

Aus dem Zentrum für Operative Medizin I
Forschungsgruppe Experimentelle Chirurgie
Universitätsklinikum Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. E. Gams
Betreuer: Prof. Dr. J.D. Schipke

**Effekte eines Sinusknoteninhibitors (DK-AH 269) und eines
Kalziumantagonisten (Verapamil) auf Funktion und Infarktgröße
von Kaninchenherzen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Nelson da Silva Santos Amaral

2010

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf
gez.: Univ. - Prof. Dr. med. J. Windolf
Dekan

Referent: Prof. Dr. J.D. Schipke
Korreferent: Univ. - Prof. Dr. K. Schrör

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Geschichte der bradykarden Substanzen.....	1
2. Material und Methoden	5
2.1 Wirkmechanismus von Cilobradin (DK-AH 269).....	5
2.1.1 Schrittmachereigenschaften.....	5
2.1.2 Pharmakodynamik	9
2.2 Versuchsdurchführung an in situ Herzen narkotisierter Kaninchen.....	11
2.3 Versuchsprotokolle.....	12
2.4 Datenerfassung.....	14
2.5 Bestimmung der Infarktgröße.....	15
2.6 Blutgasanalyse.....	15
2.7 Statistik.....	16
2.8 Pharmakologische Substanzen.....	16
2.8.1 Verapamil.....	16
2.8.2 DK-AH 269	17
3. Ergebnisse	18
3.1 Herzfrequenz.....	18
3.2 Aortenfluss.....	19
3.3 Schlagvolumen.....	20
3.4 Aortendruck.....	21

3.5	Linksventrikulärer Spitzendruck.....	22
3.6	Maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit	23
3.7	Totaler peripherer Widerstand.....	24
3.8	Maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit	25
3.9	Linksventrikulärer enddiastolischer Druck.....	26
3.10	Infarktgröße.....	27
4.	Diskussion.....	29
4.1	Herzfrequenz und Lebenserwartung.....	29
4.2	Tachykardien.....	31
4.3	Antitachykardie Substanzen.....	32
4.3.1	β -Adrenorezeptoren-Blocker.....	32
4.3.2	Ca^{2+} -Antagonisten.....	32
4.3.3	Spezifisch bradykarde Substanzen.....	33
4.4	Eigene Ergebnisse.....	34
4.4.1	Herzfrequenz.....	34
4.4.2	Kraft-Frequenz-Beziehung.....	36
4.4.3	Systolische Funktion.....	38
4.4.3.1	Aortenfluss und Schlagvolumen.....	39
4.4.3.2	Linksventrikulärer Spitzendruck (LVP_{max}) und max. linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}).....	40

4.5	Diastolische Funktion.....	42
4.6	Periphere Vasomotion.....	43
4.7	Infarktgröße.....	44
4.8	Zusammenfassung & Schlussfolgerung	46
5.	Literatur.....	48
6.	Lebenslauf	61

1. Einleitung

1.1 Geschichte der bradykarden Substanzen

In Rotterdam fand 1987 ein internationales Symposium zum Thema „*HEART RATE REDUCTION. A REINVENTED APPROACH TO CARDIAC PHYSIOLOGY AND THERAPY*“ statt. Hier wurden die bis dahin erzielten experimentellen und klinischen Ergebnisse mit sogenannten spezifischen bradykarden Substanzen vorgestellt und diskutiert. Die, zu diesem Zeitpunkt, erhofften Anwendungsgebiete in verschiedenen Bereichen der Kardiologie und Kardiochirurgie haben sich im Verlauf der weiteren Jahre nicht bestätigt.

So wurde in einer 1995 veröffentlichten randomisierten Studie kein therapeutischer Vorteil bei zusätzlicher Gabe von Zatebradin zu Nifedipin bei Patienten mit instabiler Angina pectoris nachgewiesen (1). Trotz der bisher insgesamt wenig erfolgversprechenden, klinischen Ergebnisse nach Anwendung bradykarder Substanzen (insbesondere Alinidin, Falipamil und Zatebradin) wird im experimentellen Bereich weiterhin intensiv an und mit ihnen gearbeitet, da das Prinzip der Bradykardie, mit dem verminderten myokardialen Sauerstoffverbrauch und der verbesserten Koronarperfusion, bei fehlender negativer Inotropie, theoretisch überzeugend ist und weiterer Untersuchungen an neueren Substanzen bedarf.

Das Interesse an selektiven, Herzfrequenz-senkenden Medikamenten lässt sich bis in das Jahr 1949 zurückverfolgen. Damals wurde erstmals über Veratramin berichtet, eine Substanz, die ab 1999 nicht mehr in der Literatur erscheint (2). Erst sehr viel später, 1987, wurde Tedisamil (KC-8857) ursprünglich als frequenz-

reduzierende Substanz vorgestellt (3). Diese Substanz befindet sich inzwischen zur Therapie von Vorhofflimmern in der klinischen Phase II/III (4, 5).

Die Entwicklung der spezifischen, bradykarden Substanzen begann 1973 im Ernst-Boehringer-Institut in Wien und in der Forschungsabteilung von Dr. Karl Thomae in Biberach, die beide zunächst an bekannten antiarrhythmischen Substanzen forschten. Studien an isolierten Vorhöfen zeigten dann, dass diese Antiarrhythmika, in unterschiedlichem Ausmaß, die Kontraktilität, die Herzfrequenz und auch die Refraktärperiode verringerten. Deshalb wurde die Entwicklung von Substanzen angestrebt, die über eine direkte Wirkung an Sinusknotenzellen lediglich die Herzfrequenz vermindern sollten. Zu diesem Zeitpunkt synthetisierte die Forschungsabteilung von Dr. Thomae verapamilähnliche Präparate, wovon das Derivat Falipamil (AQ-A 39) eine beträchtliche Senkung der Herzfrequenz an Hunden hervorrief (6).

Im weiteren Verlauf erfolgten Untersuchungen an α -Adrenorezeptor-stimulierenden Substanzen (Clonidinderivate). Der Wirkmechanismus eines dieser Derivate, STH 2148, wich vom erwarteten Wirkmechanismus ab, denn es verminderte die Herzfrequenz an narkotisierten Ratten über eine direkte Wirkung am Herzen und nicht, wie es bei Clonidin bekannt war, über das zentrale Nervensystem. Weitere Untersuchungen ließen die Schlussfolgerung zu, dass STH 2148, wie auch Falipamil, die Herzfrequenz verringerte, ohne andere hämodynamische Parameter zu beeinflussen.

Daraufhin wurden solche Substanzen als eine neue Substanzklasse definiert: Spezifisch Bradykarde Substanzen (SBS). Die Wiener Pharmakologen untersuchten nun in Zusammenarbeit mit Chemikern aus Ingelheim die Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Substanzen. Bald wurde die Bedeutung der N – Seiten-

ketten für die Suppression der zentralnervösen Nebeneffekte und die Verstärkung der bradykarden Wirkung des Clonidins bekannt (7).

Die bradykarden Substanzen leiten sich von zwei strukturell unterschiedlichen chemischen Gruppen ab: Den N-substituierten Imidazolinderivaten (Alinidin-Typ) und den Benzolactamderivaten (Falipamil-Typ) (8). Die erste klinische Anwendung erfolgte mit Alinidin (ST 567) und wurde 1979 publiziert (9). Vorangegangen waren toxikologische und Phase I Studien, die insbesondere den analgetischen Effekt, als ein weiteres Charakteristikum der Clonidinderivate, zum Gegenstand hatten. Dieser analgetische Effekt erwies sich im weiteren Verlauf als bedeutungslos, während die Senkung der Herzfrequenz bei fast allen Patienten nachweisbar war. Weitere klinische Studien, bei Patienten mit Angina pectoris, folgten und konnten den potentiellen klinischen Wert dieser Substanzgruppe belegen (10).

Trotzdem wurde die weitere Anwendung des Alinidins durch zwei Probleme erschwert: Einerseits durch die Entdeckung des, zwar geringen, aber biologisch aktiven, Metaboliten Clonidin, andererseits durch die Beobachtung von Sehstörungen (Nachtblindheit) bei gesunden Probanden und bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung. Auch wenn diese Sehstörungen keine bedrohlichen Ausmaße annahmen, so waren sie doch Grund genug, die breitere Anwendung des Präparates einzuschränken.

In Biberach und Wien wurden eine ganze Reihe von Falipamilabkömmlingen synthetisiert und pharmakologisch charakterisiert. Ähnlich der Wirkung von Klasse – III - Antiarrhythmika (Einteilung nach Vaughan – Williams), ließ sich zusätzlich eine Verlängerung des Aktionspotentials nachweisen, die mit einer Herzfrequenz-Reduktion einherging. Später gelang die Synthese von Zatebradin (UL-FS 49), das bei ausgeprägter bradykarder Wirkung keine solche Veränderung des Aktions-

potentials bewirkte (11). Man nahm an, dass die Wirkung am Sinusknoten auf Veränderungen der Ionenkanäle beruht. Bei intrazellulären Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass der Wirkmechanismus offenbar nicht mit den bislang bekannten zellulären Veränderungen der β -Adrenorezeptoren-Blocker, der Klasse I Antiarrhythmika oder der Calciumantagonisten identisch ist. Vielmehr wurde eine Wirkung an den bislang kaum erforschten I_f -Kanälen angenommen.

Auf der Suche nach potenteren bradykarden Substanzen wurde 1992 durch die Dr. Karl Thomae GmbH Cilobradin (DK-AH 269) entwickelt und in ersten Versuchen getestet (12, 13).

Es ist zu erwähnen, dass im September 2005 Ivabradin (Servier, FR) von der EMEA (Europäische Arzneimittelagentur) für die Therapie der stabilen Angina pectoris bei Patienten mit normalem Sinusrhythmus, die eine Unverträglichkeit gegenüber β -Blockern zeigen oder bei denen β -Blocker kontraindiziert sind, zugelassen wurde.

Vorangegangene Studien an isolierten, blutperfundierten Kaninchenherzen zeigten, unter normoxischen Bedingungen, eine dosisabhängige Reduktion der Herzfrequenz durch Cilobradin. Unter Aufrechterhaltung des koronaren Blutflusses pro Herzschlag, konnte der myokardiale Sauerstoffverbrauch gesenkt werden. Die systolische Funktion blieb dabei primär unverändert (46, 47).

In der vorliegenden Studie an insgesamt 25 *in situ* Kaninchenherzen wurden die Auswirkungen von Cilobradin auf die Infarktgröße und die postischämische Funktion, nach myokardialer Ischämie mit anschließender Reperfusion, im Vergleich zu Verapamil und Placebo untersucht.

2. Material und Methoden

Es wurden drei Versuchsreihen an Herzen von insgesamt 25 adulten, männlichen New Zealand White Kaninchen durchgeführt. Das Alter der Tiere lag zwischen 6 und 8 Monaten, und das Körpergewicht lag zwischen 2700 g und 3700 g. Alle Tiere stammten aus einer pathogenfreien Versuchstierzucht und wurden über die Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf bezogen. Die Versuche wurden gemäß § 8a des Deutschen Tierschutzgesetzes vom 25. Mai 1998 der Regierung von Nordrhein-Westfalen durchgeführt.

2.1 Wirkmechanismus von Cilobradin (DK-AH 269)

2.1.1 Schrittmachereigenschaften

Das menschliche Herz schlägt täglich mehrere zehntausend Mal. Die Leistung, die lebenslang erbracht wird, ist beachtlich. Am hochspezialisierten Herzen unterscheidet man zwischen Zellen des Arbeitsmyokards und des Erregungsbildungs- und des Erregungsleitungssystems. Das letztere induziert und steuert die rhythmischen Kontraktionen des Arbeitsmyokards: Autorhythmie. In der Hierarchie des Erregungsbildungssystems wird der Sinusknoten als „*primärer Schrittmacher*“ bezeichnet, da er unter physiologischen Bedingungen die Herzfrequenz bestimmt.

Die Schrittmacherzellen des Sinusknotens besitzen die Fähigkeit zur spontanen Bildung von Aktionspotentialen. Im Anschluss an die Repolarisationsphase kommt es zu einer langsamen, kontinuierlich zunehmenden, diastolischen Depolarisation (Phase 4), die das Schwellenpotential erreicht und damit eine neue Erregung auslöst (siehe Abb. 1).

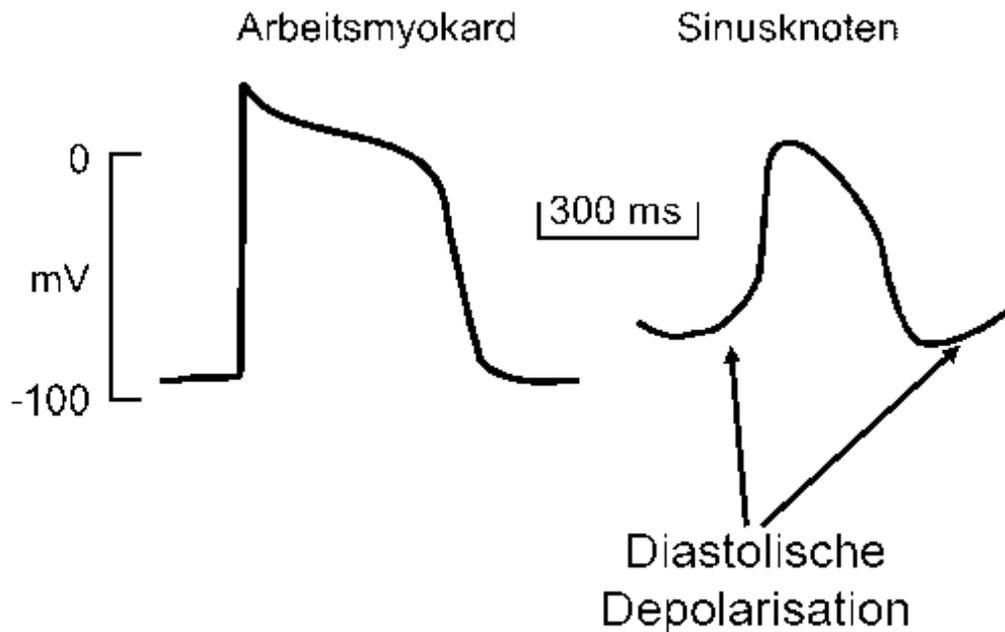


Abb. 1: Unterschiede im Aktionspotential des Arbeitsmyokards und Sinusknotens

Dies ist ein sich selbst unterhaltender und wiederholender Prozess. Die Zellen des Arbeitsmyokards hingegen weisen nach Ablauf des Aktionspotentials ein „stabiles“ Ruhemembranpotential auf, bis sie erneut stimuliert werden (Abb. 1). Dem Arbeitsmyokard der Vorhöfe und der Ventrikel fehlt also die Eigenschaft, sich spontan oder automatisch zu kontrahieren. Es benötigt somit einen externen Stimulus, der vorzugsweise vom Sinusknoten kommt. Dieser Mechanismus ist entscheidend für die Schrittmacherfunktion des Sinusknotens.

Verantwortlich für diesen Mechanismus ist hauptsächlich der I_f -Kanal.

