, CX; Li, H; Zhang, CJ; Wen, XJ; Zhou, J; Fan, YL; Huang, T; Zeng, YM**

Cardioprotection of sevoflurane postconditioning by activating extracellular signal-regulated kinase 1/2 in isolated rat hearts.

*Acta Pharmacol Sin* 29 (2008), 931-941**[Chen et al. 2002]****Chen, Q; Camara, AKS; An, J; Novalija, E; Riess, ML; Stowe, DF**Sevoflurane preconditioning before moderate hypothermic ischemia protects against cytosolic (Ca<sup>2+</sup>) loading and myocardial damage in part via mitochondrial K (ATP) channels.*Anesthesiology* 97 (2002), 912-920**[Codispoti et al. 2006]****Codispoti, M; Sundaramoorthi, T; Saad, RA; Reid, A; Sinclair, C; Mankad, P**

Optimal myocardial protection strategy for coronary artery bypass grafting without cardioplegia: Prospective randomised trail.

*Interact Cardiovasc Thorac Surg* 5 (2006), 217-221

**[Dave et al. 1998]****Dave, RH; Hale, SL; Kloner, RA**

Hypothermic, closed circuit percardioperfusion: A potential cardioprotective technique in acute regional ischemia.

*J Am Coll Cardiol* 31 (1998), 1667-1671**[Deyhimy et al. 2007]****Deyhimy, DI; Fleming, NW; Brodtkin, IG; Liu, H**

Anesthetic preconditioning combined with postconditioning offers no additional benefit over preconditioning or postconditioning alone.

*Anesth Analg* 105 (2007), 316-324**[Dixon et al. 2002]****Dixon, SR; Whitebourn, RJ; Dae, MW; Grube, E; Sherman, W; Schaer, GL; Jenkins, JS; Baim, DS; Gibbons, RJ; Kuntz, RE; Popma, JJ; Nguyen, TT; O'Neill, WW**

Induction of mild systemic hypothermia with endovascular cooling during primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction.

*J Am Coll Cardiol* 40 (2002), 1928-1934**[ESC 2000]****European Society of Cardiology (ESC)**

Myocardial Infarction redefined - a consensus document of the Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction.

*European Heart Journal* 21 (2000), 1502-1513**[Estner et al. 2007]****Estner, HL; Günzel, C; Ndrepepa, G; William, F; Blaumeiser, D; Rupprecht, B; Hessling, G; Deisenhofer, I; Weber, MA; Wilhelm, K; Schmitt, C; Schömig, A**

Outcome after out-of-hospital cardiac arrest in a physician-staffed emergency medical system according to the Utstein style.

*Am Heart J* 153 (2007), 792-799**[Fries et al. 2008]****Fries, M; Nolte, KW; Coburn, M; Rex, S; Timper, A; Kottmann, K; Siepmann, K; Häusler, M; Weis, J; Rossaint, R**

Xenon reduces neurohistopathological damage and improves the early neurological deficit after cardiac arrest in pigs.

*CritCareMed* 36 (2008), 2477-2479**[Froehler et al. 2007]****Froehler, MT; Geocadin, RG**

Hypothermia for neuroprotection after cardiac arrest: Mechanisms, clinical trials and patient care.

*Journal of Neurological Sciences* 261 (2007), 118-126

**[Fukuda et al. 2001]**

**Fukuda, H; Tomimatsu, T; Watanabe, N; Mu, JW; Kohzuki, M; Endo, M; Fujii, E; Kanzaki, T; Murata, Y**

Post-ischemic hypothermia blocks caspase-3 activation in the newborn rat brain after hypoxia-ischemia.

*Brain Research* 910 (2001), 187-191

**[Gando et al. 2000]**

**Gando, S; Nanzaki, S; Morimoto, Y; Kobayashi, S; Kemmotsu, O**

Out-of-hospital cardiac arrest increases soluble vascular endothelial adhesion molecules and neutrophil elastase associated with endothelial injury.

