

Bernhard Niederle
Dr. med.

Myokardprotektion: Eine Balance zwischen Energetik und Membranfunktion

Geboren am 22. Juli 1977 in Dresden
Staatsexamen am 17. Mai 2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie
Doktormutter: Prof. Dr. med. M.-M. Gebhard

Einleitung Im Kontext der Organtransplantation werden in der klinischen Praxis beim Herzen gegenwärtig Ischämiezeiten von bis zu 4, maximal 6 Stunden toleriert. Eine Verlängerung dieser relativ kurzen sicheren Ischämiezeit könnte sowohl den Pool der infrage kommenden Spenderherzen erweitern, etwa um Organe von suboptimaler Qualität, als auch die Möglichkeiten verbessern, den "optimalen" Empfänger zu ermitteln und ihm das Organ auch über weite Distanzen zukommen zu lassen.

Während der Ischämie des Herzens entfällt nicht nur die Versorgung der Zellen mit Sauerstoff und Nährstoffen, sondern auch die Spülfunktion des Blutes. Bei allen größeren Organen homöothermer Organismen ist eine solche (normotherme) Ischämie nicht mit einer Erhaltung des Gleichgewichtes von energiebereitstellenden und -verbrauchenden Prozessen vereinbar, weil anstelle der oxidativen Phosphorylierung die 18(19)-fach weniger effiziente anaerobe Glykolyse die Versorgung der Zelle mit Energie übernimmt. Folge ist neben dem Verlust energiereicher Phosphate die intrazelluläre – und konsekutiv auch extrazelluläre – Azidose. Diese Veränderungen kompromittieren zentrale Stellglieder der zellulären Homöostase: Stoffwechselprozesse, Elektrolyt-Gleichgewicht, Membranpotential und zelluläre Volumenregulation.

Derzeitige Strategien zur Organprotektion in Ischämie sind Kardioplegie und Hypothermie, meist in Kombination. Erstere reduziert den Energiebedarf des Herzens in Ischämie durch schnelle elektrische und mechanische Inaktivierung, letztere durch einen global verlangsamten Metabolismus. Sowohl die genaue Zusammensetzung und Applikation der Kardioplegie als auch das Ausmaß der Hypothermie sind momentan noch Gegenstand der Forschung. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluß der Lagerungstemperatur während kardioplegischer Ischämie des Herzens auf dessen postischämische Erholung festzustellen und Aussagen über die hierfür optimale Temperatur abzuleiten.

Methodik Als Versuchstiere dienten 51 ausgewachsene Hunde der Rasse Foxhound. Nach dem von Langendorff beschriebenen Prinzip der Koronarperfusion durch einen retrograd in die Aortenwurzel vorgeschobenen Katheter wurden die Herzen mit Bretschneiders HTK-Lösung als Kardioplegikum stillgestellt und konserviert und daraufhin explantiert. Das weitere Vorgehen hing von dem gewählten Modell ab. Die sog. Biochemieversuche dienten zur Untersuchung des myokardialen Stoffwechsels während Ischämie. Dabei betrug die Lagerungstemperatur des linksventrikulären Myokards 5°, 10° oder 15°C. Über 14 Stunden wurde regelmäßig der interstitielle pH-Wert gemessen und Gewebeproben zur Bestimmung des Gehalts an energiereichen Phosphaten und Laktat entnommen.

Die Versuche zur Ischämie-Reperfusion hatten die postischämische Erholung von Stoffwechsel und Funktion zum Gegenstand. Nach 480 bzw. 600 min ischämischer Lagerung bei 5°, 10° oder 15°C erfolgte die Reperfusion der Herzen in Langendorff-Technik. Über 90 Minuten wurden Herzrhythmus und Kontraktionskraft aufgezeichnet sowie im Perfusat pH-Wert, Laktat und die Elektrolyte K⁺, Na⁺ und Ca²⁺ gemessen.