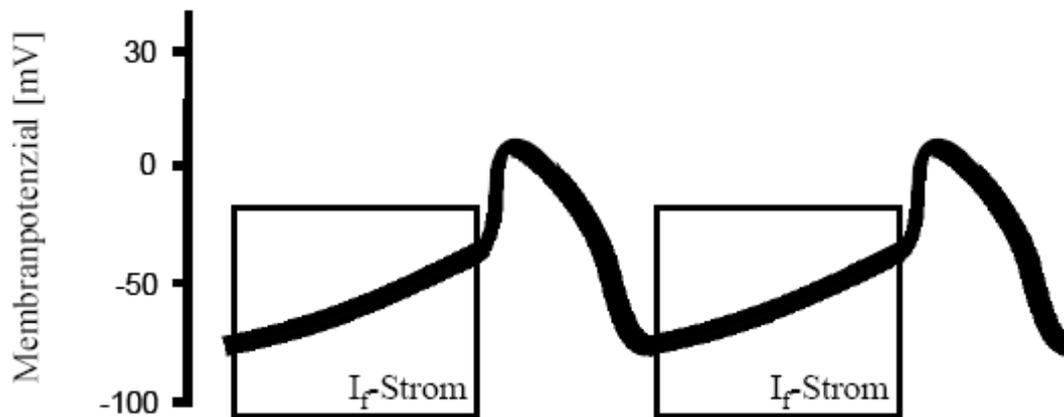


Abb. 2: Aktionspotentiale von myokardialen Schrittmacherzellen des Sinusknotens:

I_f-Schrittmacherstrom verursacht die langsame diastolische Depolarisation

(modifiziert nach [99])

Dieser Kanal kommt in verschiedenen kardialen und neuronalen Zellen (hier I_h genannt) vor (14, 15). Es ist ein unspezifischer Kationenkanal (Na^+ und K^+), der durch Hyperpolarisation aktiviert wird und einen einwärtsgerichteten „Schrittmacherstrom“ erzeugt (Abb. 2) (16). Dieser Strom wurde als „funny“ bezeichnet (daher I_f), weil normalerweise spannungsgesteuerte Kanäle für ein Ion spezifisch sind (17). Weitere atypische Eigenschaften des I_f -Kanals sind der o.g. durch Hyperpolarisation aktivierbare, einwärtsgerichtete Ionenstrom, die schwache Selektivität für Natrium und Kalium und das Vorhandensein eines intrazellulären „second messengers“ (cAMP), welcher direkt an Kanalproteine bindet. Der I_f -Kanal wird als sogenannter „hyperpolarization-activated, cyclic-nucleotide-gated“ (HCN)-Kanal bezeichnet und gehört zur Familie der spannungsgesteuerten Kaliumkanäle (K_v) (18). Er besteht aus vier Untereinheiten, welche um eine zentral liegende Pore angeordnet sind (Abb. 3). Die intrazellulär liegende C-terminale Region jeder Untereinheit besitzt eine „cyclic-nucleotide-binding domain“ (CNBD), an die das cAMP bindet und somit den „Schrittmacherstrom“ reguliert und moduliert (19).

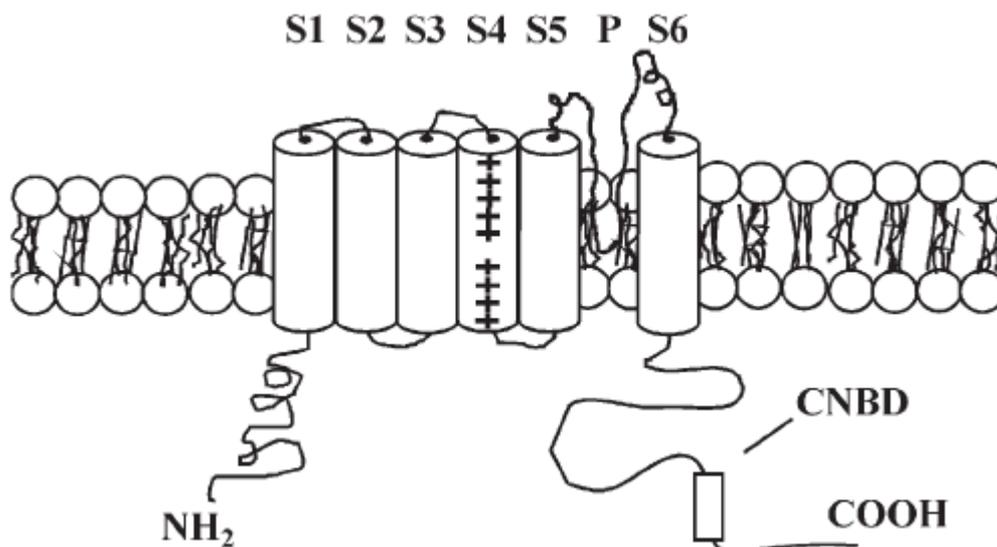


Abb. 3: Topologie und Struktur des HCN - Kanals. Dargestellt sind die 6 transmembranen Segmente (S1-S6), die zentral liegende Pore (P), die zyttoplasmatischen NH₂ und COOH Fragmente; letzteres beinhaltet die cyclic-nucleotide-binding domain (CNBD) (modifiziert nach [100])

Größere Zu- oder Abnahmen der Herzfrequenz gehen normalerweise mit einer Gesamtveränderung des Aktionspotentials einher. Moderate Herzfrequenzveränderungen hingegen gehen auf eine Beeinflussung des Anstiegs der diastolischen Depolarisation zurück und implizieren nicht unbedingt eine Änderung der Aktionspotentialdauer. Eine Zunahme der intrazellulären Konzentration von cAMP verschiebt die spannungsgesteuerte Aktivierung des I_f-Kanals zu positiveren Werten, beeinflusst somit den Anstieg der diastolischen Depolarisation und schließlich auch die Herzfrequenz (14).

So vermittelt auch das vegetative Nervensystem die Herzfrequenzregulierung über den I_f-Kanal. Die pharmakologische Aktivierung des parasympathischen Anteils des vegetativen Nervensystems durch Acetylcholin oder Prostigmin führt zu einer Verschiebung der spannungsgesteuerten Aktivierung des I_f-Kanals zu negativeren

Werten und somit zu einem langsameren Anstieg der diastolischen Depolarisation. Die Aktivierung des sympathischen Anteils des vegetativen Nervensystems durch Pharmaka wie Adrenalin oder Isoprenalin führt zu gegensinnigen Effekten (14, 16).

Die Familie der HCN-Kanäle besteht aus 4 Isoformen, HCN 1 - HCN 4, deren Aminosäuresequenz zu 90 % übereinstimmt. Sie unterscheiden sich durch ihre Spannungsabhängigkeit, cAMP-abhängige Modulierung und Aktivierungskinetik (19). HCN 1, HCN 2 und HCN 4 werden in Kardiomyozyten exprimiert, wobei in Schrittmacherzellen des Sinusknotens HCN 4 die dominierende Isoform ist (20).

Die Hypothese der „allosterischen Regulierung“ besagt, dass sowohl Spannung als auch cAMP sich eines gemeinsamen Mechanismus bedienen, um die Öffnungswahrscheinlichkeit des HCN-Kanals zu steigern (21). Die Öffnungswahrscheinlichkeit nimmt jedes Mal zu, wenn es zu einer Adjustierung der „Spannungssensoren“ der Untereinheiten kommt und die Bindung von cAMP an die CNBD der Untereinheiten zu einer Konformationsänderung oder einer Desinhibierung führt (19, 21).

2.1.2 Pharmakodynamik

Cilobradin (DK-AH 269) ist ein hochselektiver und potenter Blocker der I_f -Kanäle (22). Es führt zu einer Zunahme der Aktionspotentialdauer, einer Verlängerung der Abstände zwischen den Aktionspotentialen und schließlich einem langsameren Anstieg der diastolischen Depolarisation (Abb. 4). Die Wirkung am HCN 4-Kanal ist dosis- und anwendungsabhängig (23). Die Substanz wirkt in kationischem Zustand von intrazellulär und blockiert den I_f -Kanal nach dem Alles-oder-Nichts-Prinzip. Die Bindungsstelle, die im Inneren des Kanals liegt, kann nur besetzt werden, wenn der Kanal offen ist und der elektrochemische Gradient es somit zulässt. Bei negativeren Spannungen, mit größeren einwärtsgerichteten Ionen-

strömen, wird Cilobradin von der Bindungsstelle verdrängt und der Block wird aufgehoben (24). Cilobradin existiert in einem pH-abhängigen Gleichgewicht zwischen einer positiv geladenen und einer neutralen Form. Nur die neutrale Form kann die Zellmembran der Schrittmacherzellen des Sinusknotens passieren und dann nach intrazellulären Protonisierung seine Wirkung an den I_f -Kanälen entfalten (12, 13).

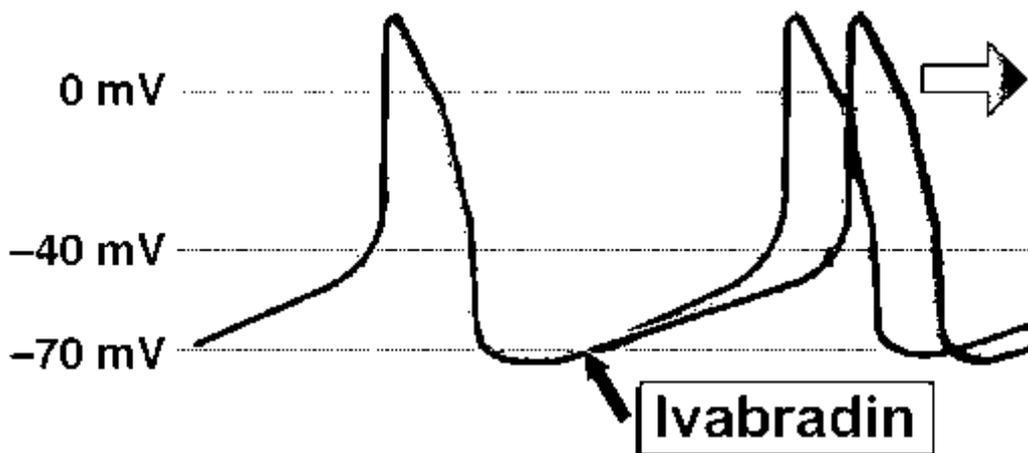


Abb. 4: Blockierung des I_f -Kanals am Beispiel des Cilobradin-Analogons Ivabradin. Dargestellt ist das Aktionspotential am Sinusknoten. Durch die Blockierung des I_f -Kanals kommt es zu einer Abnahme der Anstiegssteilheit der diastolischen Depolarisationskurve und somit zu einer Herzfrequenzreduktion. (modifiziert nach [101]).

In Versuchen an Mäusen war Cilobradin, bezogen auf die ED_{50} , im Vergleich zu anderen I_f -Kanal-Blockern wie Zatebradin und Ivabradin, die effizienteste Substanz (23). Unter ED_{50} versteht man die Dosis oder Konzentration, die zu einer Reaktion führt, die 50 % der maximalen Reaktion beträgt oder bei der in 50 % der Fälle der erwartete Effekt eintritt.

Obwohl die I_f -Kanäle eine besondere Bedeutung für die Schrittmacherfunktion und die autonome Modulation des Sinusknotens haben, können auch

andere Kanäle die Schrittmacherfunktion beeinflussen, denn selbst eine komplette Blockade des I_f -Kanals kann die Funktion des Sinusknotens nicht völlig außer Kraft setzen (25).

Cilobradin hat in Konzentrationen, die einen kompletten Block der I_f -Kanäle bewirken, weder bei isolierten Kardiomyozyten von Schweinen noch bei Sinusknotenzellen der Ratte einen Einfluss auf Ca^{2+} -Kanäle vom L-Typ. Die Affinität der Substanz für die I_f -Kanäle ist ca. 1000 mal stärker als zu den Ca^{2+} -Kanälen, so dass innerhalb des Dosisbereiches eine selektive Reduktion der Herzfrequenz erreicht werden kann, ohne einen blockierenden Effekt auf die Ca^{2+} -Kanäle zu haben, d.h. verminderte Inotropie und systemische Vasodilatation. Dies ist umso bemerkenswerter, da eine große strukturelle Ähnlichkeit zu Verapamil besteht, einem klassischen Ca^{2+} -Antagonisten vom Nicht-Dihydropyridin-Typ. Der Effekt von Cilobradin auf die Ca^{2+} -Kanäle vom S-Typ wurde bisher noch nicht untersucht (22).

2.2 Versuchsdurchführung an *in situ* Herzen narkotisierter Kaninchen

Die Tiere erhielten eine i.m. Kombinationsanästhesie aus 10 % Ketaminhydrochlorid (25 mg/kg; Ketavet[®], Pharmacia & Upjohn GmbH) und 2 % Xylazinhydrochlorid (5 mg/kg Rompun[®]; Bayer Vital GmbH & Co. KG).

Die Narkose wurde während des Versuches mit Natriumpentobarbiton (15-20 mg/kg/h; Nembutal[®], Richter Pharma) weitergeführt. Zur i.v. Applikation weiterer Arzneimittel wurde ein Zugang über eine periphere Ohrvene geschaffen. Es folgte eine Tracheotomie (5-6 Knorpelspange) und Intubation (Endotrachealkanüle von 3,2-3,6 mm Innendurchmesser (Laboratoires pharmaceutiques VYGON; FR). Die Tiere

wurden mit Carbogen-angereicherter Raumluft bei einer Frequenz von 35 min^{-1} und einem Atemzugvolumen von 18-20 ml beatmet (Ugo Basile, Biological Research Apparatus; IT). Die Muskulatur wurde mit 0,2 % Pancuroniumbromid (1 mg Pancuronium[®], Organon Teknika Medizinische Produkte GmbH) relaxiert.

Die Körpertemperatur wurde kontinuierlich überwacht und mit Hilfe eines Heizkissens bei 38 °C gehalten. Die rechte V. jugularis interna und die linke A. carotis communis wurden zwecks Substanz- und Volumengabe und arterieller Blutgasanalyse kanüliert. Es folgte eine mediane Sternotomie. Das Thymusgewebe wurde aus dem Operationsfeld entfernt. Es wurde anschließend eine Perikardiotomie durchgeführt und ein perivaskulärer Flussmesskopf (4SB256, Transonic Systems; US) um die Aorta ascendens platziert.

Über das angeschlossene Flussmessgerät (T206 2-channel, Transonic Systems, US) wurde der Aortenfluss gemessen. Ein Nadel-Tipkatheter (3F, Millar, US) wurde durch den Apex in den linken Ventrikel zur Ermittlung des linksventrikulären Druckes eingeführt.

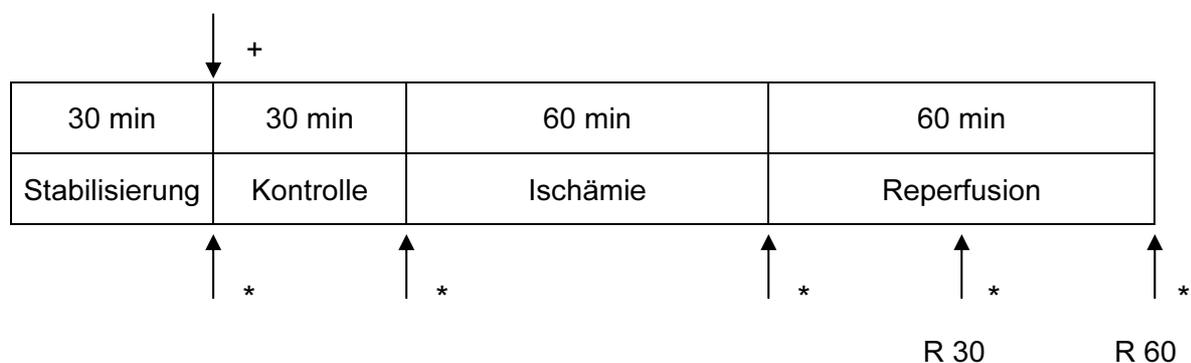
2.3 Versuchsprotokolle

Die Untersuchungen wurden an 25 narkotisierten Kaninchen durchgeführt, die nach dem Zufallsprinzip in 3 Gruppen unterteilt wurden: Placebo-, Verapamil- und Cilobradin-Gruppe.

