

Nadja Thai  
Dr. med.

## **Einfluss ansteigender Magnesium- und Kaliumkonzentration sowie fallender Calciumkonzentration extrazellulär auf intrazelluläres Calcium, NADH, FAD sowie Herzfunktion am isoliert perfundierten Rattenherz**

Promotionsfach: Physiologie  
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. R. Nobile

Ziel der hier vorliegenden Arbeit war zum einen die Weiterentwicklung des bereits bei Paprotka (2003) und Morsch (2007) verwendeten Verfahren zur simultanen, optischen Erfassung des intrazellulären NADH und intrazellulären Calcium. Die Methode wurde erweitert um die gleichzeitige Erfassung des stoffwechselrelevanten FAD. Zum anderen sollte die wechselseitige Beziehung von elektrophysiologischer und mechanischer Funktion sowie der Stoffwechsel in den isolierten Rattenherzen unter dem Einfluss ansteigender Magnesium- und Kaliumkonzentration bzw. fallender Calciumkonzentration im Perfusat untersucht werden.

Mit Hilfe des Untersuchungsmodells der modifizierten Langendorff-Präparation wurde unter Verwendung des ratiometrischen Farbstoffs FURA-2 intrazelluläres Calcium und über die entsprechenden Autofluoreszenzen NADH bzw. FAD simultan bestimmt. Die Ergebnisse sind mit den gleichzeitig aufgenommenen EKG- und Druckkurven, mit der Herzleistung und den evtl. Rhythmusänderungen korreliert worden.

Die Bestimmung von NADH in Kombination mit FAD stellte sich hierbei als sinnvoll heraus. Entgegen den Erwartungen verhielten sich beide Parameter in der sensiblen Phase der Perfusion mit der ionenveränderten Elektrolytlösung in allen Versuchsgruppen gegensätzlich bzw. auch zeitlich versetzt. FAD zeigt in dieser Phase eine größere Veränderlichkeit als NADH. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass die Flavinnukleotide der empfindlichere Parameter für metabolische Veränderungen sind aufgrund der flexibleren und leichteren Abgabe von Elektronen/Protonen. Ein Ausgleich der mitochondrialen NADH-Änderungen durch extramitochondriale Reaktionen ist ebenfalls denkbar, da FAD eher mitochondrialen Ursprungs ist.

Die Perfusion mit Calcium-reduzierter Tyrode führt ab einer Konzentration von 0,625 mM zu einer elektromechanischen Entkopplung mit Absinken des intrazellulären Calciumspeichers ab einer extrazellulären Calciumkonzentration von 0,156 mM. Während die mechanische Arbeit der Herzen aufgehoben ist, zeigt sich das EKG von der Calciumkonzentration unbeeinflusst. NADH ist ebenfalls konzentrationsunabhängig. Der Stoffwechselfparameter

FAD lässt aber ab einer extrazellulären Calciumkonzentration von 0,625 mM eine katabole Stoffwechsellage vermuten.

Ein elektromechanischer Herzstillstand ist ab einer Magnesiumkonzentration von 20 mM möglich. Gleichzeitig konnte eine Calcium-senkende Wirkung beobachtet werden. Ein erhöhtes Magnesiumangebot führt zu einer verbesserten Stoffwechsellage.

Die extrazelluläre Kaliumerhöhung führt, ähnlich wie die Calciumreduktion, ab einer Konzentration von 12 mM zum diastolischen Stillstand der Herzen. Hierbei kommt es aber, anders als bei den Untersuchungen mit Calcium, zum Eingriff in die Elektrophysiologie, erkennbar an der Asystolie ab 20 mM. Eine Zunahme des intrazellulären Calciums ist bis zu einer extrazellulären Kaliumkonzentration von 30 mM nicht zu erkennen. Mit Hilfe des sensibleren Stoffwechselfparameters FAD lässt sich am ehesten auf ATP-verbrauchende Stoffwechselprozesse bei steigender Kaliumkonzentration schließen.

Die sich an die Elektrolytänderung anschließende Ischämie zeigt in allen drei Versuchsgruppen den durch die zelluläre Hyp-/Anoxie induzierten Anstieg des NADH bzw. den korrespondierenden Abfall von FAD. Lediglich in der Gruppe der Magnesiumerhöhung ist ab einer extrazellulären Magnesiumkonzentration von 10 mM ein weniger ausgeprägter Abfall des FAD zu erkennen. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass von der extrazellulären Magnesiumerhöhung eine protektive Wirkung ausgeht. Im Rahmen der Reperfusion kommt es in allen Gruppen zur Rückkehr der Stoffwechselfparameter auf die Ausgangswerte.

Die Differenz der relativen Fluoreszenzintensität von intrazellulärem Calcium zwischen der Perfusion mit ionenveränderter Tyrode und der nachfolgenden Ischämie ist in der Gruppe der Kaliumerhöhung im Vergleich zur Calcium- bzw. Magnesiumgruppe am größten und ist damit richtungsweisend für einen möglichen Calcium-Overload in den Kardiomyozyten unter Hyperkaliämie. Aber auch die intrazellulären Calciummessungen unter fallendem, extrazellulärem Calcium führen zum Calciumparadox.

Erst die Kombination der hier untersuchten Ionen unter Einbeziehung der jeweiligen Wirkmechanismen und ihren Einfluss auf den myozytären Stoffwechsel wird eine Optimierung der kardioplegie-induzierenden Verfahren ermöglichen unter Nutzung potentieller kardioprotektiver und/oder präkonditionierender Eigenschaften.