*Intensiv Care Medicine* 26 (2000), 38-44

**[Gerber et al. 1999]**

**Gerber, BL; Wijns, W; Vanoverschelde, JL; Heyndrickx, GR; Bruyne, B; Bartunek, J; Melin, JA**

Myokardium perfusion and oxygen consumption in reperfused noninfarcted dysfunctional myokardium after instabil angina: Direct evidence for stunning in humans.

*Journal of the American College of Cardiology* 34 (1999), 1939-1946

**[Gottdiener et al. 2004]**

**Gottdiener, JS, Bednarz, J; Devereux, R; Gardin, J; Klein, A; Manning, WJ; Morehead, A; Kitzman, D; Oh, J; Quinones, M; Schiller, NB; Stein, JH; Weissman, NJ; American Society of Echocardiographie**

American Society of Echocardiographie recommendations for use of echocardiography in clinical trails

*J AM Soc Echocardiographie* 17 (2004), 1086-1119

**[Grmec et al. 2007]**

**Grmec, S; Krizmaric, M; Mally, S; Kozelj, A; Spindler, M; Lesnik, B**

Utstein style analysis of out-of-hospital cardiac arrest-bystander CPR and end expired carbon dioxide.

*Resuscitation* 72 (2007), 404-414

**[HACA Group 2002]**

**The Hypothermia after Cardiac Arrest Group**

Mild therapeutic hypothermia to improve neurologic outcome after cardiac arrest.

*The New England Journal of Medicine* 246 (2002), 549-556

**[Hale et al. 1997]**

**Hale, SL; Dave, RH; Kloner, RA**

Regional hypothermia reduces myocardial necrosis even when instituted after the onset of ischemia.

*Basic Res Cardiol* 92 (1997), 351-357

**[Hamamoto et al. 2009]**

**Hamamoto, H; Sakamoto, H; Leshnower, BG; Parish, LM; Kanemoto, S; Hinmon, R; Plappert, T; Miyamoto, S; John-Sutton, MGS; Gorman, JH; Gorman, RC**

Very mild hypothermia during ischemia and reperfusion improves postinfarction ventricular remodeling.

*Ann Thorac Surg* 87 (2009), 172-177

**[Herlitz et al. 2006]**

**Herlitz, J; Engdahl, J; Svensson, L; Aaqvist; KA; Silverstolpe, J; Holmberg; S**  
Major differences in 1-month survival between hospitals in Sweden among initial survivors of out-of-hospital cardiac arrest.

*Resuscitation* 70 (2006), 4004-4009

**[Heyndrickx 2006]**

**Heyndrickx, GR**

Early reperfusion phenomena.

*Seminars in cardiothoracic and vascular anesthesia* 10 (2006), 236-241

**[Hollenberg et al. 2008]**

**Hollenberg, J; Herlitz, J; Lindquist, J; Riva, G; Boehm, K; Rosenqvist, M; Svensson, L**

Improved survival after out-of-hospital cardiac arrest is associated with an increase in proportion of emergency crew-witnessed cases and bystander cardiopulmonary resuscitation.

*Circulation* 118 (2008), 389-396

**[Holzer et al. 2008]**

**Holzer, M; Behringer, W**

Therapeutic hypothermia after cardiac arrest and myocardial infarction.

*Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 22 (2008), 711-728

**[Holz et al. 2009]**

**Holz, A; Lautamäki, R; Sasano, T; Merrill, J; Nekolla, SG; Lardo, AC; Bengel, FM**

Expanding the versatility of cardiac PET/CT: Feasibility of delayed contrast enhancement CT for infarct detection in a porcine model.

*Journal of Nuclear Medicine* 50 (2009); 259-265

**[Hsu et al. 2009]**

**Hsu, CY; Huang, CH; Chang, WT; Chen, HW; Cheng, HJ; Tsai, MS; Wang, TD; Yen, ZS; Lee, CC; Chen, SC; Chen, WJ**

Cardioprotective effect of therapeutic hypothermia for post-resuscitation myocardial dysfunction.