Nach Instrumentierung der Herzen schloss sich eine Stabilisierungsphase von 30 min an, um eine Erholung von präparationsbedingten Irritationen zu ermöglichen. Die Kaninchen erhielten entweder Verapamil (n=10; 0,1 ml/kg/h), Cilobradin (n=7;

0,25 mg/kg) oder keine der beiden Substanzen (Placebo: n=8). Es folgten weitere 30 min, und anschließend wurde in jeder Gruppe mit einer Schlinge (6-0, Prolene®) ein Hauptast der linken Koronararterie im oberen Drittel verschlossen. Nach 60 min Ischämie wurde die Schlinge geöffnet und das Myokard für 180 min reperfundiert.

Die Daten wurden zu definierten Zeitpunkten ermittelt: am Ende der 30 min Stabilisierungsphase, 30 min nach Substanzgabe (außer in der Placebogruppe, die lediglich die entsprechende Menge physiologische Kochsalzlösung [1 ml] erhielt), am Ende der 60 min Ischämie und 30 min und 60 min nach Reperfusionbeginn.



+ = Substanzgabe
 * = Datenerfassung

Abb. 5: Protokoll des Versuchablaufs. Alle Kaninchen durchliefen eine 30 min Stabilisierungsphase, bevor sie einer der 3 Gruppen zugeordnet wurden. In der Placebogruppe blieb die Substanzgabe aus. Die Daten wurde zu folgenden Zeitpunkten erfasst: am Ende der 30 min Stabilisierung, am Ende der 30 min Kontrolle, am Ende der 60 min Ischämie, 30 min und 60 min nach Reperfusionbeginn (R 30 und R 60 → 30 min bzw. 60 min nach Reperfusionbeginn)

2.4 Datenerfassung

Es wurden Aortenfluß (AoF, ml/min), Aortendruck (AoP, mmHg) und linksventrikulärer Druck (LVP, mmHg) kontinuierlich über ein Datenerfassungssystem (Powerlab[®], AD instruments) aufgezeichnet (Tab. 1).

Tab. 1: Gemessene hämodynamische Größen

Gemessene hämodynamische Größen		
AoF	Aortenfluß	[ml/min]
AoP	Aortendruck	[mmHg]
LVP_{max}	linksventrikulärer Spitzendruck	[mmHg]
LVP_{min}	linksventrikulärer enddiastolischer Druck	[mmHg]

Aus dem linksventrikulären Druck wurden Herzfrequenz (HF, min⁻¹) und Druckänderungsgeschwindigkeit (dP/dt, mmHg/s) ermittelt.

Der totale periphere Widerstand (TPR, mmHg/l/min) wurde aus Aortendruck und Aortenfluß berechnet ($TPR = AoP / AoF$), das Schlagvolumen (SV, ml) aus Aortenfluß und Herzfrequenz ($SV = AoF / HR$) (Tab. 2).

Tab. 2: Errechnete hämodynamische Größen

Errechnete hämodynamische Größen		
HF	Herzfrequenz	[min ⁻¹]
dP/dt_{max}	max. linksventrikuläre Druckänderungsgeschwindigkeit	[mmHg/s]
dP/dt_{min}	min. linksventrikuläre Druckänderungsgeschwindigkeit	[mmHg/s]
TPR	Totaler Peripherer Widerstand	[mmHg/l/min]
SV	Schlagvolumen	[ml]

2.5 Bestimmung der Infarktgröße

Zur Abgrenzung des durchbluteten vom nicht-durchbluteten Gewebe wurde am Ende der Reperfusionzeit der ligierten Arterie wieder verschlossen. Danach wurden über die V. jugularis interna 4 ml 10 % Evans Blue Lösung als Bolus gespritzt, bis sich die Augen des Kaninchens blau färbten.

Im Anschluss wurde das Herz entfernt und eingefroren. Im gefrorenen Zustand wurde dann von den Herzen aller Versuchsreihen, parallel zur Klappen-ebene, 5-6 Querschnitte angefertigt. Das gefährdete, während der Ischämie nicht durchblutete Gewebe, wurde bei der Färbung mit Evans Blue ausgespart.

Zur Bestimmung der Infarktgröße wurden die Herzen mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) gefärbt. Mit dieser Methode färbt sich nekrotisches Myokard grau und vitales rot. Die einzelnen Querschnitte wurden in 1 % TTC Lösung bei 37 °C 15 min inkubiert und anschließend in 10 % Formalin fixiert. Das infarzierte Gewebe, die gefährdeten Gebiete und der gesamte linke Ventrikel wurden mittels einer computerunterstützten Flächenmessung (Microsoft Autosketch[®]) ermittelt. Es erlaubte eine Vergrößerung der Querschnitte auf dem Monitor und gestattet damit eine präzisere Quantifizierung der gewünschten Flächen.

2.6 Blutgasanalyse

Regelmäßige Messungen des pH-Wertes, des pO₂, des pCO₂ und der Elektrolytkonzentrationen (Natrium, Kalium, Kalzium, Bikarbonat) im arteriellen Blut dienten der Überprüfung der Konstanz der Versuchsbedingungen (ABL 505, Radiometer Copenhagen, DK). Die Blutproben wurden aus der linken A. carotis

communis entnommen und in regelmäßigen Abständen während des Protokolls gemessen und bei Bedarf korrigiert.

2.7 Statistik

Die hämodynamischen Parameter wurden mit dem oben genannten Computerprogramm analysiert und berechnet. Die Ergebnisse werden als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Die statistische Auswertung erfolgte mittels eines Softwareprogramms (SYSTAT® [Wilkinson, 1980, US]). Für jede Versuchsgruppe wurde zur Ermittlung der Substanzeffekte eine einfaktorielle Varianzanalyse durchgeführt, an welche sich ein multipler Vergleich (Bonferroni-Korrektur) anschloß. Es wurden Unterschiede als signifikant bezeichnet, wenn die p-Werte $< 0,05$ waren.

2.8 Pharmakologische Substanzen

2.8.1 Verapamil

Die Substanz Verapamil (Isoptin®, Knoll AG) ist ein weißes, geruchloses, kristallines Pulver. Die chemische Bezeichnung lautet Benzenazetonitril, α -[3-[2-(3,4-dimethoxy-phenyl)ethyl]methylamino]propyl]-3,4-dimethoxy- α -(1methylethyl) mono-Hydrochlorid. Diese wasserlösliche Substanz hat ein Molekulargewicht von 491 g (Abb. 6).

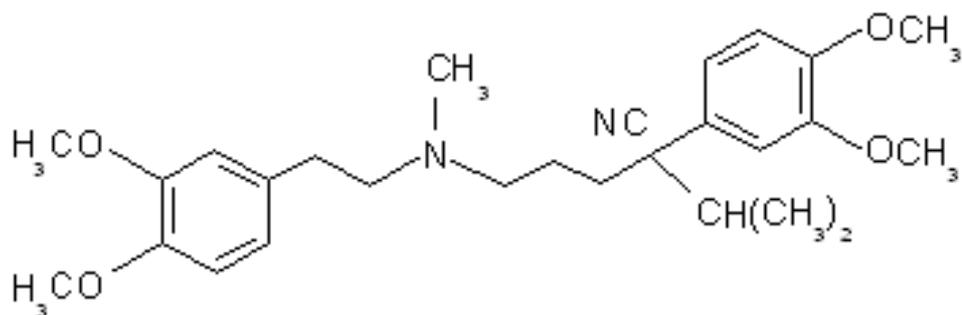


Abb. 6: Chemische Strukturformel von Verapamil

2.8.2 DK-AH 269

DK-AH 269 (Cilobradin, Boehringer Ingelheim Pharma KG) ist ein weißes, kristallines Pulver mit der chemischen Bezeichnung (S)-(+)-1,3,4,5-tetrahydro-7,8-dimethoxy-3[1-2-(3,4-dimethoxyphenyl-ethyl)3-piperinidyl]-methyl]-2H-3-benzazepin-2-1-Hydrochlorid. Diese wasserlösliche Substanz hat ein Molekulargewicht von 519g, und der Schmelzpunkt liegt bei 226 °C (Abb. 7).

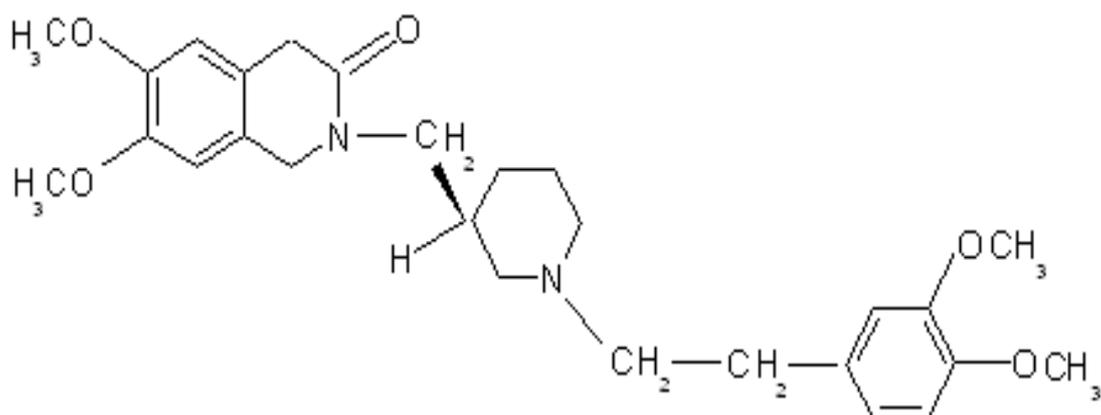


Abb. 7: Chemische Strukturformel von DK-AH 269

3. ERGEBNISSE

3.1 Herzfrequenz

Während des Beobachtungszeitraums war in der Placebogruppe ein kontinuierlicher Anstieg der Herzfrequenz (HF) zu verzeichnen. 60 min nach Reperfusionbeginn (R60), war die HF 18 % gegenüber Kontrolle angestiegen.

Die Verabreichung von Verapamil (0,1 ml/kg/h) senkte die HF zunächst geringfügig um 3 %. Aber auch in dieser Gruppe stieg die HF kontinuierlich um 10 % (R60) gegenüber der Kontrolle.

Eine signifikante Reduktion der HF um 28 % gegenüber der Kontrolle wurde durch Cilobradin (0,25 mg/kg) erzielt. Allerdings stieg auch hier die HF während der Ischämie- und Reperfusion an. 60 min nach Reperfusionbeginn (R60) war die HF um 21 % höher als nach Gabe von Cilobradin, allerdings lag sie 13 % unter der HF während Kontrolle (Tab. 3).

Die HF während Kontrolle war zwischen den drei Gruppen nicht signifikant unterschiedlich.

Tab. 3: Herzfrequenz (HF). Nach Verapamil (0,1 ml/kg/h) war die Herzfrequenz nahezu unverändert, während HF nach Cilobradin (0,25 mg/kg) signifikant gesenkt war R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion. * $p < 0,05$ vs Kontrolle

Substanz	n	HF [min^{-1}]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	172 ± 21	-	191 ± 40	203 ± 47	203 ± 47
Verapamil	10	172 ± 34	167 ± 17	166 ± 25	182 ± 26	189 ± 21
Cilobradin	7	182 ± 17	131 ± 13*	149 ± 21	157 ± 25	159 ± 27

3.2 Aortenfluß

In der Placebogruppe war der prozentuale Abfall des Aortenflusses (AoF) nach der 60 min Ischämie gegenüber der Kontrolle mit 19 % am geringsten. Während der Reperfusion erholte sich der AoF leicht und blieb konstant, um nach 60 min Reperfusion (R 60) 87 % des Kontrollwertes zu erreichen.

In der Verapamilgruppe stieg AoF nach Substanzgabe leicht, doch unter Ischämiebedingungen fiel AoF wieder und erreichte nach 60 min Ischämie 68 % der Kontrolle. In der frühen Reperfusion, (= 30 min nach Reperfusionbeginn), erholte sich AoF und erreichte 88 % des Kontrollwertes. In der späten Reperfusion (= 60 min nach Reperfusionbeginn) fiel AoF allerdings wieder ab und erreichte schließlich 81 % der Kontrolle.

In der Cilobradin-Gruppe sank AoF nach 60 min Ischämie um 29 % gegenüber Kontrolle. In der frühen Reperfusion stieg er auf 78 % (R30) der Kontrolle

an und blieb auch in der späten Reperfusion (R60) weitgehend konstant (79 % der Kontrolle; Tab. 4).

Die AoF-Werte für die drei Gruppen waren während Kontrolle nicht signifikant unterschiedlich. Die berichteten Änderungen waren alle nicht signifikant.

Tab. 4: Aortenfluss (AoF). Mittelwerte \pm Standardabweichung.

R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion.

Substanz	n	AoF [ml/min]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	232 \pm 38	-	195 \pm 39	204 \pm 52	202 \pm 56
Verapamil	10	296 \pm 57	307 \pm 78	201 \pm 59	260 \pm 77	241 \pm 73
Cilobradin	7	224 \pm 26	208 \pm 45	158 \pm 45	174 \pm 50	177 \pm 53

3.3 Schlagvolumen

In der Placebogruppe fiel das Schlagvolumen (SV) nach 60 min Ischämie um 29 %, um dann konstant auf diesem Niveau, sowohl während der frühen (R30) als auch während der späten (R60) Reperfusion, 71 % der Kontrolle beizubehalten.

In der Verapamilgruppe fiel SV nach 60 min Ischämie signifikant auf 67 % der Kontrolle. Danach blieb SV relativ konstant; es stieg in der frühen Reperfusion leicht an, doch in der späten Reperfusion fiel es erneut und erreichte eine signifikante Reduktion gegenüber der Kontrolle von 28 %.

In der Cilobradin-Gruppe nahm SV nach Substanzgabe um 33 % zu, so daß der AoF im wesentlichen erhalten blieb. Nach 60 min Ischämie fiel es und erreichte 93 % der Kontrolle. SV blieb dann konstant, sowohl in früher als auch in später Reperfusion, bei 93 % der Kontrolle (Tab. 5).

Tab. 5: Schlagvolumen (SV). Mittelwerte \pm Standardabweichung. R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion. * $p < 0,05$ vs Kontrolle

Substanz	n	SV [ml]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	$1,4 \pm 0,3$	-	$1,0 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,2$
Verapamil	10	$1,8 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,5$	$1,2 \pm 0,4^*$	$1,4 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,5^*$
Cilobradin	7	$1,2 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,3$

3.4 Aortendruck

In der Placebogruppe nahm der Aortendruck (AoP) nach 60 min Ischämie um 24 % ab und fiel in der frühen Reperfusion (R30) nochmals leicht auf 74 % der Kontrolle. Zur späten Reperfusion (R60) erholte sich AoP und erreichte 81 % der Kontrolle.