Ergebnisse In Ischämie zeigte sich erwartungsgemäß eine positive Korrelation zwischen Lagerungstemperatur und Stoffwechselaktivität des Myokards. Sowohl der Verfall an energiereichen Phosphaten, der Anstau der glykolytischen Stoffwechselprodukte Glukose und Laktat, als auch der Abfall des pH-Wertes im Myokard war bei 15°C-Lagerung am deutlichsten und bei 5°C am schwächsten ausgeprägt.

Bei der Betrachtung der postischämischen Erholung der Herzen ergab sich hingegen ein anderes Bild. Die Mehrheit der Kontrollparameter sprach für eine Überlegenheit der ischämischen Lagerung bei 10°C. Manche Meßgrößen legten darüber hinaus die Vermutung nahe, daß sich dieses Temperaturoptimum bei größerer Ischämiebelastung hin zu kälteren Temperaturen verschiebt.

Hinsichtlich funktioneller Parameter erreichten die 10°C-Herzen ungeachtet der Ischämiedauer in der Reperfusion die besten Ergebnisse. Sie wiesen eine kontinuierliche Erholung auf, die Herzfrequenzen waren niedriger und der Rhythmus stabiler als in den anderen Gruppen. Die Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) des linken Ventrikels erreichte hier im Mittel 750 mmHg/s, das höchste Niveau aller Gruppen. Nach 8-stündiger Ischämie erreichte die 15°C-Gruppe Platz 2 sowohl hinsichtlich der Inotropie ($dp/dt_{max} \approx 700$ mmHg/s) als auch in Bezug auf Herzfrequenz und Rhythmusstabilität, 5°C-Herzen waren deutlich schlechter ($dp/dt_{max} \approx 500$ mmHg/s). Nach 10-stündiger Ischämie hingegen erholten sich die 5°C-Herzen wesentlich besser als die der 15°C-Gruppe ($dp/dt_{max} \approx 650$ vs. 400 mmHg/s, auch stabilerer Rhythmus).

Auch die metabolische Erholung in Reperfusion erschien nach Ischämie bei 10°C am günstigsten. Laktatproduktion und pH-Abfall lagen hier auf dem niedrigsten Niveau, die Gewebekonzentrationen energiereicher Phosphate und Glykogen erholten sich über den Zeitraum der Reperfusion besser als in den anderen Gruppen. Diese Ergebnisse sprechen für einen suffizienten aeroben Stoffwechsel. Noch deutlicher zeigt sich die Güte der 10°C-Herzen in den Elektrolyt-Bilanzen. Ungeachtet der vorangegangenen Ischämiedauer wiesen sie in der Reperfusion nach initialen Äquilibrationvorgängen eine nahezu ausgeglichene Bilanz für Na^+ , K^+ und Ca^{2+} auf. Hingegen waren bei den 5°- und 15°C-Herzen die Elektrolytverschiebungen nicht nur wesentlich ausgeprägter, sondern stabilisierten sich auch im Reperfusionszeitraum nicht. Das weist auf Schädigungen hin, die auch bei fortgesetzter Erholung nicht reversibel waren. So zeigte sich etwa in der Ca^{2+} -Bilanz nach Ischämie bei 10°C ungeachtet der Ischämiedauer in den ersten 15-20 min der Reperfusion eine Ca^{2+} -Aufnahme von ca. 0,1 mmol/100g FG_{kor} (was in der Nähe der rechnerisch zu erwartenden Äquilibrationmenge liegt), danach fanden keine weiteren Netto-Verschiebungen statt. Die anderen Gruppen zeigten hingegen nicht nur eine ausgeprägtere initiale Ca^{2+} -Beladung, sondern auch eine bis zum Ende der Reperfusion fortgesetzte Ca^{2+} -Aufnahme in der Größenordnung von 0,3-0,5 mmol/100g FG_{kor} .