*Shock* 32 (2009), 210-216

**[Idris et al. 1996]**

**Idris, AH; Becker, LB; Ornato, JP; Hedges, JR; Bircher, NG; Chandra, NC; Cummins, RO; Dick, W; Ebmeyer, U; Halperin, HR; Hazinski, MF; Kerber, RE; Kern, KB; Safar, P; Steen, PA; Swindle, MM; Tsitlik, JE; Planta, I.von, Planta, M.von; Wears, RL; Weil, MH**

Utstein-style guidelines for uniform reporting of laboratory CPR research. A statement for healthcare professionals from a Task Force of the American Heart Association, the American College of Emergency Physicians, the American College of Cardiology, the European Resuscitation Council, the Heart and Stroke Foundation of Canada, the Institute of Critical Care Medicine, the Safar Center for Resuscitation Research and the Society for Academic Emergency Medicine.

*Circulation* 94 (1996), 2324-2336

**[Katus et al. 1991]**

**Katus, HA; Remppis, A; Neumann, FJ; Scheffold, T; Diederich, KW; Vinar, G; Noe, A; Matern, G; Kuebler, W**

Diagnostic efficiency of Troponin T measurements in acute myocardial infarction.

*Circulation* 83 (1991), 902-912

**[Keenan et al. 2007]**

**Keenan, SP; Dodeck, P; Martin, C; Priestap, F; Norena, M; Wong, H**

Variation in length of intensive care stay after cardiac arrest: Where you are is as important as who you are.

*Critical Care Medicine* 35 (2007), 836-841

**[Kelley et al. 1973]**

**Kelley, KW; Curtis, SE; Marzan, GT; Karara, HM; Anderson, CR**

Body surface area of female swine.

*J Anim Sci* 36 (1973), 927-930

**[Kern et al. 2002]**

**Kern, KB**

Postresuscitation myocardial dysfunction.

*Cardiology Clinics* 20 (2002), 89-101

**[Kern et al. 1996]**

**Kern, KB; Hilwig, RW; Rhee, KH; Berg, RA**

Myocardial dysfunction after resuscitation from cardiac arrest: An example of global myocardial stunning.

*Journal of the American College of Cardiology* 28 (1996), 232-240

**[Kinsman et al. 1929]**

**Kinsman, JM; Moore, JW; Hamilton, WF**

Studies on the Circulation: Injection Method: Physical and mathematical Considerations.

*Am J Physiol* 89 (1929), 322-330

**[Kloner et al. 2001]****Kloner, RA; Jennings, RB**

Consequences of Brief Ischemia: Stunning, Preconditioning and their clinical implications: Part 1.

*Circulation* 104 (2001), 2981-2989**[Lang 2006]****Lang, G***Histotechnik - Praxislehrbuch für die biomedizinische Praxis.*

Springer, Wien, Österreich, 2006

**[Langhelle et al. 2003]****Langhelle, A; Tyvold, SS; Lexow, K; Hapnes, SA; Sunde, K; Steen, PA**

In hospital factors associated with improved outcome after out-of-hospital cardiac arrest: A comparison between four regions in Norway.

*Resuscitation* 56 (2003), 247-263**[Laurent et al. 2002]****Laurent, I; Monchi, M; Chiche, JD; Joly, LM; Spaulding, C; Bourgeois, B; Cariou, A; Rozenberg, A; Carli, P; Weber, S; Dhainaut, JF**

Reversible myocardial dysfunction in survivors of out-of-hospital cardiac arrest.

*J Am Coll Cardiol* 40 (2002), 2110-2116**[Lozano et al. 2008]****Lozano, H; Wu, D; Bassuk, J; Aria, J; Kur-Lansky, P; Lamas, GA; Adams, JA**

The effects of prostaglandin inhibition on whole-body ischemia-reperfusion in swine.

*Am J Emerg Med* 26 (2008), 45-53**[Ly et al. 2005]****Ly, HQ; Denault, A; Dupuis, J; Vadeboncoeur, A; Harel, F; Arsenault, A; Gibson, CM; Bonan, R**

A pilot study: The Noninvasive Surface Cooling Thermoregulatory System for mild hypothermia induction in acute myocardial infarction (the NICAMI Study).