In der Verapamilgruppe fiel AoP nach 60 min Ischämie signifikant gegenüber der Kontrolle um 36 %. Sowohl in der frühen als auch in der späten Reperfusion nahm AoP zu, doch war lediglich die Reduktion auf 70 % des Kontrollwerts, in der frühen Reperfusion (R30), signifikant.

In der Cilobradin-Gruppe kam es zu einer signifikanten Reduktion des AoP auf 66 % des Kontrollwertes nach 60 min Ischämie. In der frühen Reperfusion war eine leichte Zunahme des AoP festzustellen, doch kam es in der späten Reperfusion (R60) nochmals zu einer Reduktion, die signifikant gegenüber der Kontrolle war (40 %, Tab. 6).

Tab. 6: Aortendruck (AoP). Mittelwerte \pm Standardabweichung. R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion. * $p < 0,05$ vs Kontrolle

Substanz	n	AoP [mmHg]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	72 \pm 18	-	55 \pm 13	53 \pm 16	58 \pm 17
Verapamil	10	73 \pm 21	54 \pm 8	47 \pm 10*	51 \pm 13*	55 \pm 12
Cilobradin	7	70 \pm 14	58 \pm 17	46 \pm 13*	48 \pm 18	42 \pm 11*

3.5 Linksventrikulärer Spitzendruck

In der Placebogruppe sank der linksventrikuläre Spitzendruck (LVP_{max}) nach 60 min Ischämie um 18 %. Sowohl während der frühen (R30) als auch während der späten Reperfusion (R60) erholte sich LVP_{max} kontinuierlich und stieg auf 88 % bzw. 90 % des Kontrollwertes.

Nach 60 min Ischämie kam es in der Verapamilgruppe zu einem signifikanten Abfall des LVP_{max} um 29 % gegenüber der Kontrolle. Auch hier kam es zu einem kontinuierlicher Anstieg des LVP_{max} während der Reperfusion. Dennoch waren die Werte, die in der frühen (R30) und späten (R60) Reperfusion gemessen wurden, signifikant gegenüber der Kontrolle reduziert; R30 lag bei 74 % und R60 bei 79 %.

Auch in der Cilobradin-Gruppe kam es zu einer Abnahme des LVP_{max} . Nach 60 min Ischämie fiel LVP_{max} auf 76% der Kontrolle und blieb während der Reperfusion relativ konstant. Es kam zu einer leichten Zunahme in der frühen Reperfusion, doch sank LVP_{max} in der späten Reperfusion auf 77 % des Kontrollwertes, was gegenüber der Kontrolle statistisch signifikant war (Tab. 7).

Tab. 7: Linksventrikulärer Spitzendruck (LVP_{max}). Mittelwerte \pm Standardabweichung. R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion. * $p < 0,05$ vs Kontrolle

Substanz	n	LVP_{max} [mmHg]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	88 ± 15	-	72 ± 18	77 ± 9	79 ± 6
Verapamil	10	86 ± 10	71 ± 7	$61 \pm 9^*$	$64 \pm 12^*$	$68 \pm 8^*$
Cilobradin	7	78 ± 16	71 ± 10	59 ± 9	62 ± 11	$60 \pm 8^*$

3.6 Maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit

In der Placebogruppe sank die maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) nach 60 min Ischämie signifikant um 25 %. Es kam zu einer Erholung von dP/dt_{max} während der Reperfusion. Nach 30 min Reperfusion betrug dP/dt_{max} 81 % der Kontrolle, nach 60 min 83 %.

Auch in der Verapamilgruppe sank dP/dt_{max} signifikant nach 60 min Ischämie um 42 %. Es fand ein gradueller Anstieg während der Reperfusion statt, aber die Reduktion von dP/dt_{max} gegenüber der Kontrolle war sowohl in der frühen als auch in der späten Reperfusion signifikant; R30 lag bei 69 % der Kontrolle, R60 bei 76 %.

dP/dt_{max} fiel in der Cilobradin-Gruppe signifikant um 32 %, 60 min nach Ischämiebeginn. Zunächst folgte nach 30 min Reperfusion (R30) eine Erholung auf 72 % der Kontrolle, doch dann fiel es nach 60 min Reperfusion auf 68 % ab. Allerdings waren beide gemessenen Werte während der Reperfusion signifikant erniedrigt gegenüber der Kontrolle (Tab. 8).

Tab. 8: Maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}). Mittelwerte \pm Standardabweichung. R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion. * $p < 0,05$ vs Kontrolle

Substanz	n	dP/dt_{max} [mmHg/s]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	1800 \pm 343	-	1351 \pm 321*	1460 \pm 211	1490 \pm 190
Verapamil	10	1779 \pm 211	1279 \pm 131*	1029 \pm 186*	1227 \pm 255*	1359 \pm 165*
Cilobradin	7	1618 \pm 258	1362 \pm 229	1094 \pm 117*	1160 \pm 221*	1099 \pm 221*

3.7 Totaler peripherer Widerstand

In der Placebogruppe fiel der totale periphere Widerstand (TPR) nach 60 min Ischämie um 7 % gegenüber Kontrolle. Nach 30 min Reperfusion (R30) sank TPR weiter auf 87 % des Kontrollwertes, allerdings stieg er dann leicht zur späten Reperfusion an (R60), so dass schließlich 90 % der Kontrolle erreicht wurden.

Erwartungsgemäß führte Verapamil zu einer peripheren Vasodilatation: TPR sank um 21% gegenüber Kontrolle. Nach der 60 min Ischämiephase kam es in der Verapamilgruppe zu einem Anstieg von TPR um 8 % gegenüber der Kontrolle. In der frühen Reperusionsphase (R30) fiel zunächst TPR wieder auf 88 %, stieg dann allerdings in der späten Reperusionsphase (R60) wieder an und erlangte 96 % der Kontrolle.

In der Cilobradin- Gruppe war nach 60 min Ischämie ein Abfall von TPR um 10 % zu verzeichnen und er fiel kontinuierlich im Verlauf der Reperusionsphase. Nach 30 min Reperfusion (R30) erreichte er 79 % der Kontrolle, nach 60 min 70 % (R60, Tab. 9).

Tab. 9: Totaler peripherer Widerstand (TPR). Mittelwerte \pm Standardabweichung. R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion.

Substanz	n	TPR [mmHg/l/min]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	$0,30 \pm 0,08$	-	$0,28 \pm 0,07$	$0,26 \pm 0,07$	$0,27 \pm 0,05$
Verapamil	10	$0,24 \pm 0,07$	$0,19 \pm 0,06$	$0,26 \pm 0,1$	$0,21 \pm 0,06$	$0,23 \pm 0,02$
Cilobradin	7	$0,33 \pm 0,05$	$0,30 \pm 0,06$	$0,30 \pm 0,1$	$0,26 \pm 0,08$	$0,23 \pm 0,05$

3.8 Maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit

In der Placebogruppe fiel nach 60 min Ischämie die maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{\min}) signifikant um 33 %, stieg dann allerdings während der Reperfusionphase kontinuierlich an. Nach 30 min Reperfusion (R30) lag dP/dt_{\min} bei 73 % des Kontrollwertes, nach 60 min (R60) bei 76 %. Dennoch waren beide gemessenen Werte signifikant erniedrigt gegenüber der Kontrolle.

Nach der 60 min Ischämie fiel in der Verapamilgruppe dP/dt_{\min} signifikant um 42 %. Es erholte sich während der Reperfusionphase und stieg kontinuierlich an; in der frühen Reperfusion (R30) auf 64 % der Kontrolle und in der späten Reperfusion (R60) auf 73 %. Auch hier waren beide gemessene Werte signifikant erniedrigt gegenüber der Kontrolle.

In der Cilobradin-Gruppe sank dP/dt_{\min} nach der 60 min Ischämie signifikant um 47 %. In der frühen Reperfusion (R30) stieg dP/dt_{\min} auf 67 % der Kontrolle an. Es fiel allerdings in der späten Reperfusion (R60) wieder auf 62 % der Kontrolle ab, welches, gegenüber der Kontrolle, eine signifikante Erniedrigung darstellte (Tab. 8).

Tab. 8: Maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{min}). Mittelwerte \pm Standardabweichung. R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion.

Substanz	n	dP/dt_{min} [mmHg/s]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	-1516 ± 314	-	$-1018 \pm 234^*$	$-1106 \pm 242^*$	$-1150 \pm 230^*$
Verapamil	10	-1440 ± 307	-1053 ± 120	$-840 \pm 159^*$	$-925 \pm 136^*$	$-1057 \pm 126^*$
Cilobradin	7	-1342 ± 325	-998 ± 188	$-716 \pm 109^*$	-904 ± 247	$-829 \pm 163^*$

3.9 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck

In der Placebogruppe stieg der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVP_{min}) nach der 60 min Ischämiephase um 33 % an. Während der Reperfusionphase stieg LVP_{min} kontinuierlich weiter und erreichte 60 min nach Reperfusionbeginn 183 % des Kontrollwertes (R60).

Zunächst stieg auch in der Verapamilgruppe LVP_{min} nach 60 min Ischämie um 25 % gegenüber der Kontrolle an. Allerdings fiel LVP_{min} während der Reperfusionphase kontinuierlich, um 60 min nach Reperfusionbeginn (R60) lediglich 75 % der Kontrolle zu erreichen.

In der Cilobradin-Gruppe stieg LVP_{min} nach der 60 min Ischämie um 67 % an, allerdings fiel der Wert in der frühen Reperfusion (R30) auf 133 %. In der späten Reperfusion (R60) stieg LVP_{min} erneut an und erreichte 150 % der Kontrolle (Tab. 10).

Tab. 10: Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVP_{min}). Mittelwerte \pm Standardabweichung. R30 = 30 min nach Beginn der Reperfusion, R60 = 60 min nach Beginn der Reperfusion.

Substanz	n	LVP_{min} [mmHg]				
		Kontrolle	Substanz	Ischämie	R30	R60
Placebo	8	6 ± 5	-	8 ± 6	10 ± 5	11 ± 6
Verapamil	10	8 ± 3	10 ± 6	10 ± 4	9 ± 4	6 ± 5
Cilobradin	7	6 ± 2	10 ± 4	10 ± 6	8 ± 4	9 ± 4

3.10 Infarktgröße

Die Infarktgröße wurde als prozentueller Anteil der anatomischen „area at risk“ (AAR) angegeben.

Die AAR in der Placebo-Gruppe betrug im Durchschnitt 49 ± 16 % des linken Ventrikels und die Infarktgröße belief sich auf 63 ± 28 % der AAR.

In der Verapamilgruppe betrug die AAR 38 ± 13 % des linken Ventrikels, und die Infarktgröße betrug 37 ± 26 %.

In der Cilobradin-Gruppe betrug die AAR 51 ± 8 % des linken Ventrikels. Durch Cilobradin konnte eine signifikante Reduktion der Infarktgröße auf 24 ± 12 % erreicht werden (Abb. 8).

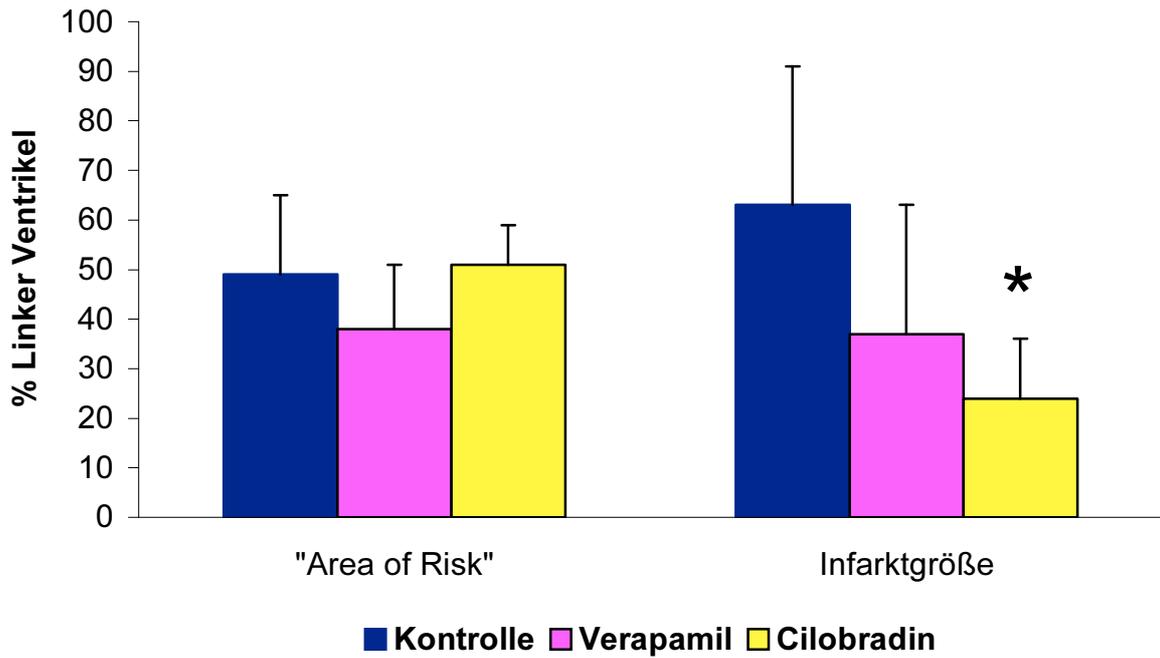


Abb. 8: Area at Risk und Infarktgröße. Mittelwerte \pm Standardabweichung. Die Risikobereiche waren bei den drei Gruppen etwa gleich groß. Bei der Infarktgröße kam es bei der Verapamil-Gruppe zu einer tendentiellen und bei der Cilobradin-Gruppe zu einer signifikanten Verkleinerung; 37 ± 26 bzw. 24 ± 12 %. * = $p < 0,05$ vs Placebo.

4. Diskussion

4.1 Herzfrequenz und Lebenserwartung

Kleinere Säugetiere, z.B. Mäuse, haben bei ihrer hohen Herzfrequenz in Ruhe eine relativ kurze Lebenserwartung. Im Gegensatz dazu haben größere Säugetiere, z.B. Pferde, eine deutlich geringere Herzfrequenz in Ruhe, welche mit einer längeren Lebenserwartung einhergeht. Es scheint unter den meisten Säugetieren eine umgekehrt proportionale Beziehung zwischen Herzfrequenz und Lebenserwartung zu bestehen, die linear verläuft, wenn sie semilogarithmisch aufgetragen wird. Menschen mit einer Herzfrequenz zwischen 60 und 80 /min und einer Lebenserwartung von 80 Jahren bilden bei dieser Beziehung eine Ausnahme. Diese lässt sich möglicherweise durch die Fortschritte in Medizin und Wissenschaft erklären, denn bis ca. 1900 galt auch für den Menschen die Beziehung zwischen Herzfrequenz und Lebenserwartung (Abb. 8) (26, 27).