Diskussion In den vorliegenden Modellen sind zwei Problembereiche von grundlegender Bedeutung: Hypothermie und Ischämie. Aufgrund der heterogenen Kälteantwort biologischer Gewebe werden verschiedene Stoffwechselschritte durch Hypothermie in unterschiedlichem Ausmaß inhibiert, so daß das physiologische Gleichgewicht des Metabolismus verloren geht. In Folge der Ischämie entfällt die Versorgung der Myozyten mit Sauerstoff und Nährstoffen, so daß das Gewebe auf die energetisch ineffiziente anaerobe Glykolyse angewiesen ist. Diese Veränderungen wirken sich besonders in folgenden Bereichen aus:

1. **Aktivität der Na^+ , K^+ -ATPase.** Inhibieren Kälte oder Energiemangel dieses für die zelluläre Homöostase zentrale Enzym, verliert die Zelle die Möglichkeit der Regulation ihres Ionenmilieus. Die Gradienten für K^+ und Na^+ verfallen und mit ihnen das Membranpotential, es folgt eine zytosolische Ca^{2+} -Überladung. Die resultierende Stoffwechselaktivierung verschärft die Energiekrise, der Verlust der Osmoregulation bedeutet Zellschwellung und behinderte Nährstoff- und Sauerstoffdiffusion. Diese Prozesse münden schließlich in den hybriden Zelltod. Während der Ischämie kann die kardioplegische HTK-Lösung diese Veränderungen verlangsamen. Treffen in der beginnenden Reperfusion hingegen physiologische Ionengradienten auf eine noch insuffiziente Aktivität der Na^+ , K^+ -ATPase, steigt das Risiko für einen

Reperfusionsschaden.

Die vorliegenden Ergebnisse weisen für die 10°C-Herzen je die geringste zytosolische Überladung mit Na⁺- und Ca²⁺ in Reperfusion aus. Auch die K⁺-Aufnahme ist hier initial am höchsten, was für eine ausreichende Aktivität der Membranpumpen spricht. Später sind die Elektrolytbilanzen nahezu ausgeglichen. Demgegenüber weisen die gestörten Bilanzen nach 5°C- bzw. 15°C-Ischämie auf eine ungenügende metabolische Erholung des Myokards hin.

Die Physiologie des Winterschlafs lehrt, daß eine ausreichende Aktivität der Na⁺, K⁺-ATPase (und auch der SR-Ca²⁺-ATPase) in Hypothermie und Bewahrung des Membranpotentials Vorrang haben vor unbedingter Minimierung des Energieverbrauches. Die gute energetische Bilanz der Ischämie bei 5°C ist somit kritisch zu sehen, weil bei dieser Temperatur eine Funktion membrangebundener ATPasen nicht mehr nachweisbar ist. Bei 15°C könnte der schnelle Abfall der Energiereserven limitierend wirken.

2. *Ca²⁺-Homöostase.* Im Verlauf von Ischämie und Hypothermie, insbesondere aber zu Beginn der postischämischen Reperfusion steigt die intrazelluläre (und mitochondriale) Ca²⁺-Konzentration. Das liegt darin begründet, daß alle Ca²⁺-ausschleusenden Systeme durch Kälte, Verfall energetischer Reserven (Ca²⁺-ATPase im SR und Sarkolemm) und unphysiologische Ionengradienten (NCX) insuffizient sind, bei gleichzeitig gesteigerter Permeabilität der Zellmembranen für Ionen. Unphysiologisch hohes Ca²⁺ erhöht seinerseits den zellulären Energiebedarf durch enzymatische und kontraktile Aktivierung der Zelle, senkt gleichzeitig aber das Energieangebot durch Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien.

