

Monika Paprotka

Dr. med.

Intrazelluläres Calcium und NADH im isolierten Meerschweinchenherzen unter Ischämie und Kardioplegie

Geboren am 01.04.1975 in Ratibor

Reifeprüfung am 28.06.1995 in Rastatt

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1995/96 bis SS 2002

Physikum am 11.09.1997 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg, New York/NY, Houston/Texas

Staatsexamen am 14.06.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. rer. nat. Rainer Nobiling

Die Fragestellung umfaßte die Untersuchung des Verhaltens von intrazellulärem Calcium ($[Ca^{2+}]_i$) und dem Anoxieparameter NADH unter zwei Formen der Ischämie und der jeweiligen Reperfusion: 1. globale Ischämie durch Unterbrechung der Perfusion mit oxygenierter Tyrodelösung ohne Organprotektion, 2. Langzeitkardioplegie, die mit HTK-Lösung nach Bretschneider induziert wurde, von bis zu drei Stunden Dauer.

$[Ca^{2+}]_i$ wurde mit Hilfe des ratiometrischen Fluoreszenzfarbstoffs Fura-2 und NADH über seine Autofluoreszenz (AF) bestimmt.

Als Modell wurde das isoliert perfundierte Meerschweinchenherz gewählt.

In der vorliegenden Arbeit wird ein neuer Ansatz vorgestellt, die beiden Parameter simultan zu messen. Die Trennung der Gesamtfluoreszenzintensität in ihren Calcium – und NADH – abhängigen Anteil wurde über die grundsätzliche Proportionalität der AF zwischen der isosbestischen Wellenlänge (360 nm) von Fura-2 und den $[Ca^{2+}]$ - empfindlichen Signalen (340 und 380 nm) vorgenommen. Die jeweiligen Proportionalitätsfaktoren mußten aufgrund einer Verschiebung des Emissionsspektrums für Aero- und Anaerobiose gesondert bestimmt und angewandt werden.

Unter globaler Ischämie von zwei Minuten stiegen $[Ca^{2+}]_i$ und NADH an. Während der Kardioplegieeinleitung verhielten sich die Änderungen der beiden Parameter gegensätzlich zueinander: $[Ca^{2+}]_i$ fiel ab und NADH zeigte mit Einsetzen des Herzstillstands trotz weiterer Perfusion auch hier einen Anstieg. Dessen Kinetik war jedoch doppelt so lang wie die unter globaler Ischämie. Die Verläufe waren mit monoexponentiellen Funktionen beschreibbar. Unter der Langzeitkardioplegie stieg $[Ca^{2+}]_i$ linear an.

Die Reperfusion nach 30 Minuten Kardioplegie zeigte eine Calciumtransiente und einen stark beschleunigten Abfall des NADH beim Wiedereinsetzen des Herzschlags. Zusammen mit der Beobachtung des NADH-Anstiegs ab dem Herzstillstand läßt dies vermuten, daß der pulsatile Fluß innerhalb der Mikrozirkulation als Folge der mechanischen Herzaktivität für eine suffiziente Sauerstoffversorgung aller Herzmuskelzellen von großer Bedeutung ist.

Eine zuverlässige Eichung der Fluoreszenzintensität in absolute Calciumkonzentrationen ist im intakten Organ nicht möglich. Kinetiken beschreiben die Veränderung der Parameter über die Zeit und liefern wichtige Informationen über potentielle Zusammenhänge. Zytosolische Veränderungen von $[Ca^{2+}]_i$ werden sehr schnell auf die mitochondriale Matrix übergeleitet. Calcium ist ein Stimulator der dort lokalisierten Dehydrogenasen. Der annähernd parallele Anstieg von $[Ca^{2+}]_i$ und NADH unter globaler Ischämie und der verlangsamte Anstieg von NADH zusammen mit einem Abfall von $[Ca^{2+}]_i$ unter Kardioplegie legen eine Modulation der NADH – Produktion durch Calcium auch unter anoxischen Bedingungen nahe.

Die für physiologische extrazelluläre Verhältnisse stark erniedrigte $[Ca^{2+}]$ der HTK – Lösung ist wahrscheinlich für die Verhinderung einer intraischämischen Calciumüberladung, die über ein mit dem Überleben der Zelle vereinbares Maß hinausgeht, verantwortlich.