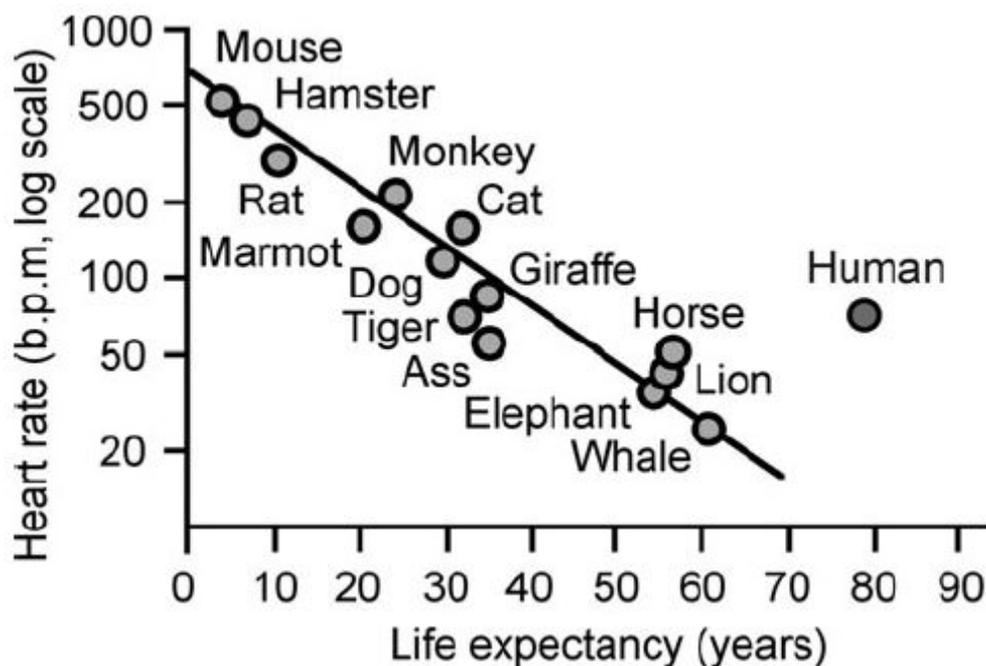


Abb. 8: *Invers-lineare Beziehung zwischen Herzfrequenz (Heart rate) und Lebenserwartung (Life expectancy) in Säugetieren und Menschen (modifiziert nach [114]).*

Es ist bisher nicht geklärt, warum eine geringere Herzfrequenz in Ruhe vorteilhaft ist. Möglicherweise stellt die Herzfrequenz ein Maß für die metabolische Aktivität sowie den energetischen Verbrauch dar. Ein extremes Beispiel für diese Vermutung sind winterschlafende Tiere, bei denen die verringerte metabolische Aktivität von einer reduzierten Körpertemperatur und Herzfrequenz begleitet wird (26, 28, 29).

Die Höhe der Ruheherzfrequenz scheint ein entscheidender Faktor im Hinblick auf die Lebenserwartung zu sein, so dass möglicherweise eine anhaltend höhere Herzfrequenz eine verminderte Lebenserwartung zur Folge hat. Tatsächlich stellten epidemiologische Daten eine Verbindung zwischen persistierender erhöhter Herzfrequenz und plötzlichem Herztod her. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass eine erhöhte Herzfrequenz ein Risikofaktor sowohl für die Gesamtmortalität als auch die kardiovaskulär bedingte Mortalität ist (30-38).

Schließlich gibt es Hinweise, dass eine persistierend höhere Herzfrequenz einen direkten Einfluss auf die Pathogenese der koronaren Atherosklerose hat. Wahrscheinlich ist, dass eine Erhöhung der Herzfrequenz mit einer Zunahme der Scherkräfte am Endothel der Koronargefäße einhergeht. Dies kann eine endotheliale Dysfunktion mit konsekutiver Entstehung oder Progression einer Atherosklerose zur Folge haben (39-42).

4.2 Tachykardien

Wenn das Herz schneller als 90 /min schlägt, spricht man von einer Tachykardie. Die Tachykardie ist eine Reaktion auf verschiedenste physiologische und pathophysiologische Begleitumstände wie z.B. körperliche oder emotionale Belastung und Anämie oder Hypoxie. Hier wäre z.B. die Sinustachykardie zu nennen, die auf eine erhöhte Aktivität des sympathischen Anteils des vegetativen Nervensystems zurückzuführen ist (43).

Das Auslösen einer Tachykardie kann aber auch die unerwünschte Nebenwirkung eines Arzneimittels darstellen (z.B. Theophyllin oder Nifedipin) und limitiert deshalb deren Einsatz im klinischen Alltag. Eine Erhöhung der Herzfrequenz geht zwar mit einer Erhöhung des Herzzeitvolumens einher, dies führt allerdings zu einem parallelen Anstieg des myokardialen Sauerstoffverbrauches und zu einer Abnahme der diastolischen Ventrikelfüllung. Daher werden in der Klinik Substanzen verwendet, die Tachykardien beheben oder verhindern sollen, z.B. β -Adrenorezeptoren-Blocker oder Ca^{2+} -Antagonisten vom Nicht-Dihydropyridin-Typ (44).

Wegen des bei Tachykardien gesteigerten myokardialen Sauerstoffverbrauches ist die koronare Herzkrankheit (KHK) im klinischen Alltag von enormer Bedeutung. Die KHK ist Ausdruck der myokardialen Ischämie, d.h. es besteht ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf des Myokards (45). Wenn man davon ausgeht, dass Wandspannung, kontraktiler Status und Herzfrequenz die wesentlichen Determinanten des myokardialen Sauerstoffbedarfs darstellen (46-49), so wird ersichtlich, dass die pharmakologische Therapie der koronaren Herzkrankheit eine günstige Beeinflussung dieser Parameter zum Ziel hat (43, 50).

4.3 Antitachykarde Substanzen

Zur Behandlung der KHK gibt es zahlreiche, medikamentöse Therapieverfahren. Im klinischen Alltag kommen vor allem Substanzen wie Glyceryltrinitrat (üblicherweise Nitroglycerin genannt), β -Adrenorezeptoren-Blocker und Ca^{2+} -Antagonisten vom Nicht-Dihydropyridin-Typ zum Einsatz (51, 52).

4.3.1 β -Adrenorezeptoren-Blocker

Der Wirkungsmechanismus der β -Adrenorezeptoren-Blocker besteht in einer reversiblen, kompetitiven Hemmung der β -Adrenorezeptoren, d.h. die ähnlich strukturierte Substanz nimmt, auf Grund einer höheren Konzentration, den Platz des Liganden der β -Adrenorezeptoren, z.B. Adrenalin, ein und vermindert so die Wirkung des β -Sympathomimetikums. Die antianginöse Wirkung der β -Sympatholytika bzw. β -Adrenorezeptoren-Blocker wird in erster Linie dadurch erzielt, dass die Herzfrequenz und damit die Herzarbeit verringert wird. Dies führt zu einer Abnahme des myokardialen Sauerstoffverbrauches. Zusätzlich wird der periphere Widerstand vermindert und damit die Druckbelastung des linken Ventrikels herabgesetzt (51).

Der negativ inotrope Effekt erweist sich aus energetischer Sicht zwar als Vorteil, kann sich aber bei vorgeschädigtem Herzen als nachteilig herausstellen (53). Aus diesem Grund ist der frühe Einsatz der β -Adrenorezeptoren-Blocker zur Therapie von tachykarden Rhythmusstörungen nach herzchirurgischen Eingriffen nicht ganz unproblematisch.

4.3.2 Ca^{2+} -Antagonisten

Ca^{2+} -Antagonisten vom Nicht-Dihydropyridin-Typ bewirken über eine Verlängerung der Refraktärzeit am AV-Knoten ebenfalls eine Herzfrequenzsenkung. Des-

weiteren hemmen sie den Einstrom von Ca^{2+} -Ionen aus dem Extrazellulärraum in die Kardiomyozyten und in die glatte Gefäßmuskulatur; d.h. sie sind ebenfalls negativ inotrop. Über die Dilatation der peripheren Gefäße werden Nachlast und Wandspannung und damit auch der myokardiale Sauerstoffverbrauch gesenkt. Die Dilatation der Koronargefäße hat eine Zunahme der Durchblutung zur Folge, welche mit einem erhöhten Sauerstoffangebot einhergeht. Der negativ inotrope Effekt der Ca^{2+} -Antagonisten vom Nicht-Dihydropyridin-Typ kann jedoch im Zusammenhang mit der Nachlastsenkung und der daraus resultierenden verminderten Koronardurchblutung, eine vorbestehende Ischämie verstärken (51, 54).

4.3.3 Spezifisch bradykarde Substanzen

Es wäre ideal, wenn zur Behandlung der koronaren Herzkrankheit oder tachykarder Rhythmusstörungen eine Substanz zur Verfügung stünde, die einerseits über eine Senkung der Herzfrequenz einen verminderten Sauerstoffbedarf und andererseits über die Verlängerung der Diastolendauer eine verbesserte Koronarperfusion mit erhöhtem Sauerstoffangebot zur Folge hätte. Die Substanz sollte keine positiv oder negativ inotrope Eigenschaften haben, um den myokardialen Sauerstoffverbrauch nicht zu steigern bzw. die systolische Ventrikelfunktion nicht zu verschlechtern (55).

Der Einsatz sogenannter spezifisch oder selektiv bradykarder Substanzen (SBS) wie Cilobradin (DK-AH 269) wäre also ein Fortschritt, wenn diese eine Reduktion der Herzfrequenz hervorrufen, ohne nennenswerte negativ inotrope Wirkung zu entfalten (56). Diese Substanzen könnten sich aus energetischer Sicht bei vielen Herzerkrankungen als günstig erweisen (57). Außerdem könnten sie ungewollte Tachykardien sowohl in der frühen postoperativen Phase als auch

während Off-Pump Coronary Artery Bypass-Eingriffen verhindern und somit eine bessere Durchführbarkeit gewährleisten (58). Desweiteren ist bekannt, dass diese Substanzen die Herzfrequenzvariabilität verbessert. Diese Größe gilt zurzeit als einer der besten Prädiktoren für den fatalen Ausgang eines Herzversagens oder eines Myokardinfarktes (59).

4.4 Eigene Ergebnisse

In diesem experimentellem Modell konnte gezeigt werden, dass der spezifische Sinusknoteninhibitor Cilobradin zu einer Reduktion der Herzfrequenz führt, ohne die ventrikulären Funktion nennenswert einzuschränken. Verapamil wies keinen ähnlich günstigen Effekt bezüglich der Herzfrequenz auf, schränkte allerdings in der verwendeten Konzentration bereits die ventrikuläre Funktion ein. Beide Substanzen reduzierten die Infarktgröße im Vergleich zur Placebogruppe: jedoch war eine Reduktion lediglich in der Cilobradin- Gruppe statistisch signifikant.

4.4.1 Herzfrequenz

Tachykardien können bei KHK-Patienten eine myokardiale Ischämie induzieren. Im Umkehrschluss könnte sich eine Reduktion der Herzfrequenz als vorteilhaft erweisen (60).

Die Senkung der Herzfrequenz ist die am einheitlichsten beurteilte und dokumentierte Wirkung der spezifisch bradykarden Substanzen. Das Ausmaß der Bradykardie, welche durch Cilobradin (DK-AH 269) hervorgerufen wird, ist Dosis-abhängig (46). In unseren Versuchen wurden Dosen verabreicht, die die Herzfrequenz deutlich senken sollten: Nach Substanzgabe war sie signifikant um 28 % gesunken. Nach der Ischämie- und während der Reperfusion kam es zu einem

langsamen Frequenzanstieg, allerdings lag 60 min nach Reperfusionbeginn die Herzfrequenz immer noch 15 % unter dem Ausgangswert.

Die Abnahme der Herzfrequenz, welche in diesen Versuchen erzielt wurde, bewegt sich in einer Größenordnung, die mit den Ergebnissen anderer Tiermodelle und bradykarder Substanzen wie Zatebradin (61-63) oder Alinidin korreliert (64-66). Im Gegensatz dazu zeigte sich beim Menschen eine geringere Herzfrequenz-Abnahme durch bradykarde Substanzen. Sie schwankt zwischen 12 % und 19 % (67, 68). Diese Ergebnisse bewegen sich in einem Rahmen, die auch durch β -Adrenorezeptoren-Blocker erzielt wurden (69, 70).

Die bradykarde Wirkung von Cilobradin wurde bisher nicht in klinischen Studien erprobt. Es wäre jedoch durchaus denkbar und sinnvoll die Substanz z.B. bei ungewollten Tachykardien in der postoperativen Phase nach herzchirurgischen Eingriffen einzusetzen. So wurde mit einer bereits bekannten bradykarden Substanz in einer Doppelblindstudie (Alinidin vs. Placebo) ein therapeutischer Nutzen bei Sinustachykardien nachgewiesen, ohne dass es zu einer Beeinträchtigung der Herzfunktion kam (67). Desweiteren würde die bradykarde Wirkung von Cilobradin in der Akutphase eines Herzinfarktes vorteilhaft sein. In einer klinischen Arbeit führte nämlich eine Reduktion der Herzfrequenz um 15 /min zu einer Verringerung der Infarktgröße zwischen 25 und 30 % (71).

Unser Versuch schlug fehl, an narkotisierten Kaninchen eine Bradykardie durch Verapamil auszulösen. Die erforderliche Dosis, wie sie bei Versuchen an isolierten Herzen verabreicht wurde, schränkte die ventrikuläre Funktion soweit ein, dass 4 Tiere während der Ischämie verstarben. Demzufolge waren die tolerablen Dosen, die verabreicht wurden, zwar in der Lage, während der Kontrolle und nach der Ischämie die Herzfrequenz zu senken, doch lediglich um 3 % bzw. 4 %. Es kam

jedoch während der Reperfusion zu einem stetigen Anstieg der Herzfrequenz. Nach 30 min Reperfusion war eine Zunahme gegenüber der Ischämiephase um 10 % zu vermerken, und nach 60 min Reperfusion sogar um 14 %.

Der Anstieg der Herzfrequenz während des Protokolls ist in allen drei Gruppen festzustellen. Dies ist vielleicht auf eine vermehrte Katecholaminausschüttung zurückzuführen, die eine physiologische Antwort, auf eine ischämiebedingte Reduktion der Herzleistung, darstellt. In der Cilobradin – und Verapamil-Gruppe spielt vielleicht noch eine abnehmende pharmakologischen Aktivität der Substanzen eine Rolle.

4.2.2 Kraft-Frequenz-Beziehung

Um die Frage zu beantworten, ob bradykarde Substanzen *per se* einen negativ inotropen Effekt ausüben, muss die Kraft-Frequenz-Beziehung in Betracht gezogen werden (72). 1871 beobachtete der Amerikanische Physiologe Bowditch, dass eine Verkürzung der Intervalle zwischen den einzelnen Herzschlägen zu einer graduellen Zunahme der Kontraktionskraft führt. Wird die Frequenz der elektrischen Stimulation am Herzen erhöht, dann erfolgt zunächst eine schwächere Kontraktion. Bei folgenden Kontraktionen nimmt jedoch die Kraft kontinuierlich zu, bis ein neuer „*steady state*“ erreicht wird. Da dieses Muster einer Treppe ähnelt, wird die Kraft-Frequenz-Beziehung auch als *Treppenphänomen* oder, nach dem Entdecker, als *Bowditch-Effekt* bezeichnet. Umgekehrt funktioniert das Prinzip natürlich auch, d.h. nimmt die Stimulationsfrequenz ab, erfolgt zunächst eine stärkere Kontraktion, und danach kommt es kommt zu einer treppenförmigen Abnahme der Kontraktionskraft (73).

Im gesunden Myokard führt diese Eigenschaft zu einer Steigerung der Kontraktionskraft bei Zunahme der Herzfrequenz zwischen 60 /min und 180 /min (Frequenz-Inotropie). Dies wird als positive Kraft-Frequenz-Beziehung bezeichnet. Überschreitet die Herzfrequenz 180 /min, dann nimmt die Kontraktionskraft wieder ab (74).