*Am Heart J* 150 (2005), 933**[Mark et al. 2006]****Mark, B; Meinertz, TH; Fleck, E; Gottwik, MG; Becker, HJ; Jünger, C; Gitt, AK; Sengers, J**

Stetige Zunahme der Prähospitalzeit beim akuten Herzinfarkt.

*Dt. Ärzteblatt* 103 (2006): A1378-A1383**[McLaughlin et al. 2009]****McLaughlin, AM; Hardt, J; McKay, AP; Fitzpatrick, GJ; Donnelly, MB**

Alcohol, drug misuse and suicide attempts: Unrecognised causes of out of hospital cardiac arrests admitted to intensive care units.

*Irish Journal of Medical Science* 178 (2009), 29-33

**[Meybohm et al. 2008]****Meybohm, P; Scholz, J; Gruenewald, M; Bein, B**

Cerebral ischaemia following cardiopulmonary resuscitation in pigs.

*Resuscitation* 79 (2008), 170-171**[Murry et al. 1986]****Murray, CE; Jennings, RB; Reimer, KA**

Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium.

*Circulation* 74 (1986), 1124-1136**[Negovsky 1988]****Negovsky, VA**

Postresuscitation disease.

*Crit care Med.* 10 (1988), 942-946**[Negovsky et al. 1983]****Negovsky, VA; Gurvich, AM; Zolotokrykina, ES**

Postresuscitation disease.

Amsterdam, Niederlande: Elsevier, 1983

**[Neumar et al. 2008]****Neumar, RW; Nolan, JP; Adrie, C; Mayuki, A; Berg, RA; Böttiger, BW; Clark, RSB; Geocadin, RG; Jauch, EC; Kern, KB; Laurent, I; Longstreth, WT; Merchant, RM; Morley, P; Morrissen, LJ; Nadkarni, V; Peberdy, MA; Rivers, EP; Rodriguez-Nunez, A; Selke, FW; Spaulding, C; Sunde, K; Hoek, TV**

Post-Cardiac Arrest Syndrome Epidemiology, Pathophysiology, Treatment and Prognostication.

*Circulation* 118 (2008), 1452-2483**[Niemann et al. 2008]****Niemann, JT; Rosborough, J; Youngquist, S; Lewis, RP; Phan, QT; Filler, S**

The proinflammatory cytokine response following resuscitation in the swine model depends on the method of ventricular fibrillation induction.

*Acad Emerg Med* 15 (2008), 939-944**[Niemann et al. 2007]****Niemann, JT; Rosborough, JP; Youngquist, S; Thomas, J; Lewis, RJ**

Is all ventricular fibrillation the same? A comparison of ischemically induced with electrically induced ventricular fibrillation in a porcine cardiac arrest and resuscitation model.

*Crit Care Med* 35 (2007), 1356-1361**[Niemann et al. 2004]****Niemann, JT; Garner, D; Lewis, RJ**

Tumor necrosis factor alpha is associated with early resuscitation myocardial dysfunction.

*Critical Care Medicine* 32 (2004), 1753-1758



**[Nishiuchi et al. 2008]**

**Nishiuchi, T; Hayashino, Y; Fukuhara, S; Iwami, T; Hayashi, Y; Hiraide, A; Ikeuchi, H; Yokioka, H; Matsuo-Ka, T**

Survival rate and factors associated with 1-month survival of witnessed out-of-hospital cardiac arrest of cardiac origin with ventricular fibrillation and pulseless ventricular tachycardia: The Utstein Osaka project.

*Resuscitation* 78 (2008), 307-313

**[Niwa et al. 1998]**

**Niwa, M; Hara, A; Iwai, T; Nakashima, M; Yano, H; Yoshimi, N; Mori, H; Uematsu, T**

Relationship between magnitude of hypothermia during ischemia and preventive effect against post-ischemic DNA fragmentation in the gerbil hippocampus.