Im Gegensatz zu der ausgeglichenen Ca²⁺-Bilanz der 10°C-Gruppen nehmen die 5°- und 15°C-Herzen in der Reperfusion kontinuierlich Ca²⁺ auf. Jene Gruppen zeigen ferner eine reduzierte Sauerstoffaufnahme, fortgesetzten Verlust energetischer Reserven, erhöhten Koronarwiderstand und deutlichere Azidoseentwicklung. Das spricht für einen insuffizienten aeroben Stoffwechsel. Bei 10°C scheint der Mittelweg zwischen Restaktivität der ATPasen (Wärme) und langsamerem ATP-Verlust (Kälte) am günstigsten.

3. *Metabolismus.* Die Aktivität gewisser Membranpumpen in hypothermer Ischämie ist für eine gute postischämische Erholung der Herzen erforderlich. Die dafür erforderliche Energie muß während der Ischämie aus der anaeroben Glykolyse kommen, eine vollständige metabolische Inaktivierung der Myozyten, wie dies annähernd bei 5°C geschieht, erscheint daher nicht sinnvoll. Der schnellere Verfall der Energiereserven limitiert allerdings die moderate gegenüber der tiefen Hypothermie.

Während der Reperfusion deutet die kontinuierliche Laktatabgabe der meisten Versuche auf einen (regional) insuffizienten aeroben Stoffwechsel hin. Die Netto-Produktion an Laktat ist nach 480 min Ischämie in den wärmeren Gruppen (10° - 15°C) am geringsten. Dieses Optimum verschiebt sich bei 600 min Ischämie zu kälteren Temperaturen (5° -10°C). Die Vorteile der moderaten Hypothermie sind somit zeitlich begrenzt.

4. *Funktionelle Erholung.* Dieser für die Klinik relevanteste Aspekt ist eine Funktion von energetischem Status, Metabolismus und Elektrolythomöostase des Myokards. Wie auch für einige metabolische Parameter zeigt sich mit Blick auf die Erholung der Kontraktilität eine Verlagerung der optimalen Ischämietemperatur zu kälteren Werten bei längerer Ischämiebelastung.

Die Physiologie des Winterschlafs unterstützt diese Beobachtungen. Um Hypothermie und Hypoxie über längere Zeiträume tolerieren zu können, werden zum einen entbehrliche Stoffwechselschritte konsequent verlangsamt, zum anderen aber einige relevante Prozesse

in bestimmten Organen von diesem Sparprogramm ausgenommen. Membranpotential und Elektrolythomöostase bleiben so auch in Hypothermie intakt. Auch wird die Körpertemperatur nur so weit abgesenkt, daß eine spezifische metabolische Rate von $0,1 \text{ kcal}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ nicht unterschritten wird. Diese Grenze entspricht etwa dem zellulären Strukturerhaltungsumsatz. Sie wäre beim Menschen etwa bei $10\text{-}15^\circ\text{C}$ erreicht und läge beim Hund leicht darunter. Ausreichender Energieumsatz (Indikator in Anaerobiose: Laktat) und ATP-Konservierung stehen im Widerspruch zueinander, sind aber beide für eine postischämische Wiederbelebbarkeit des Herzens essentiell. Der Verlauf des theoretischen Produktes [Laktat-ATP] (vgl. Abb. 4.7, S. 75) gibt einen Hinweis auf die Temperatur, die hierfür abhängig von der Ischämiedauer den besten Kompromiß darstellen könnte.

Schlußfolgerung Aus der vorliegenden Studie ergibt sich die These, daß die optimale Temperatur bei ischämischer Lagerung des Herzens abhängig ist von der Dauer der Ischämiebelastung. Dabei scheint in jedem Fall eine moderatere Hypothermie als die klinisch angewandten 5°C in einer besseren postischämischen metabolischen und funktionellen Erholung zu resultieren. Für 480 min Ischämie erscheint eine Temperatur von $10\text{-}15^\circ\text{C}$ optimal, für 600 min von $5\text{-}10^\circ\text{C}$. Diese beim Hund ermittelten Werte lägen beim Menschen einige Grad höher.