Die Kraft-Frequenz-Beziehung ist auf eine vermehrte Ca^{2+} -Speicherung im Sarkoplasmatischen Retikulum (SR) der Kardiomyozyten zurück zu führen. Durch Verkürzung der Diastolendauer kommt es: 1) zur verminderten Ca^{2+} -Elimination aus dem Zytosol und 2) zu einer reduzierten Aktivität des $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers. Dies ist wiederum durch eine erhöhte Aktionspotentialfrequenz bedingt, welche die intrazelluläre Na^+ -Konzentration ansteigen lässt und somit die Aktivität des $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers herabsetzt. Als Folge davon wird weniger Kalzium aus der Zelle transportiert. Das dadurch erhöhte intrazelluläre Ca^{2+} -Angebot sorgt für eine Kraftzunahme der folgenden Kontraktionen (75).

Daher ist in unseren Versuchen die Reduktion der systolischen Funktion durch Cilobradin vermutlich auf die Kraft-Frequenz-Beziehung zurückzuführen und nicht auf einen direkten negativ inotropen Effekt. Es gilt als weitestgehend gesichert, dass bradykarde Substanzen keinen negativ inotropen Effekt *per se* ausüben (46, 47, 72, 76). Ca^{2+} -Antagonisten vom Nicht-Dihydropyridin-Typ wie Verapamil sind dagegen negativ inotrop, weil sie den Ca^{2+} -Einwärtsstrom in die Kardiomyozyten während der Dauer des Aktionspotentials hemmen. Zusätzlich reduzieren sie über einen negativ dromotropen Effekt die systolische Funktion wegen der negativen Kraft-Frequenz-Beziehung.

Im Falle des insuffizienten Myokards wird die Kraft-Frequenz-Beziehung negativ, d.h. die Zunahme der Herzfrequenz führt zu einer Verschlechterung der

systolischen Funktion (77). Dies ist wahrscheinlich darauf zurück zu führen, dass der Ca^{2+} -Einstrom ins Sarkoplasmatische Retikulum vermindert ist, und dass der $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher eine erhöhte Aktivität aufweist. Dies führt zu einem verminderten Ca^{2+} -Angebot im Kardiomyozyten mit konsekutiv verminderter Kontraktilität (78). Desweiteren wird in diesem Zusammenhang eine Kernhypoxie des Kardiomyozyten diskutiert, welche bei Überschreiten eines bestimmten Myozytendurchmessers eintreten könnte (79).

Somit könnte sich die systolische Funktion im insuffizienten Myokard durch die Gabe einer spezifisch bradykarden Substanz verbessern. Bei Patienten mit moderater oder schwerer Herzinsuffizienz zeigte sich, dass niedrig dosierte Gaben von Ca^{2+} -Antagonisten den Zustand verschlimmern können (80), so dass die Kraft-Frequenz-Beziehung bei Ca^{2+} -Antagonisten keine signifikante Rolle zu spielen scheint, aber möglicherweise bei spezifisch bradykarden Substanzen.

Für die alleinige Reduktion der Herzfrequenz wären spezifisch bradykarde Substanzen nicht erforderlich, wenn Substanzen wie β -Adrenorezeptoren-Blocker oder Ca^{2+} -Antagonisten vom Nicht-Dihydropyridin-Typ als Nebenwirkung keinen negativ inotropen Effekt ausüben würden (51, 53, 81).

4.4.3 Systolische Funktion

In unserem Versuchsmodell wurde die systolische Funktion anhand folgender Parameter beschrieben: Aortenfluss (AoF), Schlagvolumen (SV), linksventrikulärer Spitzendruck (LVP_{max}) und max. LV Druckanstiegsgeschwindigkeit ($\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$). Sowohl die Gabe von Cilobradin als auch von Verapamil führte zu einer Einschränkung der systolischen Funktion.

4.4.3.1 Aortenfluss und Schlagvolumen

Die Reduktion der Herzfrequenz wird von einer Abnahme des Aortenflusses begleitet, da eine kompensatorische Zunahme des Schlagvolumens nur innerhalb bestimmter Grenzen möglich ist (82). In wie weit der Abfall des Aortenflusses durch eine Zunahme des Schlagvolumens kompensieren werden kann, hängt weiterhin von der Myokardperfusion ab. Unter ischämischen Bedingungen spielt das Ausmaß der Ischämie eine Rolle, da bei einem größeren Infarkt das Schlagvolumen weniger zunimmt als einem kleineren (83).

Dies korreliert mit unseren Ergebnissen aus der Cilobradin- und Verapamil-Gruppe. In der Cilobradin-Gruppe fiel die Herzfrequenz nach Substanzgabe signifikant um 28 %. Die kompensatorische Zunahme des Schlagvolumens um 33 % reichte nicht aus, um den Aortenfluss auf dem Ausgangsniveau zu halten; er sank um 7 %. Nach der Ischämie fiel das Schlagvolumen um 45 und somit sank auch der Aortenfluss um 35 %, da die Kompensationsmöglichkeit über einen Anstieg der Herzfrequenz eingeschränkt war. Während der Reperfusion kam es zu keiner nennenswerten Verbesserung der systolischen Funktion. Das Schlagvolumen blieb sowohl 30 min als auch 60 min nach Reperfusionbeginn konstant auf dem Niveau, welches es nach Induktion der Ischämie erreicht hatte, d.h. 91 % der Kontrolle.

In der Verapamil-Gruppe fiel die Herzfrequenz nach Substanzgabe lediglich um 3 %. Auch hier kam es zu einer Erhöhung des Schlagvolumens (6 %), so daß der Aortenfluss um 4 % zunahm. Nach Induktion der Ischämie kam es allerdings zu einem deutlichen Abfall des Schlagvolumens um 42 %, der auch mit einem Abfall des Aortenflusses einherging (47%), da die Herzfrequenz nahezu konstant blieb.

Im Vergleich zur Placebo-Gruppe konnte keine der beiden Substanzen den Aortenfluß nach der Ischämie und während der Reperfusion nennenswert ver-

bessern, so dass die unbehandelten, im Gegensatz zu den behandelten Herzen am Ende der Reperfusion einen etwas erhöhten Aortenfluß aufwiesen: die Verminderung gegenüber Kontrolle betrug 13% gegenüber 19 und 20%. (s. Tab.2) .

4.4.3.2 LV Spitzendruck und maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit

Der LV Spitzendruck (LVP_{max}) und die maximale LV Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) -unser Maß für den kontraktilen Status- verhielten sich in unseren Versuchen relativ ähnlich.

In der Verapamil-Gruppe fiel nach Substanzgabe LVP_{max} und dP/dt_{max} mit 17 % bzw. 18 % deutlicher als in der Cilobradin-Gruppe mit 9 % bzw. 16 %. Allerdings stiegen beide Variablen in der Verapamil-Gruppe während der Reperfusion kontinuierlich an und erreichten nach 60 min 79 % bzw. 76 % der Kontrollwerte. In der Cilobradin-Gruppe kam es zu keiner nennenswerten Verbesserung von LVP_{max} und dP/dt_{max} .

Ähnlich wie bei dem Aortenfluß zeigten sich auch bei diesen systolischen Größen Anzeichen des myokardialen Stunning (84), d.h. die ventrikuläre Funktion war in der postischämischen Reperfusion gegenüber Kontrolle verschlechtert, obwohl die Koronarperfusion normalisiert war.

Um ischämisches Myokard zu retten, muß die Koronarperfusion wieder hergestellt werden. Die Reperfusion eines ischämischen Areal kann jedoch in einer paradoxen myokardialen Dysfunktion münden, die als „Reperfusionsschaden“ bezeichnet wird. Das Myokard kann kurze Ischämiephasen (bis zu 15 min) schwerer bis totaler Ischämie ohne Zelltod tolerieren. In diesem Zeitfenster bleiben die Schädigungen reversibel. Klinische Beispiele transienter myokardialer Ischämie ohne Zelltod sind z.B. Angina pectoris, Koronarvasospasmus aber auch PTCA (Perkutane

Transluminale Coronar Angioplastie) (104, 105). Mit Zunahme und Schwere des ischämischen Stresses kann es allerdings zu einem größeren myokardialen Schaden kommen. Das Spektrum von Reperfusion-assoziierten Pathologien wird als „Reperfusionsschaden“ bezeichnet. Er ist zu trennen von einem Schaden, welcher während der Ischämie entstehen kann. Zu diesen Schädigungen gehört z.B. die intrazelluläre Calcium-Überladung. Zu Beginn der Reperfusion nach einer Ischämie ist die ventrikuläre Funktion eingeschränkt: myokardiales Stunning (stunned = benommen). Das Myokardiale Stunning ist gut untersucht (108, 109). Es wird definiert als: „eine postischämische kontraktile Dysfunktion, die nach Wiederherstellung der Perfusion, trotz fehlender irreversibler Zellschädigung und normalen koronaren Blutflusses, persistiert“ (110).

In späteren Studien wurde nachgewiesen, daß nicht nur die Kardiomyozyten gestunned sind, sondern auch das Gefäßsystem (= mikrovaskuläres Stunning; 106), das Nervensystem (= neuronales Stunning; 107) und der Stoffwechsel (= metabolisches Stunning; 112, 113). Auch andere Mechanismen können die postischämische Dysfunktion beeinflussen. So induziert z.B. die Kardioplegie während herzchirurgischer Eingriffe einen anaeroben, laktaziden myokardialen Metabolismus. Die Laktatproduktion persistiert während der Reperfusion, welches auf eine verzögerte Erholung des normalen aeroben Stoffwechsels schließen läßt (111).

4.5 Diastolische Funktion

Bradykarde Substanzen haben keinen größeren Effekt auf die Dauer der Systole, verlängern jedoch die Diastolendauer (99). Der mögliche Nutzen der bradykarden Substanzen für Patienten mit koronarer Herzerkrankung wurde vor allem dadurch belegt, dass die regionale Myokarddurchblutung und damit die Pumpfunktion des Herzens verbessert wurde (57).

Die diastolische Relaxation kann durch die maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{\min}) als Variable der frühen Relaxation und durch den linksventrikulären enddiastolische Druck (LVP_{\min}) als Variable der späten Relaxation beschrieben werden (85, 86).

DP/dt_{\max} ist eine frequenzabhängige Größe (87, 88), und es ist sehr wahrscheinlich, dass es sich mit dP/dt_{\min} genauso verhält. Damit ist das eingeschränkte dP/dt_{\min} nach Cilobradin wahrscheinlich auf die Reduktion der Herzfrequenz zurückzuführen. Voraussichtlich besteht also kein direkter Einfluss auf die frühe Relaxation.

Sowohl in der Placebo- als auch in der Verapamil-Gruppe zeigt sich eine kontinuierliche Erholung von dP/dt_{\min} , so dass 76 % bzw. 73 % der Kontrolle nach 60 min Reperfusion erreicht wurden. Dagegen fällt dP/dt_{\min} in der Cilobradin-Gruppe, nach anfänglicher Erholung, während der Reperfusion und sinkt letztlich auf 62 % der Kontrolle ab. Die frühe Relaxation verbessert sich somit nicht. Dieser kontroverse Befund ist teilweise durch die wesentlich niedrigere Herzfrequenz in der Cilobradin-Gruppe, im Vergleich zur Verapamil- und Placebogruppe, zu erklären, denn am Ende der Reperfusion war die Herzfrequenz in der Cilobradin-Gruppe gegenüber Kontrolle immer noch erniedrigt (13 %), während sie in beiden anderen Gruppen gegenüber Kontrolle erhöht war.

Ein weiterer interessanter Befund ist das Verhalten des linksventrikulären enddiastolischen Druckes (LVP_{\min}), welcher die späte Relaxation widerspiegelt. Es zeigt sich, dass LVP_{\min} nach Verabreichung von Verapamil um 25 % anstieg und nach Cilobradin-Gabe sogar um 67 %. Obwohl bradykarde Substanzen nicht unbedingt LVP_{\min} steigern (89), ist der Befund in Übereinstimmung mit anderen Studien (82). Dies ist wahrscheinlich auf die verlängerte Diastole zurückzuführen, welche ihrerseits eine bessere diastolische Füllung zur Folge hat (90).

Es zeigt sich in den behandelten Gruppen, dass im Verlauf der Reperfusionsphase LVP_{\min} , mit Anstieg der Herzfrequenz, kontinuierlich abfiel. Dies ist in Übereinstimmung mit einer verkürzten Diastolendauer und einer verminderten diastolischen Füllung.

4.6 Periphere Vasomotion

Der totale periphere Widerstand (TPR), eine Komponente der Nachlast, ist in beiden behandelten Gruppen nach Substanzgabe gesunken, in der Verapamil-Gruppe um 21 % und in der Cilobradin-Gruppe um 9 % gegenüber der Kontrolle. In der Verapamil-Gruppe ist dies höchstwahrscheinlich durch den direkten vasodilatierenden Effekt des Pharmakons auf die glatte Gefäßmuskulatur zu erklären. TPR nahm in der Ischämie- und Reperfusionsphase wieder zu und erreichte letztlich 96 % der Kontrolle.

In der Cilobradin-Gruppe kam es in der Reperfusionsphase zu einer weiteren Abnahme von TPR auf letztlich 70 % der Kontrolle. Dies könnte auf einem Feedback-

Mechanismus beruhen, im Sinne einer negativen Rückkopplung, da parallel dazu HF und AoF anstiegen.

Obwohl die pharmakologische Wirkung von Cilobradin auf das kardiovaskuläre System *in vivo* nicht ausreichend bekannt ist, zeigen die meisten bradykarden Substanzen keine Wirkung bezüglich des Blutdruckes oder TPR (91, 92, 102, 103). Dennoch kommt es nach Zatebradin in Versuchen an Hunden zu einer Abnahme des arteriellen Blutdruckes (93). Diese Abnahme ist wohl auf eine Aktivierung der Kalziumkanäle zurückzuführen, bedingt durch die Gabe von hohen Dosen (94).

Dass Cilobradin einen ähnlichen Einfluß in unseren Untersuchungen hatte, kann nicht ganz ausgeschlossen werden. Dies bedürfte allerdings weiterer Untersuchungen.

4.7 Infarktgröße

Die mechanische Herzkontraktion erfordert den Großteil der in der Herzmuskelzelle bereitgestellten Energie. Rund 75 % der Energie werden ausschließlich von der Actomyosin-ATPase verbraucht. Der verbleibende Anteil wird zur Aufrechterhaltung der Ionengradienten und zur Strukturhaltung der Zelle benötigt (95). Die Energie wird in Form von Adenosintriphosphat (ATP) transferiert. In Ruhe werden mehr als 90 % des ATP durch die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien und nur ein geringer Teil durch anaerobe Glykolyse generiert. Der normale ATP-Gehalt der Myokardzelle (4-6 $\mu\text{mol/g}$ Gewebe) reicht jedoch nur für wenige Herzschläge, so dass ein kontinuierliches und ausreichendes Sauerstoff- und Substratangebot unerlässlich ist (96).