*Brain research* 794 (1998), 338-342

**[Nolan et al. 2005]**

**Nolan, JP; Deakin, CD; Soar, J; Böttlinger, BW; Smith, G; European Resuscitation Council**

European Resuscitation Council guidelines for resuscitation 2005. Section 4. Adult advanced life support.

*Resuscitation* 67 Suppl 1 (2005), S39-S86

**[O'Brain et al. 1998]**

**O'Brain, PJ; Dameron, GW; Beck, ML; Brandt, M**

Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in two generations of cardiac Troponin-T immunoassays.

*Res Vet Sci* 65 (1998), 135-137

**[Oddo et al. 2008]**

**Oddo, M; Ribordy, V; Feihl, F; Rossetti, AO; Schaller, MD; Chioléro, R; Liaudet, L**

Early predictors of outcome in comatose survivors of ventricular fibrillation and non-ventricular fibrillation cardiac arrest treated with hypothermia: A prospective study

*Crit Care Med* 36 (2008), 2296-2301

**[Pagel 2008]**

**Pagel, PS**

Postconditioning by volatile anesthetics: Salvaging ischemic myocardium at reperfusion by activation of prosurvival signaling.

*Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 22 (2008), 753-756

**[Pastuszko et al. 2009]**

**Pastuszko, P; Pirzadeh, A; Reade, E; Kubin, J; Mendoza, A; Schears, GJ; Greeley, W; Pastuszko, A**

The effect of hypothermia on neuronal viability following cardiopulmonary bypass and circulatory arrest in newborn pigs.

*Eur J Cardiothorac Surg* 35 (2009), 577-581

**[Pell et al. 2003]****Pell, JP; Sirel, JM; Marsden, AK; Ford, I; Walker, NI, Cobbe, SM**

Presentation, management and outcome of out of hospital cardiopulmonary arrest: Comparison by underlying aetiology.

*Heart* 89 (2003), 839-842**[Phanithi et al. 2000]****Phanithi, PB; Yoshida, Y; Santana, A; Su, M; Kawamura, S; Yasui, N**

Mild hypothermia mitigates post-ischemic neuronal death following focal cerebral ischemia in rat brain: Immunohistochemical study of Fas, Caspase 3 and Tunel.

*Neuropathology* 20 (2000), 273-282**[Pleskot et al. 2009]****Pleskot, M; Hazukova, R; Stritecka, H; Cermakova, E; Pudil, R**

Long-term prognosis after out-of-hospital cardiac arrest with/without ST elevation myocardial infarction.

*Resuscitation* 80 (2009), 795-804**[Ren et al. 2003]****Ren, G; Dewald, O; Frangogiannis, NG**

Inflammatory mechanism in myocardial infarction.

*Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2 (2003), 242-256**[Renz-Polster et al. 2006]****Renz-Polster, H; Krautzig, S; Braun, J***Basislehrbuch Innere Medizin, 3. Auflage.*

München, Deutschland: Urban &amp; Fischer, 2006

**[Ristagno et al. 2007]****Ristagno, G; Tang, W; Xu, TY; Sun, S; Weil, MH**

Outcomes of CPR in the presence of partial occlusion of left anterior descending coronary artery.

*Resuscitation* 75 (2007), 357-365**[Roewer et al. 1985]****Roewer, N; Klöss, T; Püschel, K**

Long-term result and quality of life following preclinical cardiopulmonary resuscitation

*Anasth Intensivther Notfallmed* 20 (1985), 244-250**[Roesner et al. 2007]****Roesner, JP, Petzelbauer, P; Koch, A; Mersmann, J; Zacharowski, PA; Boehm, O; Reingruber, S; Pasteriner, W; Mascher, D; Wolzt, M; Barthuber, C; Nöldge-Schomberg, GE; Scheeren, TW, Zacharowski, K**

The fibrin-derived peptide Bbeta 15-42 is cardioprotective in a pig model of myocardial ischemia-reperfusion injury

*Crit Care Med* 35 (2007), 1730-1735

**[Ruiz-Bailén et al. 2005]**

**Ruiz-Beilén, M; Hoyos, EA De; Ruiz-Navarros, S; Díaz-Castellanos, MA; Rucobado-Aguilar, L; Gómez-Jiménez, FJ; Martínez-Escorbar, S; Morena, RM; Fierro-Rosón, J**

Reversible myocardial dysfunction after cardiopulmonary resuscitation.  
*Resuscitation* 66 (2005), 175-181

**[Schneider et al. 2008]**

**Schneider, A; Popp, E; Teschendorf, P; Böttinger, BW**

Therapeutische Hypothermie  
*Anästhesist* 57 (2008), 197-208

**[Schuleri et al. 2008]**

**Schuleri, KH; Boyle, AJ; Centola, M; Amado, LC; Evers, R; Zimmet, JM; Evers, KS; Ostbye, KM; Scorpio, DG; Hare, JM; Lardo, AC**

The adult Göttingen minipig as a model for chronic heart failure after myocardial infarction: Focus on cardiovascular imaging and regenerative therapies.  
*Comparative Medicine* 58 (2008), 568-579

**[Sick et al. 1999]**

**Sich, TJ; Xu, G; Perez-Pinzon, MA**

Mild hypothermia improves recovery of cortical extracellular potassium ion activity and excitability after middle cerebral artery occlusion in the rat.  
*Stroke* 30 (1999), 2416-2421

**[Skyschally et al. 2008]**

**Skyschally, A; Schulz, R; Heusch, G**

Pathology of myocardial infarction - Protection by ischemic pre- and postconditioning  
*Herz* 33 (2008), 88-100

**[Solomonen 2007]**

**Solomonen, SD**

*Essential Echokardiography: A practical handbook*  
Humana Press, Totowa, NJ, USA, 2007

**[Spöhr et al. 2005]**

**Spöhr, F; Böttinger, BW**

Thrombolytics in CPR. Current advantages in cardiopulmonary resuscitation.  
*Minerva Anesthesiologica* 71 (2005), 291-296

**[Steinmetz et al. 2008]**

**Steinmetz, J; Barnung, S; Nielson, SL; Risom, M; Rasmussen, LS**

Improved survival after out-of-hospital cardiac arrest using new guidelines.  
*Acta Anaesthesiol Scand* 52 (2008), 908-913

**[Stiell et al. 2004]**

**Stiell, IG; Wells, GA; Field, B; Spaite, DW; Nesbitt, LP; DeMaio, VJ; Nichol, G; Cousineau, D; Blackburn, J; Munkley, D; Lunistra-Toohey, L; Campeau, T; Dagone, E; Lyver, M**

Ontario Prehospital Advanced Life Support Study Group. Advanced Cardiac Life Support in out-of-hospital cardiac arrest.

*New England Journal of Medicine* 351 (2004), 647-656

**[Stewart 1921]**

**Stewart, GN**

The output of the heart in dogs

*Am J Physiol* 57 (1921), 27-50

**[Tei et al. 1995]**

**Tei, C; Ling, LH; Hodge, DO; Baily, KR; Oh, JK; Rodeheffer, RJ; Tajik, AJ, Steward, JB**

New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: A simple and reproducible measure of cardiac function, a study in normals and dilated cardiomyopathy

*J Cardiol* 26 (1995), 357-366

**[Theochari et al. 2008]**

**Theochari, E; Xanthos, T; Papadimitriou, D; Demestiha, T; Condilis, N; Tsirikos-Karapanos, N; Tsiftsi, K; Papadimitriou, L**

Selective beta blockade improves the outcome of cardiopulmonary resuscitation in a swine model of cardiac arrest.

*Ann Ital Chir* 79 (2008), 409-414

**[Thibault et al. 2008]**

**Thibault, H; Piot, C; Staat, P; Bontemps, L; Sportouch, C; Rioufol, G; Cung, TT; Bonnefoy, E; Angoulvant, D; Aupetit, JF; Finet, G; André-Fouet, X; Macia, JC; Raczka, F; Rossi, R; Itti, R; Kirkorian, G; Derumeaux, G; Ovize, M**

Long-term benefit of postconditioning.