Die myokardiale Durchblutung beträgt unter Ruhebedingungen im Mittel 0,7 – 0,8 ml/min/g Gewebe bei einem mittleren arteriellen Sauerstoffgehalt von 0,2 ml O₂/ml Blut. Da der myokardiale Sauerstoffverbrauch mit ca. 0,1 ml O₂/min/g Gewebe eine Sauerstoffextraktion von 65 % – 75 % erfordert, kann das Herz unter Belastung seinen erhöhten Bedarf fast ausschließlich durch eine Steigerung der Koronarperfusion erreichen. Diese kann auf das 4 bis 5-fache ansteigen; sog. Koronarreserve (97).

Da Herzfrequenz und myokardialer Sauerstoffverbrauch fast linear korrelieren, spielt die Reduktion der Herzfrequenz eine entscheidende Rolle in der Reduzierung der Infarktgröße in den behandelten Gruppen. Dieser Effekt ist in der Cilobradin-Gruppe am deutlichsten. In dieser Gruppe betrug daher die Infarktgröße nur 24 % der „area at risk“. Im Vergleich dazu lag in der Verapamil- und in der Placebo-Gruppe die Infarktgröße bei 37 % bzw. 63 %.

Es existieren bis jetzt keine Ergebnisse bezüglich einer Reduktion der Infarktgröße durch Cilobradin. Im Gegensatz dazu wurde mit Zatebradin in Untersuchungen an narkotisierten Schweinen eine Reduktion der Infarktgröße im selben Ausmaß wie mit einem β -Adrenorezeptoren-Blocker (= Atenolol) erzielt (98).

Es liegt also nahe, dass Cilobradin einen günstigen Effekt auf Energie- und Sauerstoffhaushalt des Myokards hat und durch die Herzfrequenzreduktion kardioprotektiv wirkt.

4.8 Zusammenfassung und Schlußfolgerung

Der I_f -Kanal induziert in den Schrittmacherzellen des Sinusknotens einen sog. *Schrittmacherstrom*. Dieser Kanal ist somit entscheidend für die Regulation und Modulation der Herzfrequenz. In der vorliegenden Arbeit sollte die Auswirkung einer Herzfrequenzreduktion auf die Funktion postischämischen Myokards und die Infarktgröße, nach Gabe eines I_f -Kanal Blockers (= Cilobradin) bzw. eines Ca^{2+} -Antagonisten vom Nicht-Dihydropyridin-Typ (= Verapamil), untersucht werden.

Cilobradin führte zu einer signifikanten Reduktion der Herzfrequenz (28 %), ohne die ventrikuläre Funktion nennenswert einzuschränken. Verapamil zeigte einen deutlichen, negativen inotropen Effekt, der bei Cilobradin *per se* nicht vorzufinden war. In einer Dosierung, die eine deutliche Senkung der Herzfrequenz herbeigeführt hätte, war die ventrikuläre Funktion nach Verapamil umfangreich verschlechtert. Nachdem 4 Versuchstiere deswegen verstorben waren, wurde daher eine niedrigere Verapamil-Dosierung gewählt, die die systolische Funktion moderat verschlechterte und eine periphere Vasodilatation auslöste.

Die Frage bleibt, ob Cilobradin eine protektive Wirkung auf ischämisches und postischämisches Myokard hat. Auf den ersten Blick schien Cilobradin keine Verbesserung der myokardialen Pumpfunktion während Ischämie oder Reperfusion zu zeigen, aber es reduzierte die Infarktgröße. Man kann sich vorstellen, daß über einen längeren Beobachtungszeitraum, Herzen mit kleineren Infarkten eine bessere Prognose haben als Herzen mit größeren. Die vorteilhafte Wirkung von Cilobradin korreliert sehr wahrscheinlich mit der Reduktion der Herzfrequenz, die eine wichtige Komponente des myokardialen Sauerstoffbedarfs ist.

Aus unseren Ergebnissen lässt sich schlußfolgern, dass der I_f -Kanalblocker Cilobradin (DK-AH 269) auf Grund der beschriebenen Eigenschaften für die

Behandlung von unerwünschten Tachykardien (z.B. nach herzchirurgischen Eingriffen), zur Induktion einer Bradykardie während „OPCAB“-Eingriffen, sowie für die Therapie der koronaren Herzkrankheit und der Herzinsuffizienz von Nutzen sein könnte.

Durch seine antiischämischen Eigenschaften könnte Cilobradin bei Patienten eingesetzt werden, die Kontraindikationen gegen β -Adrenorezeptoren-Blocker aufweisen z.B.: schwere ventrikuläre Dysfunktion, periphere arterielle Verschlusskrankheit und Asthma bronchiale. Weiterhin könnte die Gabe einer spezifisch bradykarden Substanz wie Cilobradin zusätzlich zu einer Therapie mit einem β -Adrenorezeptoren-Blocker deren Nebenwirkungen reduzieren. Untersuchungen diesbezüglich liegen zur Zeit noch nicht vor.

Unter Umständen könnte eine Reduktion der Herzfrequenz auch mit einer Zunahme der Lebenserwartung einhergehen. Ergebnisse aus epidemiologischen Untersuchungen zeigen, dass eine höhere Herzfrequenz einen unabhängigen Risikofaktor für plötzlichen Herztod und Gesamtmortalität darstellt. Diese Beobachtungen beziehen sich auf Menschen mit bekannter koronarer Herzkrankheit, aber auch auf asymptomatische Menschen und eventuell auch auf die Gesamtbevölkerung.

Bezüglich der Medikamentenverträglichkeit wäre zu erwähnen: I_f -Kanal Blocker können in unterschiedlichem Maße visuelle Symptome auslösen. Bei den Symptomen handelte es sich meist um Phosphene, d.h. begrenzt umschriebene Aufhellungen im Gesichtsfeld. In einer Studie mit dem Cilobradin-Analogen Ivabradin, wurden die Symptome von den Patienten als mild bezeichnet. Lediglich 1 % der Patienten brach die Studie deswegen ab. Andererseits waren die Symptome nach Absetzen der Substanz reversibel, und in Langzeituntersuchungen mit Ivabradin sind keine toxischen Wirkungen am Auge nachgewiesen worden.

Die Herzfrequenzreduktion durch spezifisch bradykarde Substanzen wie Cilobradin scheint eine vielversprechende Therapieoption zu sein, um die Morbidität und Mortalität in einem weiten Spektrum kardiovaskulärer Erkrankungen zu senken.

Als erste spezifisch bradykarde Substanz wurde Ivabradin (Procoralan®) am 25. Oktober 2005 von der europäischen Arzneimittelbehörde zugelassen. Es ist bei Patienten mit chronisch stabiler Angina pectoris indiziert, die eine Kontraindikation oder Unverträglichkeit für β -Adrenorezeptoren-Blocker aufweisen.

5. Literatur

1. Frishman WH, Pepine CJ, Weiss RJ, Baiker WM Addition of zatebradine, a direct sinus node inhibitor, provides no greater exercise tolerance benefit in patients with angina taking extended-release nifedipine: Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group study. *JACC* 1995;26:305-312
2. Kraye O. Veratramine, an antagonist to the cardio-accelerator action of epinephrine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;70:631-8.
3. Oexle B, Weirich J, Antoni H. Electrophysiological profile of tedisamil, a new bradycardic agent. *J Mol Cell Cardiol* 1987;19, suppl. 3:194-5.
4. Freestone B, Lip GY. Tedisamil: a new novel antiarrhythmic. *Expert Opin Investig Drugs* 2004 Feb;13(2):151-60.
5. Singh S Trials of new antiarrhythmic drugs for maintenance of sinus rhythm in patients with atrial fibrillation. *J Interv Card Electrophysiol* 2004;10 Suppl 1:71-76.
6. Dämmgen J, Kadatz R, Diederer W Cardiovascular action of 5,6 dimethoxy-2-3 alpha-(3, 4-dimethoxy)-phenylethyl-(methylaminopropyl)phtalimidine (AQ-A 39) a specific bradycardic agent. *Arzneim Forsch (Drug Research)* 1981; 31: 666-670
7. Stahle H, Daniel H, Kobinger W, Lillie C, Pichler L Chemistry, pharmacology, and structure-activity relationships with a new type of imidazolines exerting a specific bradycardic action at a cardiac site. *J Med Chem* 1980 Nov;23(11):1217-22
8. Kobinger W Specific bradycardic agents, a new approach to therapy in angina pectoris? *Prog Pharmacol* 1985; 5(3):89-100

9. Kobinger W, Lillie C, Pichler L N-Allyl-derivate of clonidine, a substance with specific bradycardic action at a cardiac site. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1979; 306:255-262
10. Simoons ML, Tummers J, Meurs-van Wozzik H, van Domburg H Alinidine, a new agent which lowers heart rate in patients with angina pectoris. *Eur Heart J* 1982; 3:342-345
11. Kobinger W, Lillie C Cardiovascular characterization of UL-FS 49, a new bradycardic agent *Eur J Pharmacol* 1984; 104:9-18
12. Guth BD, Dietze T Acute hemodynamic effects of DK-AH 269 Cl in the anaesthetized pig with or without atrial pacing. 1992a; Personal communication
13. Guth BD, Dilger B Effect of DK-AH 3 Cl and its stereoisomers DK-AH 269 Cl and DK-AH 268 Cl on spontaneous beating rate and force of contraction in isolated guinea pig atria. 1992b; Personal communication
14. DiFrancesco D Pacemaker mechanisms in cardiac tissue. *Ann Rev Physiol* 1993; 55:451-467
15. Pape HC Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Ann Rev Physiol* 1996; 58:299-327
16. Brown HF, DiFrancesco D, Noble SJ How does adrenaline accelerate the heart? *Nature* 1979; 280: 235-236
17. DiFrancesco D A study on the ionic nature of the pacemaker current in calf Purkinje fibers. *J Physiol* 1981; 314: 359-376
18. Jan LY, Jan YN Cloned potassium channels from eukaryotes and prokaryotes. *Ann Rev Neurosci* 1997; 20:91-123

19. Zagotta WN, Olivier NB, Black KD, Young EC, Olson R, Gouaux E Structural basis for modulation and agonist specificity of HCN pacemaker channels. *Nature* 2003; 425:200-205
20. Moroni A, Gorza M, Beltrame M Hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated channel 1 is a molecular determinant of the cardiac pacemaker current I_f . *J Biol Chem* 2001, 276: 29233-29241
21. Singh B Morbidity and Mortality in cardiovascular disorders: Impact of reduced heart rate. *J Cardiovasc Pharmacol Therapeut* 2001; 6(4): 313-331
22. Raes A, Goethals M, Snoeck J, van Bogaert P The sinus node inhibitor DK-AH 269 has little effect on the L-type calcium current. *European Congress on Pacing and Electrophysiology, Oostende 1992*
23. Stieber J, Wieland K, Stöckl G, Ludwig A, Hofmann F Bradycardic and proarrhythmic properties of sinus node inhibitors. *Mol Pharmacol.* 2006 Apr;69(4):1328-37
24. van Bogaert PP, Pittoors F Use-dependent blockade of cardiac pacemaker current (I_f) by cilobradine and zatebradine. *Eur J Pharm* 478 (2003); 161-171
25. DiFrancesco D Generation and control of cardiac pacing. *Trends Cardiovasc Med* 1991; 1: 250-255
26. Schipke JD, Büter I, Hohlfeld T, Schmitz-Spanke S, Gams E Selektive I_f -Kanal-Hemmung: eine Alternative in der Behandlung der koronaren Herzkrankheit? *Herz* 2006;31:55–74
27. Levine HJ. Rest heart rate and life expectancy. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:1104–6.
28. Boraso A Why is reduced heart rate beneficial. *Dialogues in Cardiovascular Medicine* 2001; 6: 6091-6099

29. Schmidt-Nielsen K *Animal Physiology: Adaptation and Environment*. New York: Cambridge University Press 1975, p. 133
30. Dyer A, Perski V, Stamler J, Paul O, Shekelle RB Heart rate as a prognostic factor for coronary heart disease and mortality: Findings in three Chicago epidemiologic studies. *Am J Epidemiol* 1980; 12: 736-749
31. Wilhelmsen L, Berglund G, Elmfeldt D, Tibblin G, Wedel H The multifactor primary prevention trial Göteborg, Sweden. *Eur Heart J* 1986; 7: 279-288
32. Kannel W, Wilson P, Blaire S Epidemiologic assessment of the role of physical activity and fitness in development of cardiovascular disease. The Framingham study. *Am Heart J* 1985; 109: 876-885
33. Kannel W, Kannel C, Paffenbarger R, Cupples A Heart Rate and cardiovascular mortality: The Framingham study. *Am Heart J* 1987; 113: 1489-1494
34. Gillum R The epidemiology of resting heart rate in a national sample of men and women: Association with hypertension, coronary heart disease, blood pressure and other cardiovascular risk factors. *Am Heart J* 1988; 116: 163-174
35. Gillum R, Makuc D, Feldman J Pulse rate, coronary heart disease and death: The NHANES I epidemiologic follow up study. *Am Heart J* 1991; 121: 172-177
36. Gillman M, Kannel W, Belanger A, D'Agostino R Influence of heart rate on mortality among persons with hypertension: The Framingham study. *Am Heart J* 1993; 125: 1148-1154
37. Castelli WP, Levy D, Wilson PWF, Kannel W Sudden death: The view from Framingham. In Kostis JB, Sanders M. *The prevention of Sudden Death*, E Wiley-Liss, New York 1990, pp 1-8

38. Goldberg R, Larson M, Levy D Factors associated with survival to 75 years of age in middle aged men and women: The Framingham study. *Arch Intern Med* 1996; 156: 505-509
39. Beere P, Glagov S, Zarins C Retarding effect of lowered heart rate on coronary atherosclerosis. *Science* 1984; 226: 180-182
40. Kaplan J, Manuck S, Adams M Propranolol inhibits coronary atherosclerosis in behaviourally predisposed monkeys fed with atherogenic diet. *Circulation* 1987; 761: 1364-1372
41. Perski A, Hamsten A, Lindvall K, Theorell T Heart rate correlates with severity of coronary atherosclerosis in young postinfarction patients. *Am Heart J* 1988; 116: 1369-1373
42. Perski A, Ollison G, Landau C Minimum heart rate and coronary atherosclerosis: Independent relations to global severity and rate of progression of angiographic lesions in men with myocardial infarction at a young age. *Am Heart J* 1992; 123: 6091-6099
43. Braunwald E Control of myocardial oxygen consumption. *Am J Cardiol* 1971; 27: 416-432
44. Breall JA, Watanabe J, Grossmann W Effect of zatebradin on contractility, relaxation and coronary blood flow. *JACC* 1993; 21:471-477
45. Büchner F Über Angina Pectoris. *Klin Wochenschr* 1932; 42: 1737-1739
46. Granetzny A, Schwanke U, Schmitz C Effect of a new bradycardic substance on the isolated rabbit heart. *Z Kardiol* 1996;85:953–60.
47. Granetzny A, Schwanke U, Schmitz C Pharmacologic heart rate reduction: effect of a novel, specific bradycardic agent on the heart. *Thorac Cardiovasc Surg* 1998;46:63–9.