*Circulation* 117 (2008), 1037-1044

**[Tsai et al. 2008]**

**Tsai, MS; Barbut, D; Tang, W; Wang, H; Guan, J; Wang, T; Sun, S; Inderbitzen, B; Weil, MH**

Rapid head cooling initiated coincident with cardiopulmonary resuscitation improves success of defibrillation and post-resuscitation myocardial function in a porcine model of prolonged cardiac arrest.

*J Am Coll Cardiol* 51 (2008), 1988-1990

**[Valen et al. 2001]**

**Valen, G; Paulsson, G; Vaage, J**

Induction of inflammatory mediators during reperfusion of the human heart.

*The Annals of Thoracic Surgery* 71 (2001), 226-232

**[Varadarajan et al. 2002]****Varadarajan, SG; Novalija, E; Stowe, DW**

Sevoflurane before or after ischemia improves contractile and metabolic funktion while reducing myoplasmic Ca<sup>2+</sup> loading in intact heart.

*Anesthesiology* 96 (2002), 125-133

**[Vazques-Jimenez et al. 2001]****Vazquez-Jimenez, JF; Quing, M; Hermanns, B; Kloster-Halfen, B; Wöltje, M; Chakupurakal, R; Schumacher, K; Messmer, BJ; Bernuth, G.von, Seghaye, MC**

Moderate hypothermia during cardiopulmonary bypass reduces myocardial cell damage and myocardial cell death related to cardiac surgery.

*J Am Coll Cardiol* 38 (2001), 1216-1223

**[Vilahur et al. 2009]****Vilahur, G; Hernández-Vera, R; Molins, B; Casaní, L; Duran, X; Padró, T; Badimon, L**

Short-term myocardial ischemia induces cardiac modified C-reactive protein expression and proinflammatory gene (cyclo-oxygenase-2, monocyte chemoattractant protein-1 and tissue factor) upregulation in peripheral blood mononuclear cells.

*J Thromb Haemost* 7 (2009), 485-493

**[V.-Swagemakers et al. 1997]****Vreede-Swagemakers, JJ.de; Gorgels, AP; Dubois-Aabouw, WI; Ree, JW.van; Daemen, MJ; Houben, LG; Wellens, HJ**

Out-of-hospital cardiac arrest in the 1990`s: A population-based study in the Maastricht area on incidence, characteristics and survival.

*J Am Coll Cardiol* 30 (1997), 1500-1505

**[Wang et al. 2007]****Wang, J; Weil, MH; Tang, W; Chang, YT; Huang, L**

A comparison of electrically induced cardiac arrest with cardiac arrest produced by coronary occlusion.

*Resuscitation* 72 (2007), 477-483

**[Wolfrum et al. 2008]****Wolfrum, S; Pierau, C; Radke, PW; Schunkert, H; Kurowski, V**

Mild therapeutic hypothermia in patients after out-of-hospital cardiac arrest due to acute ST-segment deviation myocardial infarction undergoing immediate percutaneous coronary intervention.

*Crit Care Med* 36 (2008), 1780-1786

**[Wong et al. 2008]****Wong, CH; Crack, PJ**

Modulation of neuro-inflammation and vascular response by oxidative stress following cerebral ischemia-reperfusion injury

*Current Medical Chemistry* 15 (2008), 1-12

**[Yildirim et al. 2009]****Yildirim, V; Doganci, S; Aydin, A; Bolcal, C; De-Mirkilic, U; Cosar, A**

Cardioprotective effects of sevoflurane, isoflurane and propofol in coronary surgery patients: A randomized controlled study.

*Heart Surg Forum* 12 (2009), E1-E9**[Zhao et al. 2003]****Zhao, ZQ; Corvera, JS; Halkos, ME; Kerendi, F; Wang, NP; Guyton, RA; Vinten-Johansen, J**

Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: Comparison with ischemic preconditioning

*Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285 (2003), 579-588**[Zheng et al. 2001]****Zheng, ZJ; Croft, JB; Giles, WH, Mensah, GA**

Sudden cardiac death in the United States 1989 to 1998.

*Circulation* 104, (2001), 2158-2165