48. Frishman WH, Gabor R, Pepine C, et al. Heart rate reduction in the treatment of chronic stable angina pectoris: experiences with a sinus node inhibitor. *Am Heart J* 1996;131:204–10.
49. Boraso A. Why is reduced heart rate beneficial? *Dialog Cardiovasc Med* 2001;1:19–24.
50. Ryu KH, Tanaka N, Ross JJ Effect of a sinus node inhibitor on the failing rabbit heart. *Basic Res Cardiol* 1996; 91:131-139
51. Schley G Therapie der Herz- und Gefäßkrankheiten, Thieme Verlag
52. Strauer BE Koronare Herzkrankheit in *Klinische Kardiologie* (Hrsg. Riecker G), Springer 1991, 357-474
53. Gillam PMS Use of Propranolol in Angina pectoris. *BMJ* 1965; 2: 337-339
54. Schipke JD, Harasawa Y, Sugiura S Effect of a bradycardic agent on the isolated blood-perfused canine heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 1991;5:481–8
55. Miura T, Miyazaki S, Guth BD, et al. Influence of the force-frequency relation on left ventricular function during exercise in conscious dogs. *Circulation* 1992; 86:563–71.
56. Kobinger W Specific bradycardic agents, a new approach to therapy in Angina pectoris? *Prog Pharmacol* 1985; 5(3): 89-100
57. Indolfi C, Guth BD, Miura T Mechanisms of improved ischemic regional dysfunction by bradycardia. *Studies on UL-FS 49 in swine. Circulation* 1989;80:983–93
58. Bel A, Perrault IP, Faris B, et al. Inhibition of the pacemaker current: a bradycardic therapy for off-pump coronary operations. *Ann Thorac Surg* 1998;66:148–52.

59. Swynghedauw B, Jasson S, Chevalier B, et al. Heart rate and heart rate variability, a pharmacological target. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1997 Jan;10(6):677-85
60. Granetzny A, Schwanke U, Gams E, Schipke JD Effects of a bradycardic agent (DK-AH 269) on Haemodynamics and Oxygen consumption of isolated blood-perfused hearts. *J Clin Basic Cardiol* 2000; 3: 191-196
61. Daemmgen JW, Gross GJ. AQ-AH 208, a new bradycardic agent, increases coronary collateral blood flow to ischemic myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7:1048–54.
62. Daemmgen JW, Lamping KA, Gross GJ. Actions of two new bradycardic agents, AQ-AH 208 and UL-FS 49, on ischemic myocardial perfusion and function. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985;7:71–9.
63. Schipke JD, Harasawa Y, Sugiura S, Alexander Jr J, Burkhoff D Effect of a bradycardic agent on the isolated blood-perfused canine heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 1990; 5: 481-488
64. Kobinger W, Lillie C, Pichler L N-allyl-derivative of clonidine, a substance with specific bradycardic action at a cardiac site. *Arch Pharmacol* 1976; 306: 255-262.
65. Schlack W, Ebel D, Grunert S, et al. Effect of heart rate reduction by 4-(N-ethyl-N-phenyl-amino)-1,2-dimethyl-6-(methylamino)pyrimidinium chloride on infarctsize in dog. *Arzneimittelforsch* 1998;48:26–33.
66. Schad H, Heimisch W, Haas F, et al. Effect of the “specific bradycardic agent” alinidine on the function of ischemic myocardium. *Thorac Cardiovasc Surg* 1991;39: Suppl:211–6.

67. Skarvan K Value of a specific bradycardic agent in cardiac surgery compared to placebo. *Eur Heart J* 1987; 8 Suppl L: 123-129.
68. Ragueneau I, Laveille C, Jochemsen R, Resplandy G, Furick Brentano C, Jaillon P Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the effects of ivabradine, a direct sinus node inhibitor, on heart rate in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64: 192-203.
69. Eichhorn EJ, Heesch CM, Barnett JH, Alvarez LG, Fass SM, Grayburn PA, Hatfield BA, Marcoux LG, Malloy CR Effect of metoprolol on myocardial function and energetics in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1310-1320.
70. Olsen SL, Gilbert EM, Renlund DG, Taylor DO, Yanowitz FD, Bristow MR Carvedilol improves left ventricular function and symptoms in chronic heart failure: a double-blind randomized study [see comments]. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1225-1231.
71. Kjekshus JK Importance of heart rate in determining beta-blocker efficacy in acute and long-term acute myocardial infarction intervention trials. *Am J Cardiol* 1986; 57: 43F-49F.
72. Higgins CB, Vatner SF, Franklin D, Braunwald E Extend of regulation of the hearts contractile state in conscious dogs by alteration in frequency of contraction. *J Clin Invest* 1973; 52: 1187-1194.
73. Levick JR *An Introduction to Cardiovascular Physiology*
Hodder Arnold, 2003

74. Alpert NR, Leavitt BJ, Littleman FP et al. A mechanistic analysis of the force-frequency relation in non-failing and progressively failing human myocardium. *Basic Res Cardiol* 1998; 93: Suppl. 1, 23 – 32
75. Endoh M Force–frequency relationship in intact mammalian ventricular myocardium: physiological and pathophysiological relevance. *E J Phar* 2004; 500: 73– 86
76. Raberger G, Krumpl G, Schneider W, et al. Effects of specific bradycardic agents on exercise-induced regional myocardial dysfunction in dogs. *Eur Heart J* 1987;8:Suppl L:53–9.
77. Hasenfuss G, Holubarsch C, Hermann HP, Astheimer K, Pieske B, Just H Influence of the force-frequency relationship on haemodynamics and left ventricular function in patients with non-failing hearts and in patients with dilated cardio-myopathy. *Eur Heart J* 1994; 15: 164-170.
78. Schillinger W, Lehnart SE, Prestle J, Preuss M et al. Influence of SR Ca²⁺-ATPase and Na⁺-Ca²⁺-exchanger on the force-frequency relation. *Basic Res Cardiol* 1998; 93: Suppl. 1, 38 – 45
79. Gwathmey JK, Slawsky MT, Hajjar RJ, Briggs GM, Morgan JP Role of intracellular calcium handling in force/interval relationships of human ventricular myocardium. *J Clin Invest* 1990; 85: 1599–1613
80. Erdmann E Digitalis therapy – Relevance of heart rate reduction. *Basic Res Cardiol* 1998; 93: 156-159.
81. Vatner SF, Hintze TH Effects of a calcium-channel antagonist on large and small coronary arteries in conscious dogs. *Circulation* 1982; 66: 579-588
82. van Woerkens LJ, Van der Giessen WJ, Verdouw PD The selective bradycardic effects of Zatebradine (UL-FS 49) do not adversely affect left

- ventricular function in conscious pigs with chronic coronary artery occlusion. *Cardiovasc Drugs Ther* 1992; 6: 59-65
83. Hu K, Gaudron P, Kaden J, Hagebecker A, Fraccarollo D, Schönaich E, Ertl G
Langzeitwirkung der Herzfrequenzsenkung auf Letalität, Hämodynamik und
Remodeling bei Ratten mit experimentellem Herzinfarkt. *Z Kardiol* 1997; 86,
Suppl 2, Abstr 998 S. 270
84. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF Regional
myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary
artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 1975; 56: 978-985
85. Breall JA, Watanabe J, Grossmann W Effect of zatebradine on contractility,
relaxation and coronary blood flow. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 471-477
86. Kambayashi M, Miura T, Oh BH, Rockmann HA, Murata K, Ross J
Enhancement of the force-frequency effect on myocardial contractility by
adrenergic stimulation in conscious dogs. *Circulation* 1992; 86: 572-580
87. Ree Reeves TJ, Hefner LL, Jones WB, Coghlan C, Prieto G, Carroll J The
hemodynamic determinants of the rate of change in pressure in the left
ventricle during isometric contraction. *Am Heart J* 1960: 745-761
88. Maughan WL, Sunagawa K, Burkhoff D, Graves WL Jr, Hunter WC, Sagawa K
Effect of heart rate on the canine end-systolic pressure-volume relationship.
Circulation 1985; 72: 654-659.
89. Chen Z, Slinker BK., Reuter B The sinus node inhibitor UL-FS 49 lacks
significant inotropic effect. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19: 264-271
90. Guth BD, Dietze T If current mediates β -adrenergic enhancement of heart
rate but not contractility in vivo. *Basic Res Cardiol* 1995;90:192-202

91. Ogiwara Y, Furukawa Y, Akahane K et al. Bradycardic effects of AQ-A 39 (Falipamil) in situ and in isolated, blood-perfused dog hearts. Comparison with alinidine and verapamil. *Jpn Heart J* 1988;29:849–61
92. Bril A, Forest MC, Cheval B, et al. Effect of zatebradine, a specific bradycardic agent, on ischemia-induced arrhythmias in anesthetized rabbits. *Pharmacology* 1994;48:308–19
93. Naito H, Furukawa Y, Chino D et al. Effects of zatebradine and propranolol on canine ischemia and reperfusion-induced arrhythmias. *Eur J Pharmacol* 2000;388:171–6
94. Thollon C, Cambarrat C, Vian J et al. Electrophysiological effects of S 16257, a novel sino-atrial node modulator, on rabbit and guinea-pig cardiac preparations: comparison with UL-FS 49. *Br J Pharmacol* 1994;112:37–42
95. Schramm M, Klieber HG and Daut J The energy expenditure of actomyosin-ATPase, Ca²⁺-ATPase and Na⁺, K⁺-ATPase in guinea-pig cardiac ventricular muscle. *J Physiol (Lond)* 1994; 481: 647-662
96. Schrader J Das Herz in Lehrbuch der Physiologie, Hrsg. R. Klinke and S. Silbernagel, Thieme Verlag, 1994
97. Feigl E.O. Coronary physiology. *Physiol Rev* 1983; 63: 1-205
98. Rose J, Schulz R, Skyschally A, Martin C, Heusch G UL-FS 49 and Atenolol reduce myocardial infarct size, but only UL-FS 49 attenuates regional contractile dysfunction. *Pflügers Arch* 1994; 426: R115
99. Schmidt RF, Thews G *Physiologie des Menschen*, Springer Verlag, 1995
100. Accili EA, Proenza C, Baruscotti M, DiFrancesco D From Funny Current to HCN Channels: 20 Years of Excitation. *News Physiol. Sci* 2002, 17:32-37

101. Schulz R Reine Herzfrequenzsenkung durch selektive und spezifische If-Kanal-Hemmung: Möglichkeit zur Behandlung der stabilen Angina. *Journal für Kardiologie* 2006; 13 (Supplementum A), 6-7
102. Neubauer S, Ertl G, Hu K, Naumann A et al. Heart rate reduction by zatebradine reduces infarct with experimental myocardial infarction size and mortality but promotes remodeling in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286:1281-1288
103. Borer J Heart rate slowing by If inhibition: therapeutic utility from clinical trials. *European Heart Journal Supplements* 2005; 7 (Supplement H), H22–H28
104. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part I. *Circulation*. 2001; 104:2981–2989.
105. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part II. *Circulation*. 2001; 104:3158–3167.
106. Bolli R, Marban E. Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiol Rev* 1999;79(2):609-34.
107. Zhao K, Zhao GM et al Cell-permeable peptide antioxidants targeted to inner mitochondrial membrane inhibit mitochondrial swelling, oxidative cell death, and reperfusion injury. *J Biol Chem* 2004 13;279(33):34682-90.
108. Kloner RA, Arimie RB, Kay GL, et al. Evidence for stunned myocardium in humans: a 2001 update. *Coron Artery Dis*. 2001;12:349–356.
109. Ambrosio G, Tritto I. Clinical manifestations of myocardial stunning. *Coron Artery Dis*. 2001;12:357–361.
110. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic

- ventricular dysfunction. *Circulation*. 1982;66:1146–1149.
111. Rao V, Ivanov J, Weisel RD, et al. Lactate release during reperfusion predicts low cardiac output syndrome after coronary bypass surgery. *Ann Thorac Surg*. 2001;71:1925–1930.
112. Schipke et al. Basal metabolism does not account for high O₂ consumption in stunned myocardium. *Am J Physiol*. 1998 Mar;274(3 Pt 2):H743-6.
113. Laster SB et al. Reduced aerobic metabolic efficiency in globally "stunned" myocardium. *J Mol Cell Cardiol*. 1989;21(4):419-26
114. Cook S et al. High heart rate: a cardiovascular risk factor? *European Heart Journal* 2006;27, 2387–2393

6. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Nelson da Silva Santos Amaral
Geburtsdatum: 07.12.1977
Geburtsort: Remscheid
Wohnort: 2 Kenbury Street, London
SE5 9BS, United Kingdom

Schulbildung:

1984 – 1988 Grundsule Honsberg in Remscheid
1988 – 1997 Gertrud-Bäumer-Gymnasium in Remscheid (Abitur)

Studium:

1997 Aufnahme des Studiums der Humanmedizin and der
Heinrich Heine Universität, Düsseldorf
1999 Ärztliche Vorprüfung
2001 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2003 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2003-2004 Praktisches Jahr am Universitätsklinikum der Heinrich-
Heine-Universität, Düsseldorf und Inselspital Bern, Schweiz
2004 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Beruf:

2004-2006 Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik für
Anästhesiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf

- 2006-2007 Foundation Programme Year 2 (Plastic Surgery, Renal
Medicine, Trauma and Orthopaedics) –
Derriford Hospital, Plymouth Hospitals NHS Trust, UK
- Seit Aug 2008 Core Medical Training ST1 (Geriatrics, Gastroenterology,
Cardiology) –
Princess Royal University Hospital, Bromley Hospitals NHS
Trust, UK
- Forschung:** Seit 2001 wissenschaftliche Mitarbeit im Labor der
Forschungsgruppe für Experimentelle Chirurgie, Zentrum
für Operative Medizin 1, Universitätsklinikum Düsseldorf,
zur Anfertigung meiner Dissertation

Effekte eines Sinusknoteninhibitors (DK-AH 269) und eines Kalziumantagonisten (Verapamil) auf Funktion und Infarktgröße von Kaninchenherzen

Doktorand: Nelson da Silva Santos Amaral

Cilobradin (DK-AH 269) ist ein hochselektiver und potenter Blocker der I_f -Kanäle des Sinusknotens und führt somit zu einer Reduktion der Herzfrequenz. In den verwendeten Dosierungen senkte Cilobradin signifikant die Herzfrequenz wohingegen der Kalziumantagonist Verapamil dies nur in geringem Umfang erzielte und durch einen deutlichen, negativen inotropen Effekt hervortrat, der bei Cilobradin *per se* nicht vorzufinden war. Beide Substanzen reduzierten die Infarktgröße, doch konnte lediglich Cilobradin einen signifikanten Effekt gegenüber der Placebogruppe erzielen.

Die vorteilhafte Wirkung von Cilobradin korreliert sehr wahrscheinlich mit der Reduktion der Herzfrequenz, die eine wichtige Komponente des myokardialen Sauerstoffbedarfs ist. Aus unseren Ergebnissen lässt sich schlußfolgern, dass Cilobradin für die Behandlung von Tachykardien, sowie für die Therapie der koronaren Herzkrankheit und der Herzinsuffizienz von Nutzen sein könnte. Durch seine antiischämischen Eigenschaften könnte Cilobradin bei Patienten eingesetzt werden, die Kontraindikationen gegen β -Adrenorezeptoren-Blocker aufweisen

Als erster selektiver I_f -Kanal Blocker wurde Ivabradin (Procoralan®) am 25. Oktober 2005 von der europäischen Arzneimittelbehörde zugelassen. Es ist bei Patienten mit chronisch stabiler Angina pectoris indiziert, die eine Kontraindikation oder Unverträglichkeit für β -Adrenorezeptoren-Blocker aufweisen.



Düsseldorf, den 30 Mai 2008

Prof. Dr. rer. nat. J.D. Schipke
Forschungsgruppe Exp. Chirurgie
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf