

Aus dem Zentrum für Operative Medizin I
Forschungsgruppe Experimentelle Chirurgie
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H.D. Röher
Betreuer: Prof. Dr. rer. nat. J.D. Schipke

**Postischämisch reperfundiertes Myokard, besserer Schutz durch eine
spezifisch bradykarde Substanz (Cilobradin) als durch einen
Ca²⁺-Antagonisten (Verapamil)**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Burkhard Stoffels

2001

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Labisch, M.A.

Dekan

Referent: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Schipke

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Perings

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	MATERIAL UND METHODIK	4
2.1	Chemische Strukturformel von Cilobradin (DK-AH 269)	4
2.2	Experimenteller Versuchsaufbau	5
2.2.1	Vorbereitung und Narkose der Versuchstiere	5
2.2.2	Isolation der Kaninchenherzen	5
2.2.3	Instrumentierung der Herzen	6
2.2.4	Perfusionsmedium	7
2.2.5	Perfusionskreislauf	8
2.2.6	Arbeitskreislauf	9
2.2.7	Versuchsapparatur (Perfusion nach Langendorff)	10
2.3	Experimentelles Protokoll	11
2.4	Gewinnung myokardialer Gewebeproben	12
2.5	Bestimmung der Infarktgröße mit der TTC-Färbung	12
2.6	Datenregistrierung	15
2.7	Berechnungen und Statistik	16
3	ERGEBNISSE	17
3.1	Dosierungen	17
3.2	Hämodynamik	18
3.2.1	Herzfrequenz und Diastolendauer	18
3.2.2	Systolische Funktion	20
3.2.3	Diastolische Funktion	24
3.2.4	Gefäßtonus	26
3.3	Myokardstoffwechsel	29
3.4	Postischämische Infarktgröße	31

4	DISKUSSION.....	32
4.1	Hintergründe	32
4.1.1	Koronare Herzkrankheit.....	32
4.1.2	Tachykarde Herzrhythmusstörungen.....	36
4.1.3	Weitere Einsatzmöglichkeiten spezifisch bradykarder Substanzen	37
4.1.4	Wirkmechanismus von Cilobradin.....	38
4.2	Ergebnisse.....	41
4.2.1	Hämodynamik.....	41
4.2.2	Myokardstoffwechsel	49
4.2.3	Postischämische Infarktgröße	50
4.3	Kritik der Methode.....	52
5	ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUßFOLGERUNG	55
6	LITERATUR	56
7	LEBENS LAUF	68
	ABSTRACT.....	70

1 EINLEITUNG

Myokardiale Ischämien können in Abhängigkeit von Dauer und Ausmaß akute ventrikuläre Dysfunktionen und schließlich irreversible Schädigungen hervorrufen. Da Herzfrequenz, Diastolendauer, Kontraktilität, Wandspannung, Perfusionsdruck und Koronardurchblutung die wesentlichen Determinanten des myokardialen O_2 -Verbrauchs und -Angebots darstellen [1;2;3;4], erscheinen alle Substanzen, die eine oder mehrere dieser Variablen günstig verändern können, prinzipiell für die Therapie der ischämischen Herzerkrankung geeignet. Hierbei beeinflusst hauptsächlich die Herzfrequenz den myokardialen Energiebedarf [5] und deshalb sollte eine wie auch immer induzierte Bradykardie den myokardialen Sauerstoffverbrauch reduzieren [6]. Im wesentlichen besteht die Therapie der Myokardischämie aus zwei Medikamentengruppen via Bradykardie: β -Blocker (z.B. Metoprolol [7], Carvedilol [8], Atenolol [9]) und Ca^{2+} -Antagonisten (z.B. Verapamil [10], Diltiazem [11]). Sowohl Kontraktilität als auch Herzfrequenz werden durch β -Blocker reduziert [9;12]. Ca^{2+} -Antagonisten reduzieren ebenfalls Kontraktilität und Herzfrequenz [13], erhöhen aber gleichzeitig das Sauerstoffangebot für das ischämische Myokard durch Senkung des koronararteriellen Widerstands [14]. Trotz der bekannten klinischen Effekte in der Therapie koronarer Herzerkrankungen ist die Gabe von β -Blockern und Ca^{2+} -Antagonisten aufgrund ihrer negativ inotropen Eigenschaften nicht problemlos [15]. Spezifisch bradykarde Substanzen wie z.B. Alinidin, Falipamil und Zatebradin senken selektiv die Herzfrequenz [15]. Diese Substanzen haben relativ geringe kardiovaskuläre Nebenwirkungen im Hinblick auf die myokardiale Kontraktilität, die Arrhythmogenität und den Blutdruck. Gemeinsam ist den spezifisch bradykarden Substanzen die Auslösung einer Sinusbradykardie über eine Blockade von I_f

Kanälen [16]. Trotz hinreichend belegter und ermutigender, an verschiedenen Tiermodellen [17;18;19], sowie in klinischen Studien an Patienten mit koronarer Herzkrankheit [20;21] gewonnenen Ergebnissen, fanden diese Substanzen aufgrund unerwarteter Nebenwirkungen und enttäuschender Wirksamkeit bei stabiler Angina pectoris [22] bisher keine breitere Anwendung und somit keinen Einzug in die Klinik. Gründe liegen eventuell in uneinheitlichen Resultaten hinsichtlich des kontraktile Status, der Spezies und der Dosis [23]. Die Suche nach höher potenten, länger wirkenden spezifisch bradykarden Substanzen führte zur Neuentwicklung von Cilobradin (DK-AH 269), das bereits in Tierversuchen getestet wurde [24;25]. Es gibt bisher keine publizierten Daten zu Auswirkungen von Cilobradin auf Funktion, Gefäßtonus und Sauerstoffverbrauch des Myokards, insbesondere nicht für das postischämisch reperfundierte Myokard. Weiterhin finden Untersuchungen mit neu entwickelten spezifischen I_f-Kanal-Blockern Interesse, weil bisher untersuchte spezifisch bradykarde Substanzen mit zentralnervösen Nebenwirkungen einhergingen, die eine breitere Anwendung verhinderten. Zumindest aus tierexperimentellen Daten zur Pharmakologie des Cilobradin können Nebeneffekte auf das Zentralnervensystem, den Gastrointestinaltrakt und die Nierenfunktion ausgeschlossen werden [24;25].

In einer früheren Studie mit saliner Lösung perfundierten, isolierten Kaninchenherzen wurde über eine dosisabhängige Herzfrequenzreduktion durch Cilobradin berichtet, während die systolische Funktion primär unverändert blieb [26]. Eine ähnliche Studie mit Blut-perfundierten, isolierten Kaninchenherzen bestätigte die bradykarden Eigenschaften von Cilobradin. Parallel zur mäßig reduzierten Kontraktilität war der myokardiale Sauerstoffverbrauch vermindert, während die Koronardurchblutung pro Herzschlag unverändert blieb [27].

In der vorliegenden Studie an insgesamt 24 Blut-perfundierten Kaninchenherzen wurden Eigenschaften von Cilobradin am postischämisch reperfundierten Herzen untersucht. Die Ergebnisse wurden mit einer Serie mit dem Ca²⁺-Antagonisten Verapamil (Isoptin) in einer Dosierung verglichen, die eine vergleichbare Reduzierung der Herzfrequenz nach sich zog. Beide Serien wurden zusätzlich mit einer Kontrollserie (nur Placebo) verglichen. Eine Dosierung in einer Konzentration von 10⁻⁶ M Cilobradin stellte sich als sehr effektiv bezüglich der Frequenzreduktion heraus, da es bei höheren Dosierungen (10⁻⁵ M) zu massiven Einschränkungen der Herzfunktion kommt [26;27]. Wir entschieden uns für die Untersuchungen am isolierten Herzen, um den Effekt der Substanz ohne störende Interaktionen mit zentralen oder peripheren Regulationsmechanismen zu prüfen.

2 MATERIAL UND METHODIK

Die durchgeführten Experimente wurden aufgrund der Organentnahmen gemäß §8a des Deutschen Tierschutzgesetzes vom 1. Januar 1987 der Landesregierung Nordrhein-Westfalen angezeigt und entsprachen in allen Teilen den gesetzlichen Bestimmungen über den experimentellen Umgang mit Säugetieren, welche mit den Richtlinien der American Physiological Society übereinstimmen (Richtlinie zum Wohl und Nutzen von Versuchstieren. NIH, 1985).

2.1 Chemische Strukturformel von Cilobradin (DK-AH 269)

Bei der Substanz Cilobradin handelt es sich um 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.

Die Substanz ist wasserlöslich, das Molekulargewicht liegt bei 519 g und der Schmelzpunkt beträgt 226 °C.

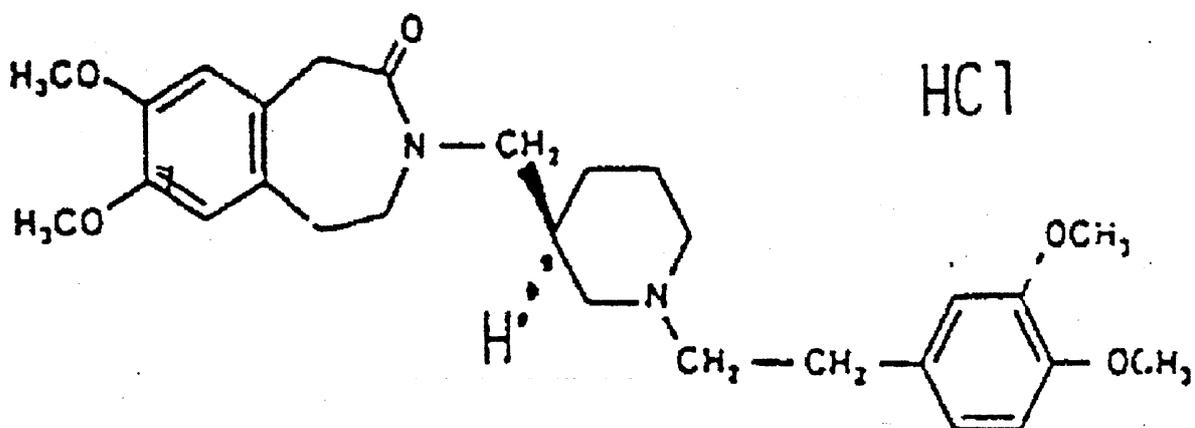


Abb. 1: Chemische Strukturformel von Cilobradin (DK-AH 269)

2.2 Experimenteller Versuchsaufbau

2.2.1 Vorbereitung und Narkose der Versuchstiere

Es wurden 24 Kaninchen der Rasse New Zealand White (Geschlecht: männlich, Alter: 6-8 Monate, Körpergewicht: 2500-3500 g) zur Organentnahme verwendet. Die Narkose erfolgte mittels Kombinationsanästhesie bestehend aus Ketavet (Parke Davis, 50 mg/kg Ketaminhydrochlorid i.m.) und Rompun (Bayer, 5 mg/kg Xylazin i.m.). Bei unzureichender Anästhesie wurde zusätzlich Rohypnol (0,1-0,3 mg/kg Flunitrazepam i.v.) über einen in die Ohrvene platzierten Zugang injiziert. Nach Tracheotomie und Intubation wurden die Tiere mit Pancuronium (Organon Teknika, 0,4 mg/kg Pancuroniumbromid i.v.) relaxiert und über einen Kleintier-Respirator (Ugo Basile, 7025) mit einem O₂-angereicherten Raumluf-Gemisch kontrolliert beatmet (Atemfrequenz: 35 min⁻¹, Atemzugvolumen: 25-30 ml).

2.2.2 Isolation der Kaninchenherzen

Nach medianer Sternotomie, Entfernung des Thymusgewebes und Perikardiotomie erfolgte eine Heparinisierung mit Liquemin (Roche, 2000 IE/kg Natriumheparinat i.v.) zur Vermeidung von Mikrothrombenbildung. Die Aorta ascendens und die A. pulmonalis wurden dargestellt und jeweils mit einem Faden angeschlungen. Anschließend wurde die V. cava inferior unterhalb des Zwerchfells okkludiert und die A. pulmonalis zur Entlastung des Myokards durch einen feinen Schnitt etwa 10 mm vom Herzen entfernt inzidiert. Die Aorta wurde im Verlauf des Aortenbogens durchtrennt und mit einer Edelstahlkanüle (Ø: 5 mm) kanüliert. Von diesem Zeitpunkt an

erfolgte die Perfusion der Herzen über einen Verlängerungsschlauch mit einer stark modifizierten Perfusionsanlage nach Langendorff [28]. Mit Hilfe dieser ununterbrochenen Perfusion konnte eine unerwünschte Ischämie vermieden werden. Anschließend erfolgte die endgültige Isolation der Organe an der Herzbasis und nach Entfernung des Verlängerungsschlauches der direkte Anschluß an die Langendorff-Anlage.

2.2.3 Instrumentierung der Herzen

Bei einer kontinuierlichen Perfusion (koronararterieller Druck: ca. 80 mmHg) wurden die Äste der V. cava inferior, sowie beider Vv. cavae superiores mittels feiner Fäden (Ethicon, Vicryl Sutupack 2-0 USP, 3 metric) abgebunden, um den retrograden Abfluß des koronarvenösen Effluats aus dem rechten Vorhof zu blockieren und damit die Drainage über den Truncus pulmonalis zu gewährleisten. Die freie Wand des linken Atriums wurde, ausgehend von den Ästen der Vv. pulmonales, etwa 15 mm weit median inzidiert und die Segel der Mitralklappe fixiert und eingeschnitten. Ein mit Wasser gefüllter Latexballon (H. Sachs Elektronik, #12-14), gekoppelt an einen „systemischen“ Arbeitskreislauf, wurde über die Mitralklappenöffnung in das linksventrikuläre Cavum eingeführt. Anschließend erfolgte die Kanülierung des Truncus pulmonalis mit einem Polyethylenschlauch (Ø: 5 mm). In den Latexballon wurde ein Tip-Katheter (3F Mikrotip-Manometer, Millar TC500) zur Druckmessung eingeführt. Mit einer Temperatursonde wurde an der Herzbasis zwischen Aortenwurzel und Truncus pulmonalis die Temperatur gemessen. Optimale, normotherme (38°C) äußere Temperaturbedingungen für das isolierte Herz wurden durch Eintauchen in thermoreguliertes Perfusat erreicht. Nach der Instrumentierung der Herzen folgte in

allen Experimenten eine 15-30 min Stabilisierungsphase. Die Herzen wurden bei einem konstanten Druck von ca. 80 mmHg mit oxidiertem Blutperfusat perfundiert. In der Stabilisierungsphase sollten präparationsbedingte Irritationen der Herzen (direkte Manipulation am Myokard, Elektrolytstörungen, Sinusarrhythmien aufgrund der vegetativen Denervierung) möglichst vollständig überbrückt werden. Anschließend wurde mit dem Versuchsprotokoll begonnen.

2.2.4 Perfusionsmedium

Bei dem Perfusionsmedium handelte es sich um eine labortechnisch aufbereitete Erythrozytensuspension. Das Vollblut frisch geschlachteter Rinder (Schlachthof FVD Fleischversorgung Düsseldorf GmbH & Co KG, Düsseldorf) wurde mit Biostabil (14,81 g/l Natriumcitrat · 2H₂O, 4,76 g/l Zitronensäure · H₂O, 14,7 g/l Glukose · H₂O) versetzt und in einem Mischungsverhältnis Biostabil : Blut = 1:4 verwendet. Dem Stabilisator wurde das Breitbandantibiotikum Gramaxin (ca. 500.000 IE. Cefazolin) sowie Liquemin (Roche, 15.000 IE. Natriumheparinat) zugesetzt. Durch einen fünf-fachen Zentrifugationsvorgang (Hettich Kühlzentrifuge, Roto Magna/K4; 4 · 1000 ml, 3000 min⁻¹) (1x; pur) unter Zuhilfenahme von phosphatgepufferter 0,9 %iger Kochsalzlösung (2x; 0,44 g/l KH₂PO₄, 2,12 g/l Na₂HPO₄ · 7H₂O, 9 g/l NaCl) und kohlenhydratfreier Krebs-Henseleit-Lösung (2x; 5,21 g/l NaCl, 2,44 g/l NaHCO₃, 0,37 g/l KCl, 0,27 g/l Na₂HPO₄ · 7H₂O, 0,12 g/l MgSO₄ · 7H₂O, 0,53 g/l CaCl₂ · 2H₂O, 0,015 g/l EDTA) wurden gewaschene Erythrozyten isoliert. Diesen wurde 4 g/100 ml dialysiertes Rinderalbumin (Fraktion V aus Rinderserum, Boehringer Mannheim GmbH, 735086) zur Vermeidung eines Zellödems hinzugefügt. Anschließend wurde diese Suspension mit Krebs-Henseleit-Lösung so verdünnt, daß ein Hämoglobin-

gehalt von $10,0 \pm 0,3$ g/1000 ml entsprechend einem Hämatokrit von 30 % resultierte. Als Substrate wurden dem Perfusat Glukose (11,1 mM), Pyruvat (2,2 mM) und als Antikoagulanzen Liquemin (Roche, 2.500 IE. Natriumheparinat) zugesetzt. Nach Füllen der Langendorff-Anlage mit ca. 500 ml Blut wurde dieses oxygeniert und der pH-Wert gemäß den Ergebnissen der Blutgasanalysen (ABL 505 Radiometer, Kopenhagen) auf einen Wert von 7,4 korrigiert. Für jedes Experiment wurde frisches Perfusat verwendet.

2.2.5 Perfusionskreislauf

Das Blutperfusat befand sich rezirkulierend in einem geschlossenen System. Der variabel einstellbare koronare Perfusionsdruck wurde durch eine Rollerpumpe (Watson Marlow, 505 L) aufgebaut, die das Perfusat aus dem Vorratsgefäß über einen Blutfilter (Baxter, Bentley AF-1040 GoldTM; 40 μ m) durch einen Oxygenator (D701 Masterflow 34 Infant Hollow Fiber Oxygenator, Dideco) in die Aorta pumpt. Die Perfusionslösung wurde im Oxygenator mit einem Gasgemisch (72 % N₂, 22 % O₂, 6 % CO₂) begast, so daß der Sauerstoffpartialdruck im Perfusat 130 ± 20 mmHg betrug. Für die angestrebte „low-flow“ Ischämie wurde eine zweite Rollerpumpe verwendet. Das koronarvenöse Effluat wurde über einen Katheter in der A. pulmonalis abgeführt. In den Katheterschlauch waren ein Ultraschall-Flußmeßkopf (Transonic Systems Inc., T 206) zur Messung des venösen Koronarflusses, ein kontinuierlich messendes Absorptionsspektrophotometer (A-VOX systems, San Antonio, USA) zur Messung der arteriovenösen Sauerstoffdifferenz und ein Adapter zur Entnahme von koronarvenösen Blutproben eingefügt. Ein Druckwandler (Statham, P 23 XL) maß den Aortendruck (= Nachlast). Zur Erfassung der Vorlast

(= intraventrikulärer Durchmesser) wurde die Sonomikrometrie benutzt (Triton, System 6). Die Herztemperatur wurde konstant auf 38 °C gehalten, indem das Herz in entsprechend temperiertes Perfusat getaucht wurde.

2.2.6 Arbeitskreislauf

Der linke Ventrikel war über einen Latexballon an einen „systemischen“ Kreislauf gekoppelt. Hierbei handelte es sich um ein mit Aqua bidest. gefülltes System, welches mit einer künstlichen Aorten- und Mitralklappe ausgestattet war. Um möglichst physiologische Bedingungen zu imitieren, befand sich distal zur „Aortenklappe“ ein Windkessel. Eine Flüssigkeitssäule simulierte die Vorlast bzw. den linksventrikulären Füllungsdruck und ein Flüssigkeitsspiegel in einem Reservoir die Nachlast bzw. den peripheren Gefäßwiderstand.

2.2.7 Versuchsapparatur (Perfusion nach Langendorff)

Die Experimente wurden an einem stark modifizierten Versuchsaufbau nach Langendorff durchgeführt [28].

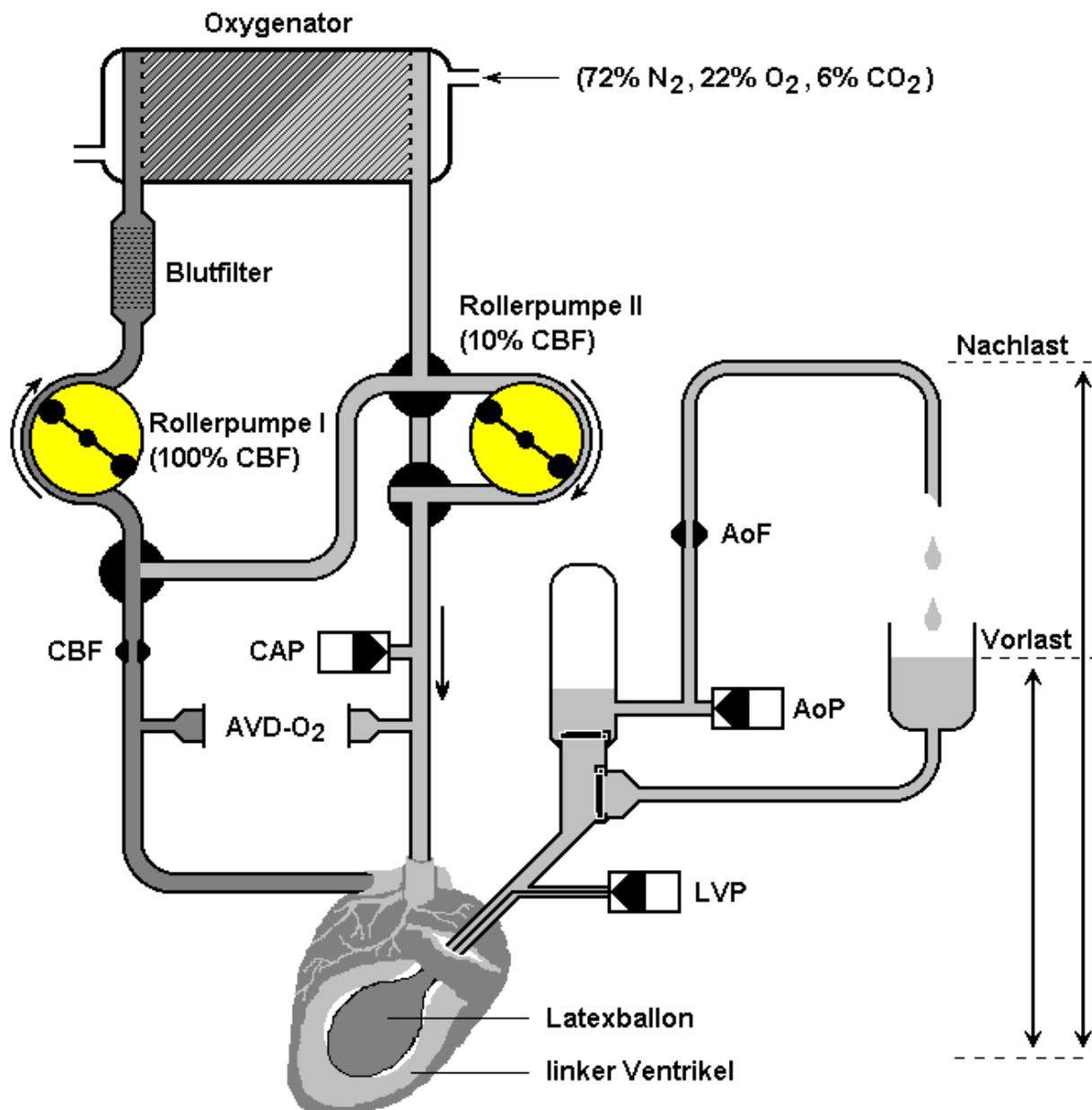


Abb. 2: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus (stark modifizierte Apparatur nach Langendorff). Im Bild ist auf der rechten Seite der systemische Kreislauf dargestellt, der mit einem intraventrikulären Ballon verbunden ist. Auf der linken Seite befindet sich der Perfusionskreislauf. Für Details siehe Text. AoF=Aortenfluß, AoP=Aortendruck, CAP=arterieller Koronardruck, CBF=Koronardurchblutung, AVD-O₂=arteriovenöse Sauerstoffdifferenz, LVP=linksventrikulärer Druck.

2.3 Experimentelles Protokoll

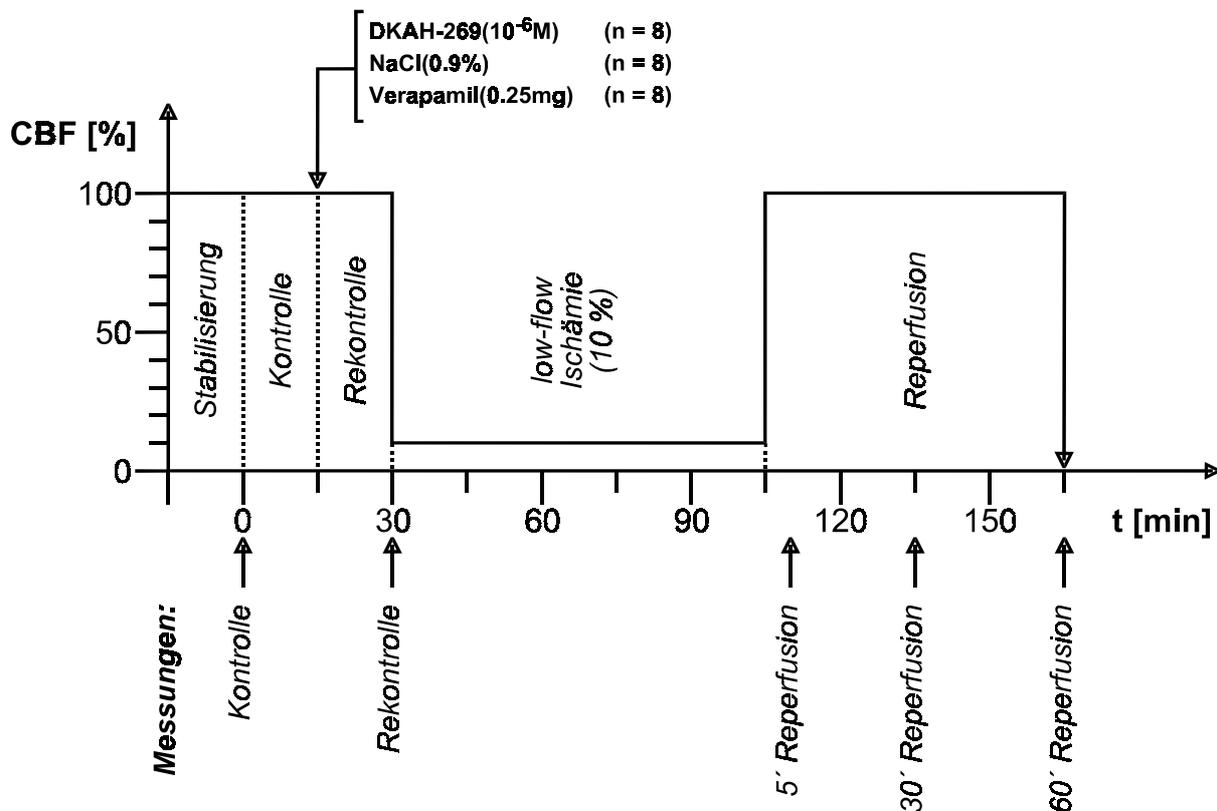


Abb. 3: Graphische Darstellung des Versuchsprotokolls

Bei den Herzen der Placebo-Gruppe (n=8) wurden nach einer ca. 20 min Stabilisierungsphase, äquivalent zu der Medikation bei den beiden anderen Gruppen, 1 ml 0,9 %ige Kochsalzlösung in die arterielle Linie injiziert. Zuvor erfolgte eine Kontrollmessung (0 min) und nach weiteren 30 min erfolgte eine erneute Registrierung (Rekontrolle). Darauf folgte eine normotherme, low-flow Ischämie (10 % der initialen Koronardurchblutung) für die Dauer von 75 min. Nach Ablauf dieser Zeit schloß sich eine Reperfusion über 60 min an. Innerhalb dieser Phase erfolgten die Messungen nach 5 (110 min), 30 (135 min) und 60 min (165 min). Zur Überprüfung des Effektes von Cilobradin im Rahmen einer low-flow Ischämie wurde

den Herzen einer zweiten Gruppe (n=8) nach der Kontrollmessung (0 min) Cilobradin in einer Konzentration von 10^{-6} M verabreicht. Ansonsten verlief das Protokoll wie bei der Placebo-Gruppe. In einer dritten Gruppe (n=8) wurde nach der Kontrollmessung (0 min) Verapamil in einer Dosierung von 0,25 mg verabreicht. Diese Dosierung führte zu einer ähnlichen Herzfrequenzreduktion wie Cilobradin (10^{-6} M). Auch hier verlief das Protokoll ansonsten wie bei der Placebo-Gruppe.

2.4 Gewinnung myokardialer Gewebeproben

Nach Versuchsende wurden alle Herzen bis zur weiteren experimentellen Aufarbeitung mit 5 ml gesättigter K^+ -Lösung zum Stillstand gebracht. Anschließend wurde das Herz mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9 %iges NaCl) ausgewaschen. Die Herzen wurden gewogen und beide Vorhöfe sowie der rechte Ventrikel komplett entfernt. Der für uns interessante linke Ventrikel wurde dann mit einem Skalpell in 6-8 annähernd gleich dicke (ca. 2 mm), transversale Scheiben von basal bis apikal parallel zur Ventilebene des Herzens zerteilt.

2.5 Bestimmung der Infarktgröße mit der TTC-Färbung

Die Herzscheiben wurden in einer Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid (TTC)-Lösung inkubiert. Die Inkubationszeit betrug 15-30 min bei einer Temperatur von 38 °C im Wärmeschrank. Die TTC-Lösung bestand aus 1,5 g TTC sowie 2,42 g TRIS-Puffer und wurde in 200 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung angesetzt. Durch tropfenweise Hinzugabe einer 1,0 M HCl-Lösung und ständiges Umrühren auf einem Labor-Rührer

unter Kontrolle einer pH-Elektrode (WTW, pH 522), erreichte die Lösung einen physiologischen pH-Wert von 7,4.

Das Prinzip der TTC-Färbung basiert auf farblosen, wasserlöslichen Tetrazoliumsalzen, die als Elektronenfänger in Redoxreaktionen des Zitratzyklus fungieren [29]. Unter Reduktionsbedingungen wandeln sie sich in gefärbte Stoffe um, sog. Formazane, die sich aufgrund ihrer Unlöslichkeit dort niederschlagen, wo sie entstehen. TTC bildet in reduzierter Form einen roten Farbstoff, somit erfolgt eine Rotfärbung der Gebiete, die noch Enzymaktivitäten aufweisen. In den infarzierten Myokardarealen findet kein Stoffwechsel mehr statt, so daß diese Bezirke ungefärbt bleiben [30]. Nach erfolgreicher Färbung, wurden die Scheiben einzeln und beiderseits unter einer beleuchteten Schreibtischlupe nach Infarktarealen untersucht und von Hand mittels „Paustechnik“ und Folienstiften auf Folie übertragen. Die Folien wurden per Buntkopierer auf 150 % der ursprünglichen Größe vergrößert und dann computergestützt, planimetrisch ausgewertet (MS Autosketch 2.1). Das Programm erlaubte eine weitere Vergrößerung der Herzscheiben auf dem Monitor, was eine präzise Quantifizierung der interessierenden Areale ermöglichte. Es wurden prozentuale Werte der Infarktareale in Bezug auf den gesamten linken Ventrikel erhoben.

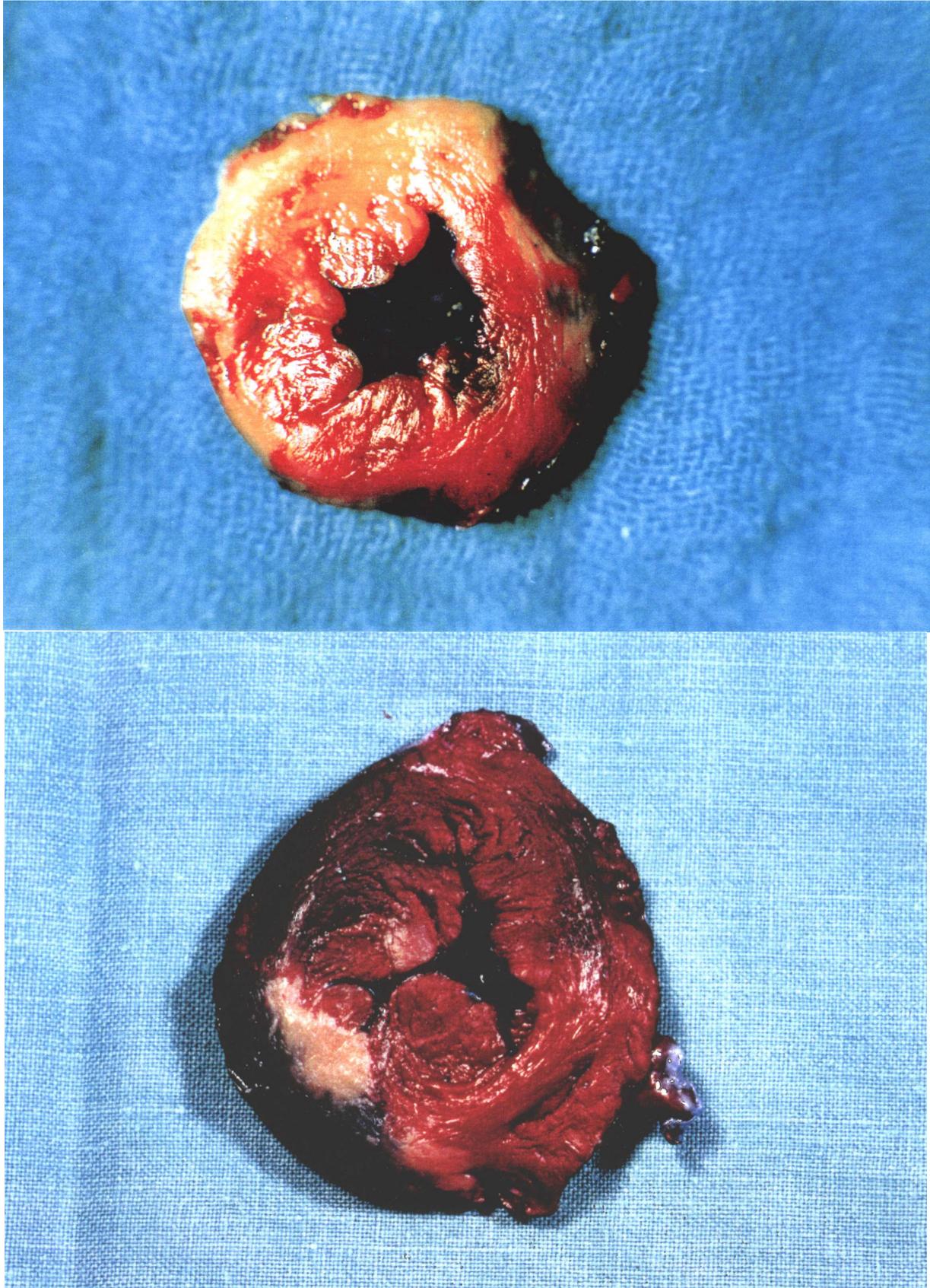


Abb. 4: Fotografische Darstellung zweier Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid gefärbter Herzscheiben. Blaue Areale = durchblutetes, vitales Myokard; rote Areale = vitales Myokard; grau-gelbe Areale = nekrotisches Myokard. (Fotos mit freundlicher Genehmigung von Priv.-Doz. Dr. med. M. Kantartzis)

2.6 Datenregistrierung

Es wurden die folgenden hämodynamischen Variablen gemessen:

- $LVP_{\max/ed}$ = Linksventrikulärer systolischer/enddiastolischer Druck [mmHg]
(3F Mikrotip-Manometer, Millar TC500)
- AoP = Aortendruck [mmHg]
(Statham, P 23 XL)
- AoF = Aortenfluß [ml/min] = Herzzeitvolumen
(Transonic Systems Inc., T206)
- CAP = Koronararterieller Druck [mmHg]
(Statham ID 123)
- CBF = Koronardurchblutung [ml/min]
(Transonic Systems Inc., T206)
- $AVDO_2$ = Arteriovenöse Sauerstoffdifferenz [mmHg]
(A-VOX systems)
- dP/dt = Linksventrikuläre Druckänderungsgeschwindigkeit [mmHg/s]

Zur Registrierung wurde ein 8-Kanal-Tintenschreiber (Brush, Typ 481) verwendet. Die Schreibgeschwindigkeit betrug während der Interventionen 50 mm/s. Um Nachlast-bedingte Veränderungen auszuschließen wurden auch isovolumetrische, systolische Spitzendrücke, dP/dt_{\max} und dP/dt_{\min} , registriert. Zusätzlich wurden die Variablen LVP, dP/dt , AoF, CBF und HF zur späteren Auswertung digital gespeichert (Meßdauer: 4 - 5 s).

2.7 Berechnungen und Statistik

Hämodynamische Daten wurden mit einem im Institut entwickelten Computerprogramm (EASYDAT) analysiert [31]. HF, dP/dt_{\max} und dP/dt_{\min} wurden vom LVP-Signal hergeleitet. Zur Bestimmung und zur Kontrolle des koronararteriellen Sauerstoffpartialdrucks ($pO_{2(\text{art})}$ [mmHg]) wurden in regelmäßigen Abständen Perfusatproben entnommen. Der Sauerstoffverbrauch wurde aus den arteriovenösen Konzentrationsdifferenzen [AVDO₂] und dem CBF berechnet. Der CBF wurde auf 100 g Feuchtgewicht normiert. Der koronarvenöse Sauerstoffpartialdruck ($pO_{2(\text{ven})}$ [mmHg]) wurde kontinuierlich erfaßt (A-VOX systems). Der globale myokardiale Sauerstoffverbrauch [$M\dot{V}O_2$] wurde nach dem Fick'schen Prinzip ermittelt:

$$M\dot{V}O_2 = \alpha_{O_2} \cdot (pO_{2(\text{art})} - pO_{2(\text{ven})}) / 760 \cdot \text{CBF}$$

Formel 1: ($\alpha_{O_2} = 0,024$ [$ml\ O_2 \cdot ml^{-1} \cdot atm^{-1}$] = Bunsen-Löslichkeitskoeffizient für Sauerstoff in wässriger Lösung bei 38 °C, $pO_{2(\text{art})}$, $pO_{2(\text{ven})}$ = koronararterieller bzw. koronarvenöser Sauerstoffpartialdruck [mmHg]; CBF = Koronardurchblutung [ml/min/100g])

Die Resultate werden als Mittelwerte \pm Standardabweichung vom Mittelwert dargestellt. Zur statistischen Auswertung der Meßwerte wurde ein IBM-kompatibler PC und das Programm SYSTAT verwendet [32]. Die Resultate wurden mit einer 1-Wege Varianzanalyse verglichen. Signifikante Änderungen gegenüber Kontrollbedingungen wurden über einen post-hoc Test (mit Korrektur nach Bonferroni) ermittelt. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ wurden Differenzen als signifikant bezeichnet.

3 ERGEBNISSE

3.1 Dosierungen

3.1.1 Dosisfindungsstudie Cilobradin

In einer früheren Dosisfindungsstudie [26] wurde eine Herzfrequenzreduktion in Abhängigkeit von der Cilobradin-Konzentration festgestellt. Die dosisabhängige Frequenzreduktion an isolierten Kaninchenherzen betrug 5 % (10^{-8} M), 14 % (10^{-7} M) und 25 % (10^{-6} M), wobei sich die Veränderungen der beiden höheren Konzentrationen gegenüber Placebo als signifikant erwiesen. Deshalb wurden die vorliegenden Experimente mit der effektivsten Dosierung von 10^{-6} M Cilobradin durchgeführt.

3.1.2 Referenzdosis von Verapamil

Um ein mit Cilobradin vergleichbares Ausmaß einer Bradykardie durch einen Ca^{2+} -Antagonisten (Verapamil) zu erzielen, wurde zunächst die erforderliche Dosierung gesucht. Es zeigte sich, daß eine Konzentration von 0,25 mg/kg zu einer ähnlichen Frequenzreduktion (ca. 20-30 %) führte. Daher wurde Verapamil in allen Experimenten in dieser Konzentration eingesetzt.

3.2 Hämodynamik

3.2.1 Herzfrequenz und Diastolendauer

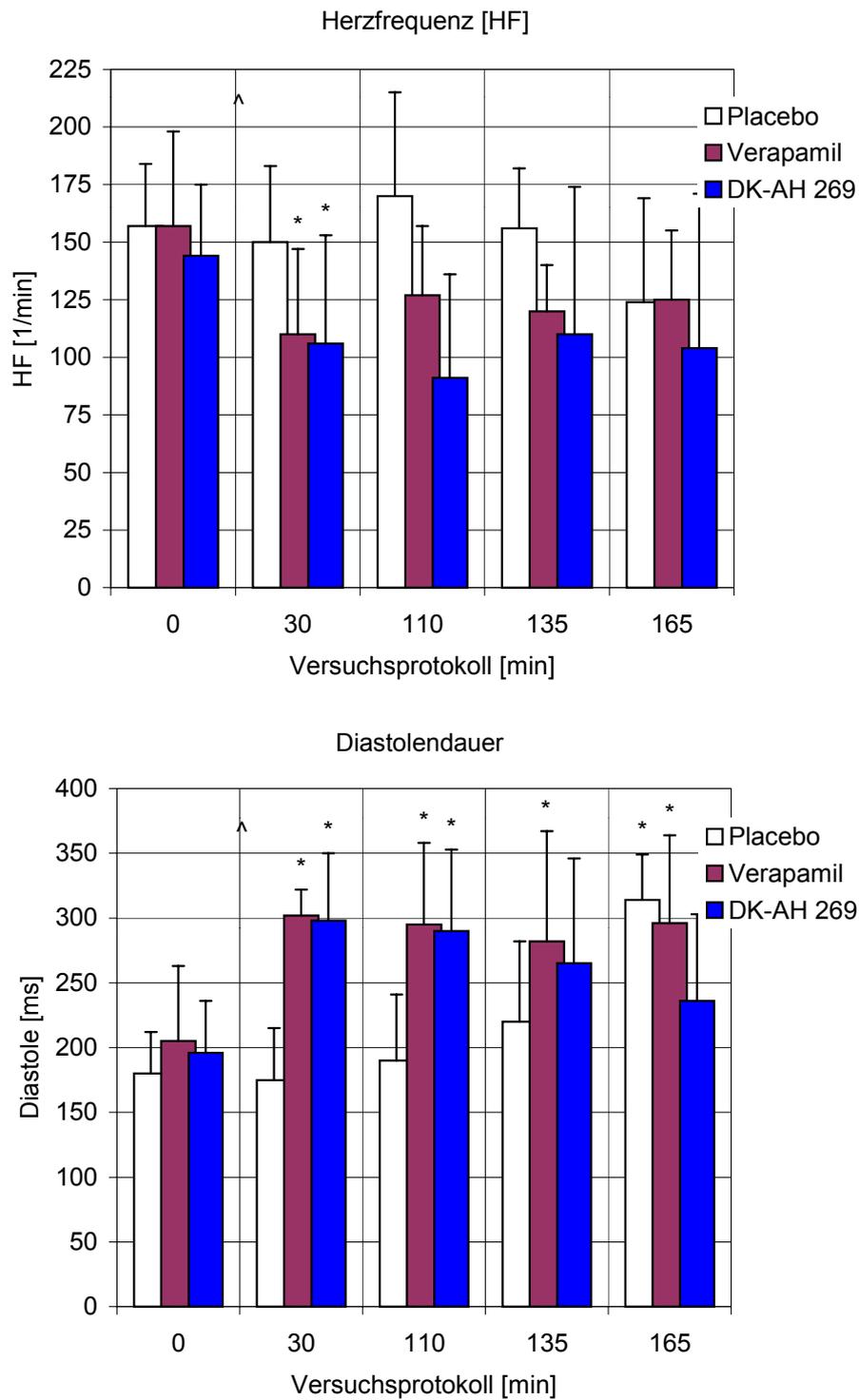


Abb. 5/6: Herzfrequenz [HF] und Diastolendauer. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für Placebo, Verapamil und Cilobradin (DK-AH 269). ^ = Substanzgabe; * = $p < 0,05$ vs 0 min. 0 = Kontrolle, 30 = Rekontrolle, 110 = 5 min Reperfusion, 135 = 30 min Reperfusion, 165 = 60 min Reperfusion.

In der Placebo-Gruppe war die Herzfrequenz [HF] nach 30 min nahezu unverändert (Abb. 5). Während der frühen Reperfusion (110 min) stieg sie minimal an, nahm später ab und lag nach 60 min Reperfusion (165 min) bei 79 % der Ausgangsfrequenz. Die angestrebte Senkung der HF nach Gabe von 0,25 mg/kg Verapamil und von 10^{-6} M Cilobradin (30 min) um 30 % bzw. 26 % wurde erreicht. Im weiteren Versuchsablauf änderte sich die HF nur unwesentlich. In der Verapamil-Gruppe betrug die HF zum Ende der Reperfusion (165 min) 80 % und in der Cilobradin-Gruppe 72 % der Ausgangsfrequenz. Bei annähernd gleicher Systolendauer veränderte sich die Länge der Diastole nahezu spiegelbildlich zu den Veränderungen der HF, d.h. die in allen drei Gruppen erfolgte HF-Reduktion im Laufe der Versuche wirkte sich umgekehrt proportional auf die Länge der Diastole aus (Abb. 6).

3.2.2 Systolische Funktion

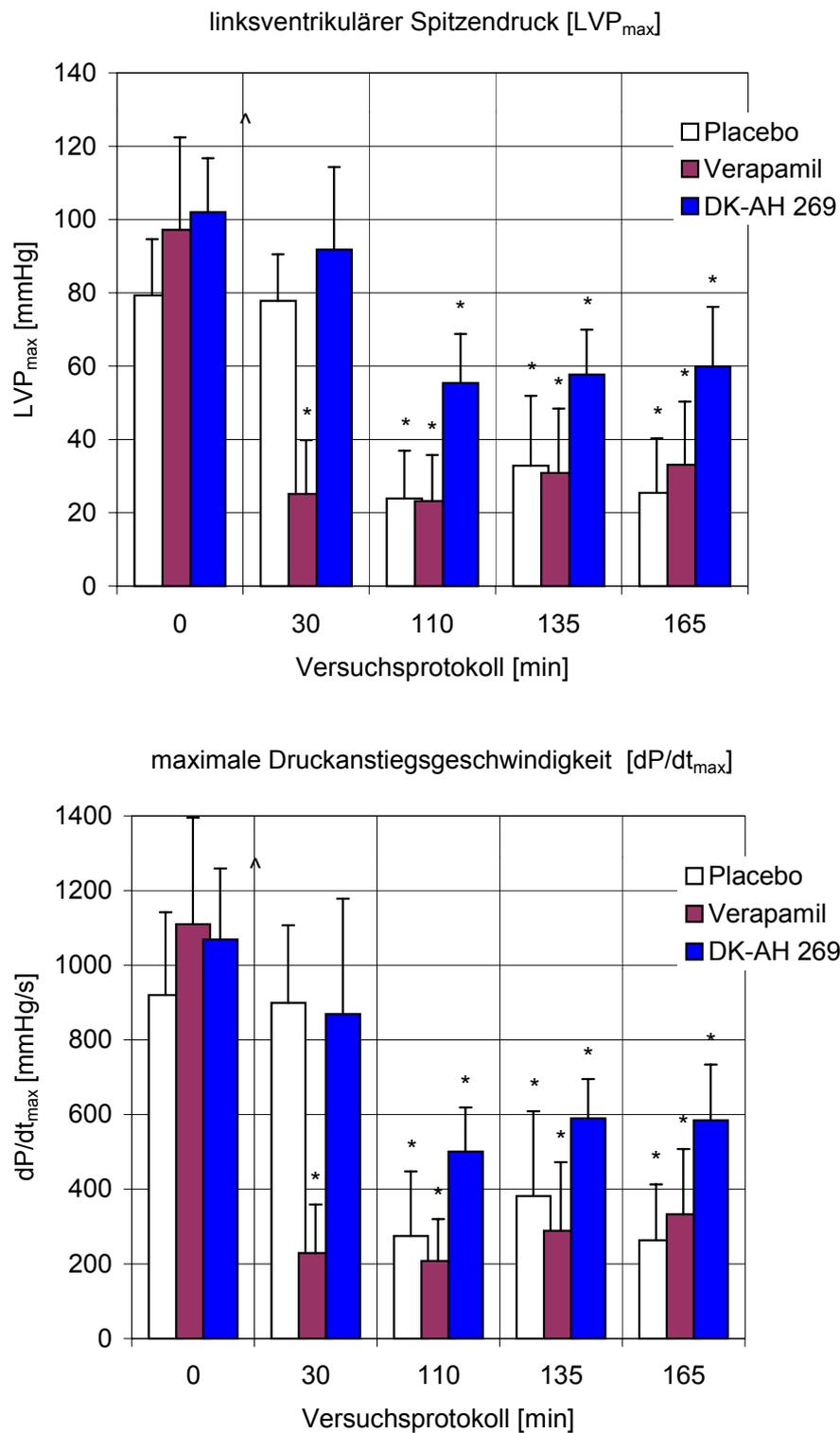


Abb. 7/8: Linksventrikulärer Spitzendruck [LVP_{max}] und maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit [dP/dt_{max}]. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für Placebo, Verapamil und Cilobradin (DK-AH 269). \wedge = Substanzgabe; * = $p < 0,05$ vs 0 min. 0 = Kontrolle, 30 = Rekontrolle, 110 = 5 min Reperfusion, 135 = 30 min Reperfusion, 165 = 60 min Reperfusion

Der linksventrikuläre Spitzendruck [LVP_{max}] zur Beurteilung der linksventrikulären Funktion und die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit [dP/dt_{max}] als Maß für die Kontraktilität verhielten sich während der Versuche relativ gleich (Abb. 7/8). In der Placebo-Gruppe führte die Gabe von 0,9 %iger Kochsalzlösung erwartungsgemäß zu keiner Änderung. Zu Beginn der Reperfusion (110 min) waren sowohl LVP_{max} als auch dP/dt_{max} signifikant auf etwa 30 % des Ausgangswertes abgefallen. Eine Erholung der Variablen im weiteren Verlauf fand nicht statt, so daß bis Versuchsende (165 min) die Werte bei 29 % bzw. 32 % des Ausgangswertes stagnierten. Nach Injektion von Verapamil kam es bereits vor der low-flow Ischämie zu einer rapiden Abnahme der systolischen Funktion. LVP_{max} war bereits zum Zeitpunkt der Rekontrolle (30 min) auf 26 % und dP/dt_{max} auf 21 % des Kontrollwertes abgefallen. Auch hier erholten sich die Herzen im weiteren Verlauf nur unwesentlich, aber stetig. Nach Injektion von Cilobradin kam es bei Rekontrolle (30 min) zu einer Reduktion von LVP_{max} auf 90 % und von dP/dt_{max} auf 81 % des Ausgangswertes. Die folgende low-flow Ischämie führte zu einem weiteren Einbruch beider Größen, allerdings fiel dieser im Vergleich zur Placebo- und Verapamil-Gruppe geringer aus. LVP_{max} und dP/dt_{max} betragen am Versuchsende nach 60 min Reperfusion (165 min) 59 % und 55 % des Kontrollwertes; sie waren damit nahezu doppelt so hoch wie bei den beiden anderen Gruppen.

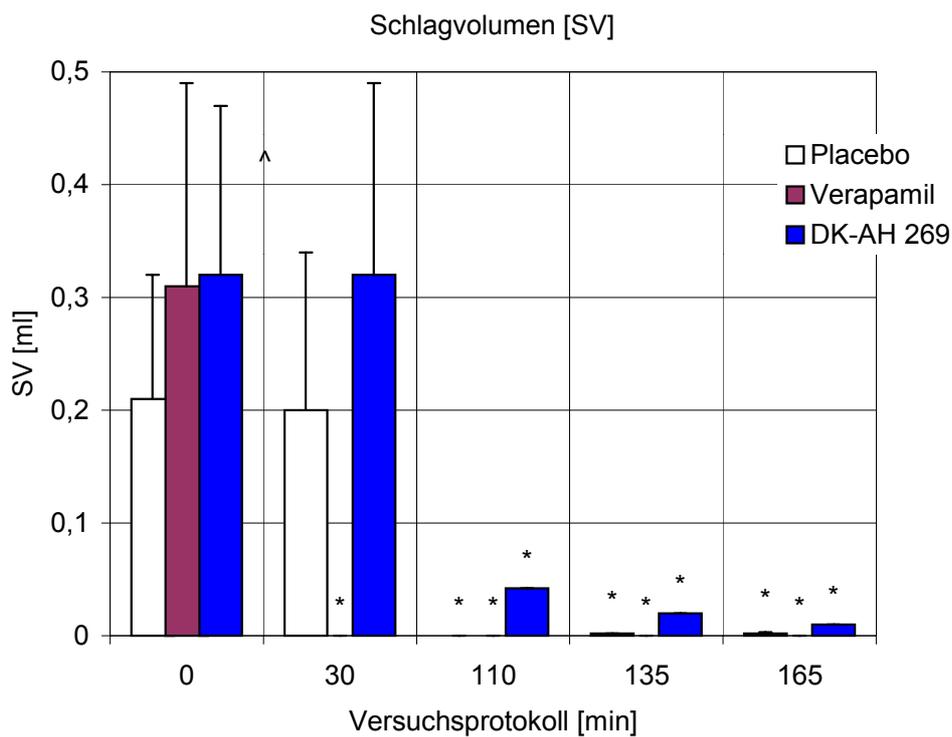
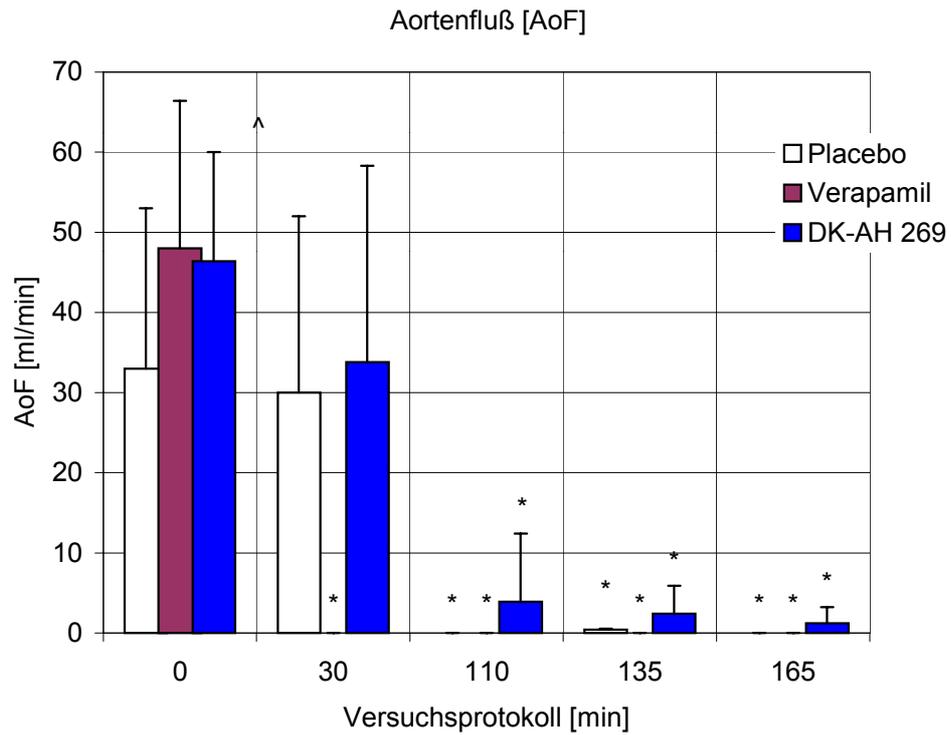


Abb. 9/10: Aortenfluß [AoF] und Schlagvolumen [SV]. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für Placebo, Verapamil und Cilobradin (DK-AH 269). ^ = Substanzgabe; * = $p < 0,05$ vs 0 min. 0 = Kontrolle, 30 = Rekontrolle, 110 = 5 min Reperfusion, 135 = 30 min Reperfusion, 165 = 60 min Reperfusion.

Die low-flow Ischämie führte zu einer erheblichen Einschränkung von Aortenfluß und Schlagvolumen in allen drei Gruppen (Abb. 9/10). Die beiden Variablen fielen in der Placebo-Gruppe unmittelbar nach low-flow Ischämie (110 min) gegen Null und erholten sich im weiteren Verlauf nicht. Nach Gabe von Verapamil (30 min) kam es im weiteren Verlauf zu einem völligen Sistieren der Auswurfleistung und daraus resultierenden isovolumetrischen Kontraktionen ohne Erholungstendenz. Im Gegensatz dazu reagierten die Herzen der Cilobradin-Gruppe mit einer nicht signifikanten Abnahme des AoF sowie einem unveränderten Schlagvolumen zum Zeitpunkt der Rekontrolle (30 min). Die Herzen dieser Gruppe erholten sich im Laufe der Reperfusion nur wenig.

3.2.3 Diastolische Funktion

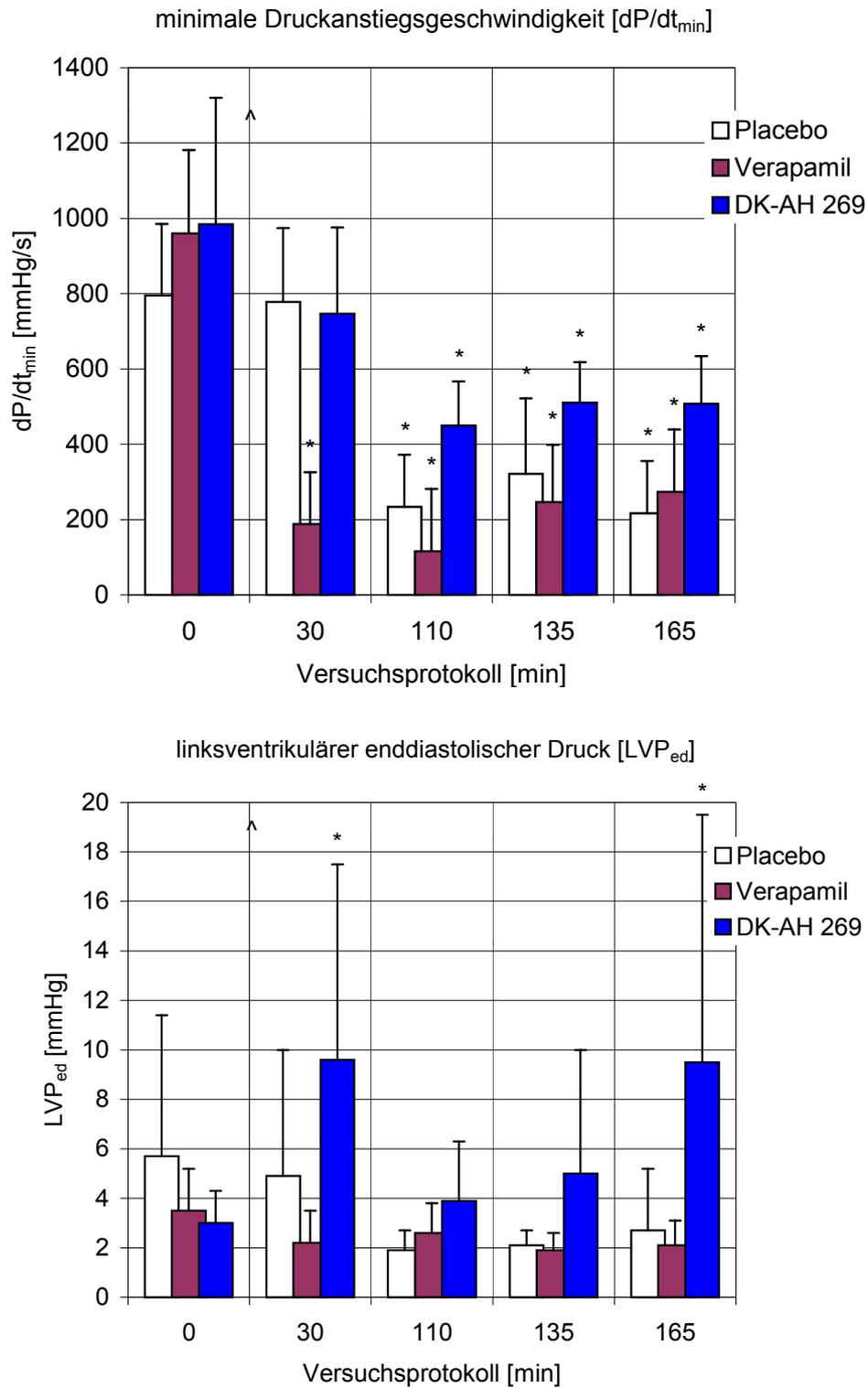


Abb. 11/12: Minimale Druckanstiegsgeschwindigkeit [dP/dt_{\min}] und linksventrikulärer enddiastolischer Druck [LVP_{ed}]. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für Placebo, Verapamil und Cilobradin (DK-AH 269). \wedge = Substanzgabe; * = $p < 0,05$ vs 0 min. 0 = Kontrolle, 30 = Rekontrolle, 110 = 5 min Reperfusion, 135 = 30 min Reperfusion, 165 = 60 min Reperfusion.

Die minimale Druckanstiegsgeschwindigkeit [dP/dt_{\min}], als Variable der frühen Relaxation, war in der Placebo-Gruppe nach der low-flow Ischämie (110 min) signifikant auf 29 % des Ausgangswertes verschlechtert und blieb bis zum Ende der Reperfusion (165 min) im wesentlichen unverändert (Abb. 11). Einen signifikanten Abfall von dP/dt_{\min} verursachte die Injektion von Verapamil; diese Größe fiel bei Rekontrolle (30 min) auf 20 % der Kontrolle ab. In der frühen Reperfusion (110 min) verschlechterte sich dP/dt_{\min} weiter und stieg danach kontinuierlich auf 29 % der Kontrolle an (165 min). Cilobradin bewirkte lediglich eine moderate Abnahme von dP/dt_{\min} . In der frühen Reperfusion (110 min) war dP/dt_{\min} signifikant auf 76 % des Ausgangswertes abgefallen und erholte sich im weiteren Verlauf nur unwesentlich.

Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVP_{ed}), die späte Relaxation widerspiegelnd, war in der Placebo-Gruppe zum Zeitpunkt der Rekontrolle (30 min) geringfügig auf 86 % des Ausgangswertes abgefallen, dann deutlicher auf 33 % nach low-flow Ischämie (110 min) (Abb. 12). Diese Größe stieg in der späten Reperfusion (165 min) wieder auf 47 % an. Diese Änderungen waren statistisch nicht signifikant. Verapamil führte zu einer geringen Abnahme des LVP_{ed} (30 min); diese Größe änderte sich während des restlichen Protokolls nur unwesentlich. Der LVP_{ed} stieg nach Injektion von Cilobradin signifikant auf den 3-fachen Wert an (30 min). Nach Ende der low-flow Ischämie war diese Variable wieder nahezu auf Ausgangsbedingung vermindert (110 min), erhöhte sich aber bis zur späten Reperfusion (165 min) erneut auf etwa das 3-fache des Ausgangswertes.

3.2.4 Gefäßtonus

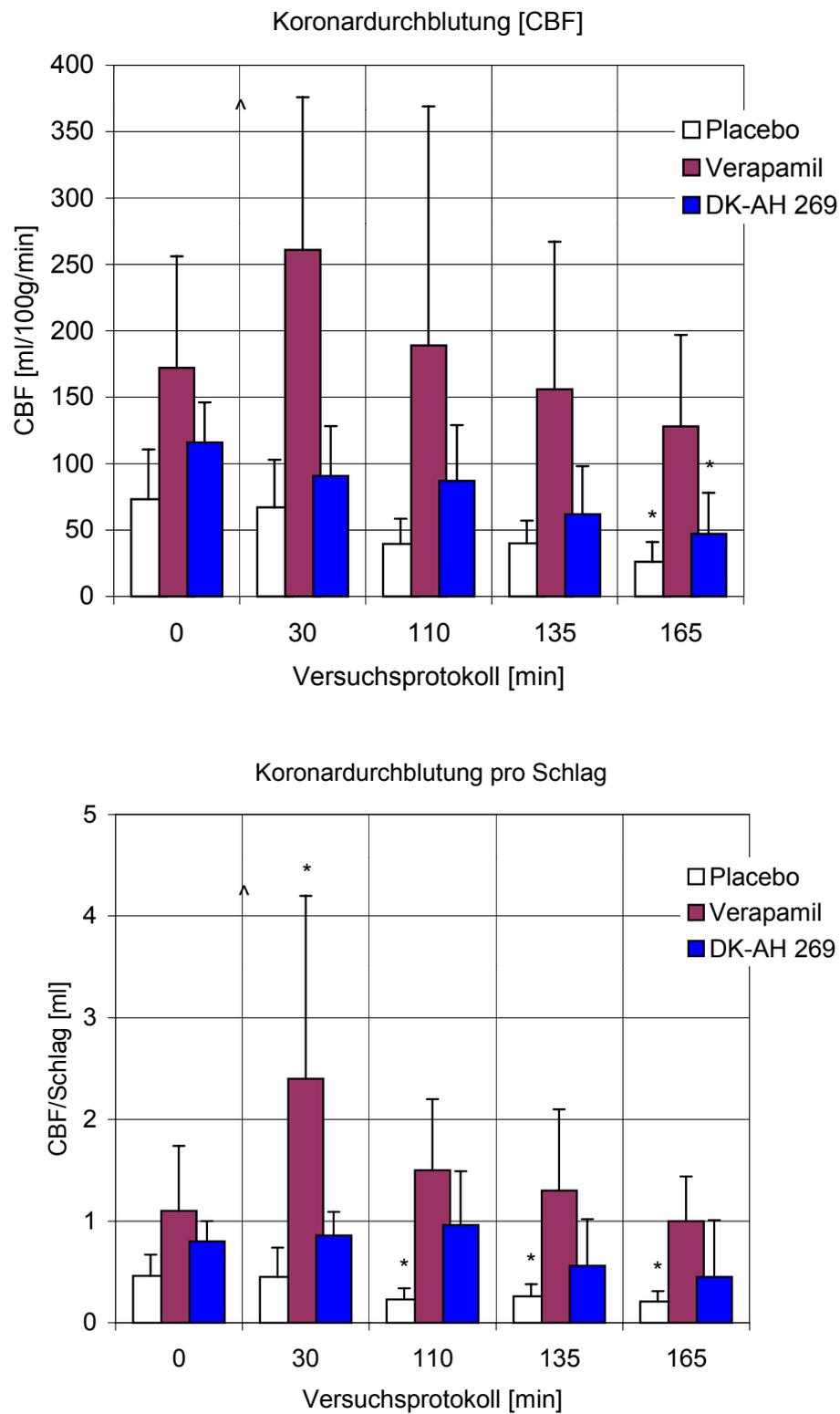


Abb. 13/14: Koronardurchblutung [CBF] und Koronardurchblutung pro Schlag. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für Placebo, Verapamil und Cilobradin (DK-AH 269). ^ = Substanzgabe; * = $p < 0,05$ vs 0 min. 0 = Kontrolle, 30 = Rekontrolle, 110 = 5 min Reperfusion, 135 = 30 min Reperfusion, 165 = 60 min Reperfusion.

Erwartungsgemäß waren die Koronardurchblutung [CBF] und die Koronardurchblutung pro Schlag [CBF/Schlag] in der Placebo-Gruppe zum Zeitpunkt der Rekontrollmessung (30 min) nahezu identisch mit den Anfangswerten (Abb. 13/14). Bis zum Versuchsende (165 min) sanken CBF und CBF/Schlag durch low-flow Ischämie und darauffolgende Reperfusion kontinuierlich und signifikant unter die Hälfte der Ausgangswerte ab. Nach Gabe von Verapamil (30 min) kam es hingegen zu einem deutlichen Anstieg der koronaren Durchblutung, der signifikant wurde, wenn er auf die HF bezogen wurde. Auch in dieser Gruppe resultierte aus low-flow Ischämie und Reperfusion ein kontinuierlicher Abfall der Koronarperfusion. Unter dem Einfluß von Cilobradin (30 min) war eine leichte, initiale Reduktion des CBF zu verzeichnen, aufgrund der damit verbundenen Bradykardie blieb der CBF/Schlag allerdings unverändert. Wie in den beiden vorangegangenen Gruppen verringerten sich die beiden Variablen auch in der Cilobradin-Gruppe in der anschließenden Reperfusion. Diese Abnahme wurde in der späten Reperfusion (165 min) für die Koronardurchblutung signifikant.

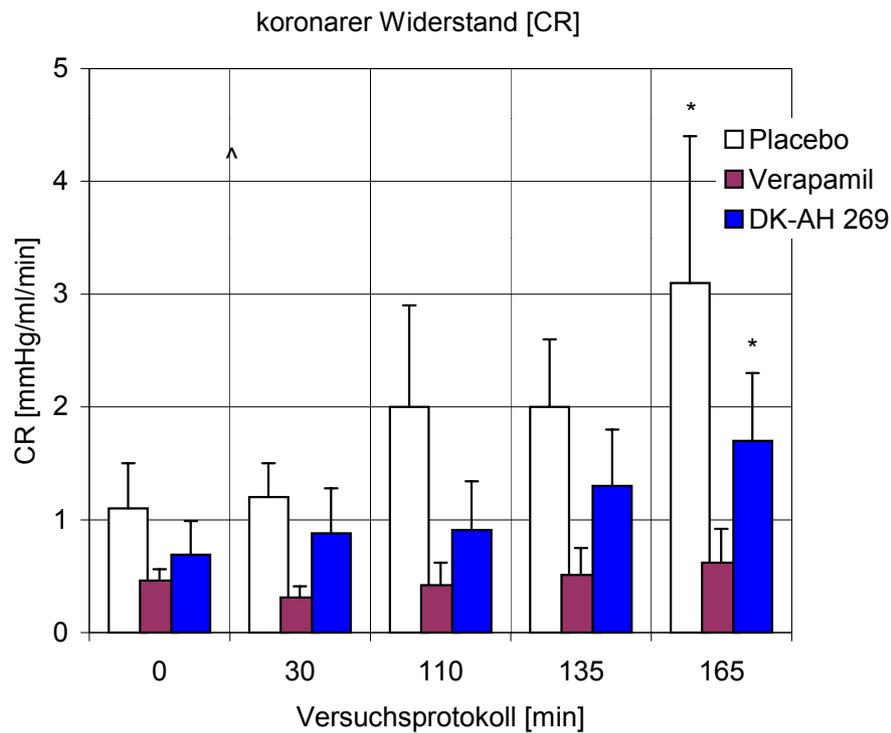


Abb. 15: Koronarer Widerstand [CR]. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für Placebo, Verapamil und Cilobradin (DK-AH 269). ^ = Substanzgabe; * = $p < 0,05$ vs 0 min. 0 = Kontrolle, 30 = Rekontrolle, 110 = 5 min Reperfusion, 135 = 30 min Reperfusion, 165 = 60 min Reperfusion.

Bei konstant gehaltenem Perfusionsdruck war das Verhalten des Koronarwiderstandes [CR] spiegelbildlich zur Koronardurchblutung (Abb. 15). In der Placebo-Gruppe stieg der Koronarwiderstand im Laufe des Protokolls kontinuierlich an. Die bekannte vasodilatierende Wirkung von Verapamil zeigte sich auch in unserem Modell an einem Widerstandsabfall auf 67 % der Ausgangswerte zum Zeitpunkt der Rekontrollmessung (30 min). Nach 60 min Reperfusion (165 min) war der Widerstand nur auf 135 % der Ausgangswerte angestiegen. Nach Cilobradin-Gabe (30 min) war CR geringfügig erhöht. Dieser Wert war auch in der frühen Reperfusion (110 min) unverändert, um im Verlauf der weiteren Reperfusion kontinuierlich anzusteigen. Der Anstieg auf 246 % nach 60 min Reperfusion (165 min) war signifikant.

3.3 Myokardstoffwechsel

3.3.1 O₂-Verbrauch

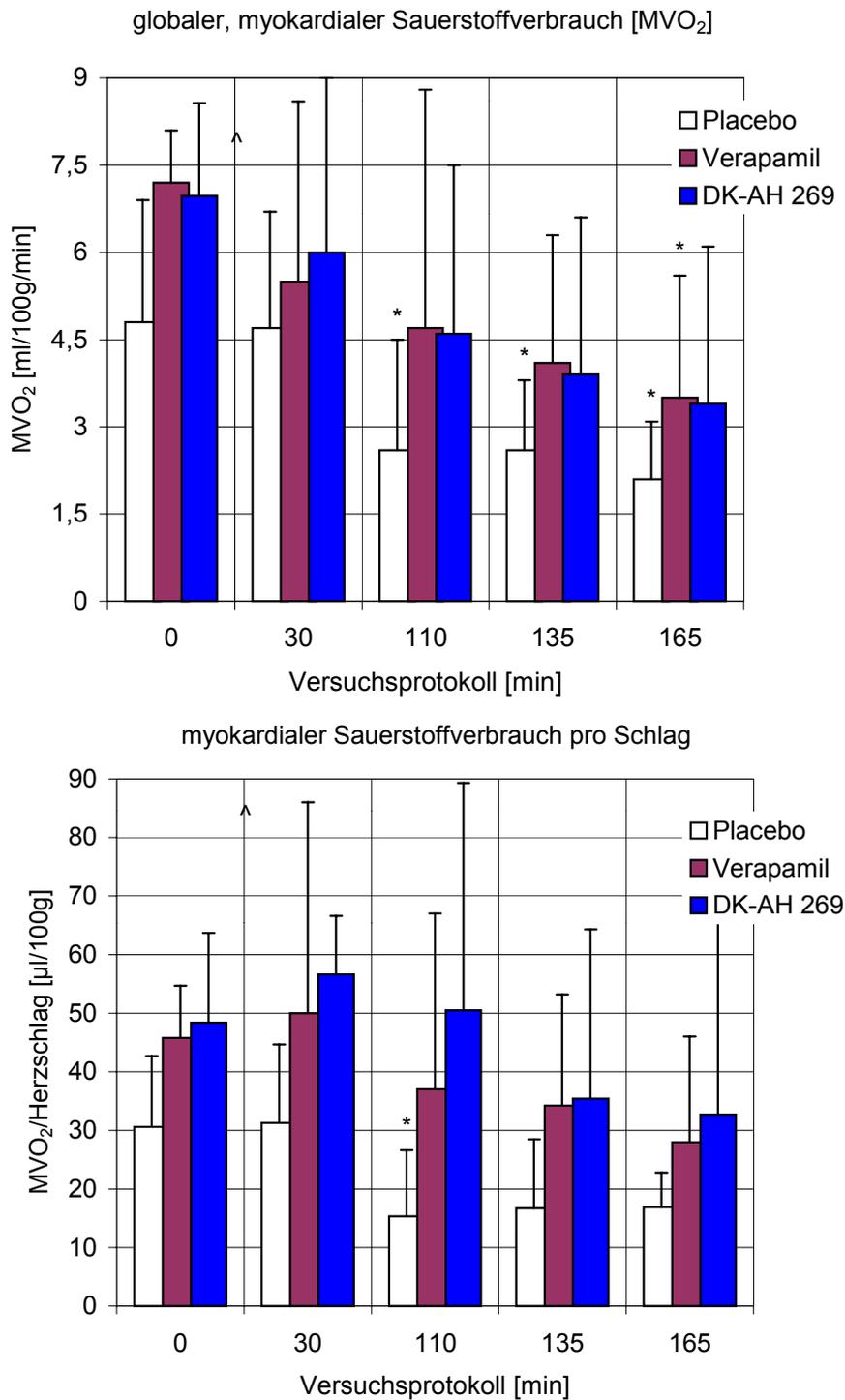


Abb. 16/17: Gesamtmyokardialer Sauerstoffverbrauch [$\dot{M}V_{O_2}$] und myokardialer Sauerstoffverbrauch pro Schlag. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für Placebo, Verapamil und Cilobradin (DK-AH 269). ^ = Substanzgabe; * = $p < 0,05$ vs 0 min. 0 = Kontrolle, 30 = Rekontrolle, 110 = 5 min Reperfusion, 135 = 30 min Reperfusion, 165 = 60 min Reperfusion.

Der globale myokardiale Sauerstoffverbrauch [$\dot{M}\dot{V}O_2$] und der myokardiale Sauerstoffverbrauch pro Schlag [$\dot{M}\dot{V}O_2/\text{Schlag}$] blieben in der Placebo-Gruppe bis zur low-flow Ischämie (30 min) unverändert (Abb. 16/17). Während der gesamten Reperfusion waren beide Größen deutlich verringert. Die Abnahme beim $\dot{M}\dot{V}O_2/\text{Schlag}$ war in der mittleren (135 min) und der späten Reperfusion (165 min) nicht signifikant. Nach Gabe der bradykarden Substanz Verapamil oder Cilobradin fiel der $\dot{M}\dot{V}O_2$ im Gegensatz zum $\dot{M}\dot{V}O_2/\text{Schlag}$ mit ansteigender Tendenz zum Zeitpunkt der Rekontrolle (30 min) ab. Nach low-flow Ischämie und Reperfusion reduzierten sich beide Variablen in den beiden anderen Gruppen kontinuierlich.

3.4 Postischämische Infarktgröße

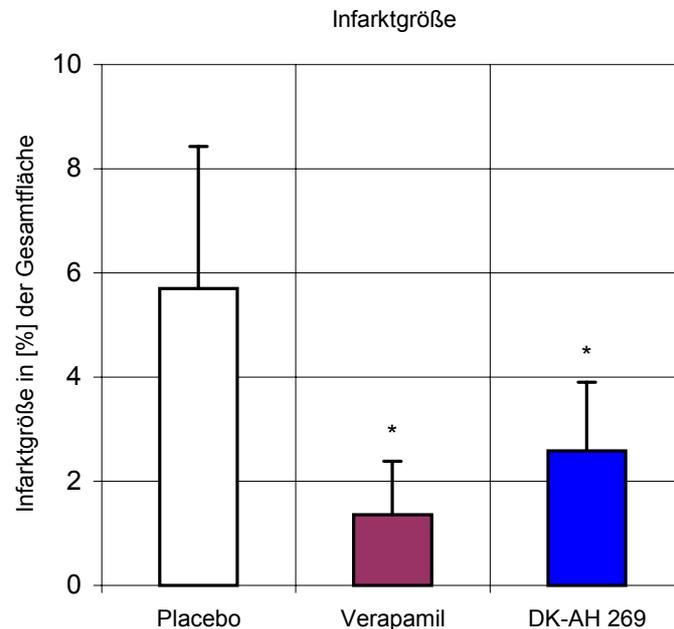


Abb. 18: Infarktgröße (postischämisch). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für Placebo, Verapamil und Cilobradin (DK-AH 269) nach 75-minütiger low-flow Ischämie (CBF=10 % des Ausgangsflows) und 60-minütiger Reperfusion; * = $p < 0,05$ vs 0 min.

Die Infarktgröße betrug in der Placebo-Gruppe ca. 6 % (Abb. 18). Sowohl nach Gabe von Verapamil als auch Cilobradin, war sie signifikant niedriger, wobei die Reduktion nach Verapamil stärker als nach Cilobradin war (n.s.).

4 DISKUSSION

4.1 Hintergründe

In Experimenten an isolierten, Blut-perfundierten Kaninchenherzen führte eine neuere spezifisch bradykarde Substanz (Cilobradin, DK-AH 269) zu einer Senkung der Herzfrequenz um 26 %. In einer Vergleichsgruppe senkte ein Ca^{2+} -Antagonist (Verapamil, Isoptin) die Herzfrequenz um 30 %. Es war das Ziel der vorliegenden Studie herauszufinden, ob diese bradykarde Substanz für das postischämisch reperfundierte Herz Vorteile gegenüber Verapamil aufweist. Das besondere Augenmerk lag auf einer eventuellen Infarktgrößenreduktion. Beide Substanzen führten zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße verglichen mit der Placebo-Gruppe; Cilobradin erbrachte funktionelle Vorteile gegenüber Verapamil.

4.1.1 Koronare Herzkrankheit

Ein akutes Koronarsyndrom [33], ein Synonym für instabile Angina pectoris und akuten Myokardinfarkt aufgrund von Gemeinsamkeiten hinsichtlich Pathophysiologie (Plaqueruptur, Thrombusentstehung) und Therapie (präklinische Erstversorgung, sofortige Intensivtherapie, antiaggregatorische und antikoagulatorische Substanzen, ggfs. perkutane transluminale koronare Angioplastie [PTCA]), beruht häufig auf einer Atherosklerose epikardialer Koronarien. Die koronare Herzkrankheit ist durch eine Koronarinsuffizienz, d.h. ein Mißverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und -angebot gekennzeichnet [1;34;35]. Folge eines solchen Mißverhältnisses, also einer akuten koronaren Ischämie, ist die sog. ischämische Kaskade [33]. Sie führt zunächst zu

einer eingeschränkten myokardialen Relaxation (diastolische Dysfunktion, steigender LVP_{ed}). Bei Fortbestehen der Ischämie folgen die Einschränkung der systolischen Pumpfunktion, ST-Strecken-Senkungen im Elektrokardiogramm und Angina-pectoris-Beschwerden. Der Therapieansatz bei koronarer Herzkrankheit ist die Verbesserung oder Beseitigung des Mißverhältnisses zwischen Sauerstoffbedarf und -angebot, welches primär durch eine verbesserte Koronarperfusion erzielt werden kann. Da die Koronardurchblutung durch die Länge der Diastole wesentlich mitbestimmt wird [36;37], sollte eine Senkung der Herzfrequenz mit einer verlängerten Diastole die myokardiale Durchblutung steigern. Damit sich das Verhältnis des myokardialen Sauerstoffangebotes zum -verbrauch auch wirklich durch die Zunahme der Diastolendauer verbessert, sollte die bradykarde Substanz keine inotropen Nebenwirkungen aufweisen [23]; der kontraktile Zustand sollte weder verbessert noch verschlechtert sein, da sonst der Sauerstoffbedarf steigen bzw. die bereits eingeschränkte ventrikuläre Funktion vermindert würde [38]. Somit sollte die Senkung der Herzfrequenz den myokardialen Sauerstoffverbrauch reduzieren.

Spezifisch bradykarde Substanzen sind als neuerer therapeutischer Ansatz von besonderem Interesse, da sie oben genannten Vorstellungen weitestgehend entsprechen. Von allen bisher bekannten spezifisch bradykarden Substanzen sind die Effekte von Zatebradin (UL-FS 49) am detailliertesten untersucht worden. Die Ergebnisse in Bezug auf die inotropen Effekte sind kontrovers und hängen scheinbar vom experimentellen Modell ab [9;23;39]. Es wurden in manchen Studien negativ inotrope [40;41], positiv inotrope, und gar keine Effekte hinsichtlich Inotropie gefunden [15;23;42]. Beim chemisch verwandten Cilobradin konnte in früheren Studien der Nachweis einer Herzfrequenzreduktion und eines verminderten

Sauerstoffbedarfs ohne deutliche Beeinflussung der kontraktilen Funktion erbracht werden [26].

Nachteile der bisherigen Behandlung ischämischer Herzerkrankungen, die bei einer Reihe von etablierten medikamentösen Therapieverfahren existieren, werden im folgenden aufgeführt. Das oberste Therapieziel ist ein umfassender Ischämieschutz für den Patienten. Deshalb sind z.Zt. der Einsatz und die suffiziente Kombination von Antianginosa (Nitropräparat, β -Rezeptorenblocker und Ca^{2+} -Antagonist [43;44]) die Säulen der antiischämischen Therapie.

Die Wirkung von Nitroglyzerin beruht hinsichtlich der Hämodynamik und der Ventrikelmechanik auf einer Abnahme der Druck-Volumenarbeit über eine Senkung der Vor- und Nachlast [45]. Die dadurch verringerte Wandspannung führt zu einer Abnahme des Sauerstoffbedarfs und des Koronarwiderstandes. Trotzdem wird die Koronardurchblutung aufgrund autoregulatorischer Prozesse nicht verbessert [46]. Nur die größeren Koronararterien können durch Nitropräparate erweitert werden, während die Widerstandsgefäße weitgehend unverändert bleiben [43]. Aus energetischer Sicht erweisen sich insbesondere die positiv inotrope und positiv chronotrope Wirkung der Nitrate als nachteilig [44], da auf diesem Wege der myokardiale O_2 -Bedarf zunehmen kann.

Der Wirkungsmechanismus der β -Blocker besteht nicht, wie der Name sagt, in einer Blockade der β -Rezeptoren, sondern in einer reversiblen, kompetitiven Hemmung; d.h. der annähernd gleich strukturierte β -Blocker nimmt aufgrund der höheren Konzentrations-Wirkungs-Beziehung den Platz des β -Rezeptoren-Stimulators am Rezeptor ein und vermindert so die Wirkung des β -Sympathomimetikums. Die antianginöse Wirkung der β -Sympatholytika besteht v.a. in einer Senkung des β -adrenerg gesteuerten O_2 -Verbrauches: Durch die Verminderung der Herzfrequenz

nimmt die Herzarbeit und damit der O_2 -Bedarf ab. Zusätzlich wird der periphere Widerstand vermindert und damit die Druckbelastung des linken Ventrikels herabgesetzt [43]. Die verminderte Kontraktilität [47] erweist sich aus energetischer Sicht zwar als Vorteil, für das vorgeschädigte Herz kann diese Funktionsminderung aber nachteilig sein. Aus diesem Grund ist der Einsatz von β -blockierenden Substanzen, z.B. zur Therapie von tachykarden Rhythmusstörungen in der frühpostoperativen Phase nach kardiochirurgischen Eingriffen auch problematisch (s.u.).

Die Ca^{2+} -Antagonisten schließlich hemmen den Einstrom von Ca^{2+} -Ionen aus dem Extrazellularraum in die Kardiomyozyten und die glatten Gefäßmuskelzellen. Über die Dilatation der peripheren Gefäße werden Nachlast und Wandspannung gesenkt und damit der O_2 -Verbrauch gemindert. Zugleich wird bei morphologisch intakten Koronargefäßen die Durchblutung verbessert und damit das O_2 -Angebot erhöht. Da der Zusammenschluß von Actin und Myosin gehemmt und damit die Verkürzung der Herzmuskelfaser vermindert wird, ist die kontraktile Funktion beeinträchtigt [43], die im Zusammenhang mit der Nachlastsenkung und der daraus resultierenden Minderung des koronararteriellen Druckes für das Myokard unter ischämischen Bedingungen nachteilig sein kann [4]. Der Einsatz von Ca^{2+} -Antagonisten vom Dihydropyridin-Typ ist möglicherweise eingeschränkt, da diese eine Kombination von zu rasch verursachtem Blutdruckabfall (= verminderte O_2 -Zufuhr) und reflektorisch gekoppeltem Frequenzanstieg (= erhöhter O_2 -Verbrauch) auslösen. Zusammenfassend sei noch erwähnt, daß Nitrate und Ca^{2+} -Antagonisten symptomatisch wirken, eine Verbesserung der Prognose besteht nicht. β -Blocker führen neben der anti-anginösen Wirkung zu einer Senkung von Re-Infarkt-Rate, Morbidität und Mortalität [33].

4.1.2 Tachykarde Herzrhythmusstörungen

Die Tachykardie ist eine Reaktion auf die verschiedensten physiologischen (körperliche Belastung, emotionaler Stress) und pathophysiologischen (Anämie, Hypoxämie) Veränderungen. Besonders die Sinustachykardie, die über das autonome Nervensystem vermittelt wird, ist auf eine gesteigerte adrenerge Stimulation zurückzuführen [48]. Die zunehmende Herzfrequenz führt zwar zu einer verbesserten Auswurfleistung, verläuft aber parallel zu einem Anstieg des myokardialen Sauerstoffbedarfes mit einer Verringerung der Relaxations- und der diastolischen Füllungszeit. Substanzen wie z.B. β -Blocker und Ca^{2+} -Antagonisten werden daher klinisch eingesetzt, weil sie solche Tachykardien beheben können [49].

Die Auslösung einer Tachykardie stellt häufig einen unerwünschten Nebeneffekt für eine Reihe von Arzneimitteln dar (z.B. Theophyllin, Hydralazin, Phosphodiesterase-Inhibitoren) und limitiert deshalb deren Einsatz in der Klinik. Perioperative, Katecholamin-induzierte Tachykardien [50], ebenso wie frühpostoperative Tachykardien stellen Kliniker vor schwerwiegende Probleme. Die erfolgreiche Therapie solcher unerwünschter Tachyarrhythmien, z.B. mit Ca^{2+} -Antagonisten, geht leider häufig mit einer deutlich negativen Inotropie einher, so daß Patienten mit einer verminderten linksventrikulären Funktion dieser Therapie nur eingeschränkt zugänglich sind [51].

Somit sind tachykarde Herzrhythmusstörungen, die momentan die deutlichsten Marker und Vorboten tödlich endender Ereignisse von akutem Herzversagen und Myokardinfarkten sind [52], ein vielversprechendes neues Einsatzgebiet für spezifisch bradykarde Substanzen, weil sie v.a. diese Art der Rhythmusstörung günstig beeinflussen können.

4.1.3 Weitere Einsatzmöglichkeiten spezifisch bradykarder Substanzen

Der Einsatz von spezifisch bradykarden Substanzen stellt einen klinisch interessanten Aspekt für mikrochirurgische Koronargefäßoperationen am schlagenden Herzen ohne Herz-Lungen-Maschine dar [53;56;55]. Die exakte Durchführung distaler Koronargefäßanastomosen bei schlagendem Herzen ist nicht einfach. Diesem Problem kann durch mechanische Stabilisierung mittels Sogwirkung [54], durch Vorrichtungen, die mit Druck arbeiten, oder mit pharmakologischen Substanzen durch induzierte Bradykardie [27] entgegengewirkt werden. Spezifisch bradykarde Substanzen könnten wegen der Herzfrequenzreduktion und der geringen Nebenwirkungen bzgl. der Inotropie das operative Vorgehen vereinfachen helfen.

In diesem Sinne ist auch die Auslösung einer Bradykardie durch elektrische Stimulation parasymphischer, den Sinusknoten innervierender Nerven Gegenstand momentaner experimenteller Forschung. In Tierexperimenten konnte so die Herzfrequenz signifikant gesenkt werden [55;56]. Hieraus läßt sich ableiten, daß die Idee der selektiven Herzfrequenzreduktion, ob elektrophysiologisch oder pharmakologisch offensichtlich von Interesse ist.

Spezifisch bradykarde Substanzen helfen andererseits unerwünschte Tachykardien in Experimenten zu reduzieren und die Handhabung und Datenerhebung von Versuchen zu erleichtern. Das gilt z.B. für den Fall, daß bildgebende Verfahren mit geringer zeitlicher Auflösung an hochfrequent schlagenden Herzen, wie sie z.B. bei der Ratte vorkommen, nur sehr begrenzt eingesetzt werden können.

4.1.4 Wirkmechanismus von Cilobradin

Bei Cilobradin (s. Abb. 19) handelt es sich um eine Substanz, die über den Sinusknoten die Herzfrequenz reduziert und zu keiner relevanten Beeinflussung anderer hämodynamisch wirksamer Variablen führt [26;27;57]. Sie gehört zur Gruppe der spezifisch bradykarden Substanzen, die sich von zwei strukturell unterschiedlichen, chemischen Gruppen ableitet: den N-substituierten Imidazolin-Derivaten (Alinidin-Typ) und den Benzolactam-Derivaten (Falipamil-Typ) [17]. Der Wirkmechanismus des Cilobradin am Sinusknoten beruht v. a. auf einer Beeinflussung sogenannter I_f -Kanäle. Diese unspezifischen Kationenkanäle (cAMP-abhängige Na^+/K^+ -Kanäle) werden durch Repolarisation aktiviert und erzeugen im Potentialbereich der spontanen, langsamen diastolischen Depolarisation vorwiegend einen Na^+ -Einwärtstrom (Schrittmacherstrom) am ventrikulären Erregungsleitungssystem. Die besondere Bedeutung der I_f -Kanäle für die Schrittmacherfunktion liegt u.a. darin, daß sowohl β -adrenerge als auch muskarinerge Effekte auf die Herzfrequenz über die Modulation dieser Kanäle vermittelt werden [58]. Cilobradin ist ein hochselektiver und potenter Blocker der I_f -Kanäle [57] und bewirkt eine anwendungs- und spannungsabhängige Blockade. Obwohl die I_f -Kanäle wahrscheinlich eine besondere Bedeutung für die Schrittmacherfunktion und die autonome Modulation des Sinusknotens haben, wird diese Funktion auch durch diverse andere Kanäle beeinflusst, denn selbst eine komplette Blockade des I_f -Kanals kann sie nicht völlig außer Kraft setzen [58]. Die unterschiedliche Wirkung des Cilobradin in Abhängigkeit von der Art der Anwendung wird dadurch belegt, daß die I_f -Kanal-Blockade langsam beginnt, wenn die Zellen bei einer niedrigen Herzfrequenz spontan depolarisiert sind. Umgekehrt tritt die Wirkung rascher ein, wenn bei einer erhöhten Herzfrequenz eine künstliche Depolarisation vorliegt. Im Extremfall, wenn isolierte Sinusknotenzellen mit

einer Substanz behandelt werden, die eine spontane Depolarisation verhindert (z.B. Acetylcholin), findet eine I_f -Kanal-Blockade nicht statt. Der normale Zyklus von Depolarisation und Repolarisation des Sinusknotens ist somit eine wesentliche Voraussetzung für eine Cilobradin-induzierte Wirkung. Darüber hinaus bedingt der Ablauf der spontanen Depolarisation nicht nur den Wirkungsbeginn der Substanz, sondern auch die Auswaschkinetik [24;25]. Neben der Art der Anwendung bestimmt das vorliegende Spannungspotential die blockierende Wirkung des Cilobradin. Sie tritt nur dann ein, wenn die Zellen ausreichend hyperpolarisiert sind. Die I_f -Kanäle sind nur dann in ihrer „offenen Konfiguration“, wenn das transmembranöse Potential ausreichend negativ ist. Nur unter dieser Bedingung kann eine Wirkung des Cilobradin erwartet werden. Wenn hingegen das Membranpotential neutral oder depolarisiert ist, sind diese I_f -Kanäle „geschlossen“ [58].

Cilobradin hat keinen Einfluß auf die K^+ -Kanäle vom L-Typ, die Affinität zu I_f -Kanälen ist ca. 1000 mal stärker als zu den Ca^{2+} -Kanälen [57]. Diese Tatsache wird auch dadurch bestätigt, daß der Dosisbereich von Cilobradin relativ groß ist, innerhalb dessen eine selektive Reduktion der Herzfrequenz ohne blockierenden Effekt auf die Ca^{2+} -Kanäle erreicht werden kann, d.h. ohne verminderte myokardiale Kontraktilität und systemische Vasodilatation. Dies ist um so bemerkenswerter, als eine große strukturelle Ähnlichkeit zum Verapamil, einem klassischen Ca^{2+} -Antagonisten, besteht. Der Effekt des Cilobradin auf die Ca^{2+} -Kanäle vom S-Typ wurde bisher nicht untersucht. Am Zatebradin (UL-FS 49), einer Vorgängersubstanz des Cilobradin, konnte gezeigt werden, daß die Blockade der I_f -Kanäle offenbar nur möglich ist, wenn die Substanz intrazellulär wirkt, ein Zusatz zu extrazellulären Flüssigkeiten bleibt daher ohne entsprechende Wirkung. Für das chemisch eng verwandte Cilobradin ist ein ähnlicher Mechanismus anzunehmen; experimentelle Unter-

suchungen liegen allerdings nicht vor. Cilobradin existiert in einem pH-abhängigen Gleichgewicht zwischen einer positiv geladenen und einer neutralen Form. Nur die neutrale Form kann die Zellmembran der Sinusknotenzellen passieren und dann nach intrazellulärer Protonisierung seine Wirkung an den I_f -Kanälen entfalten [24;25].

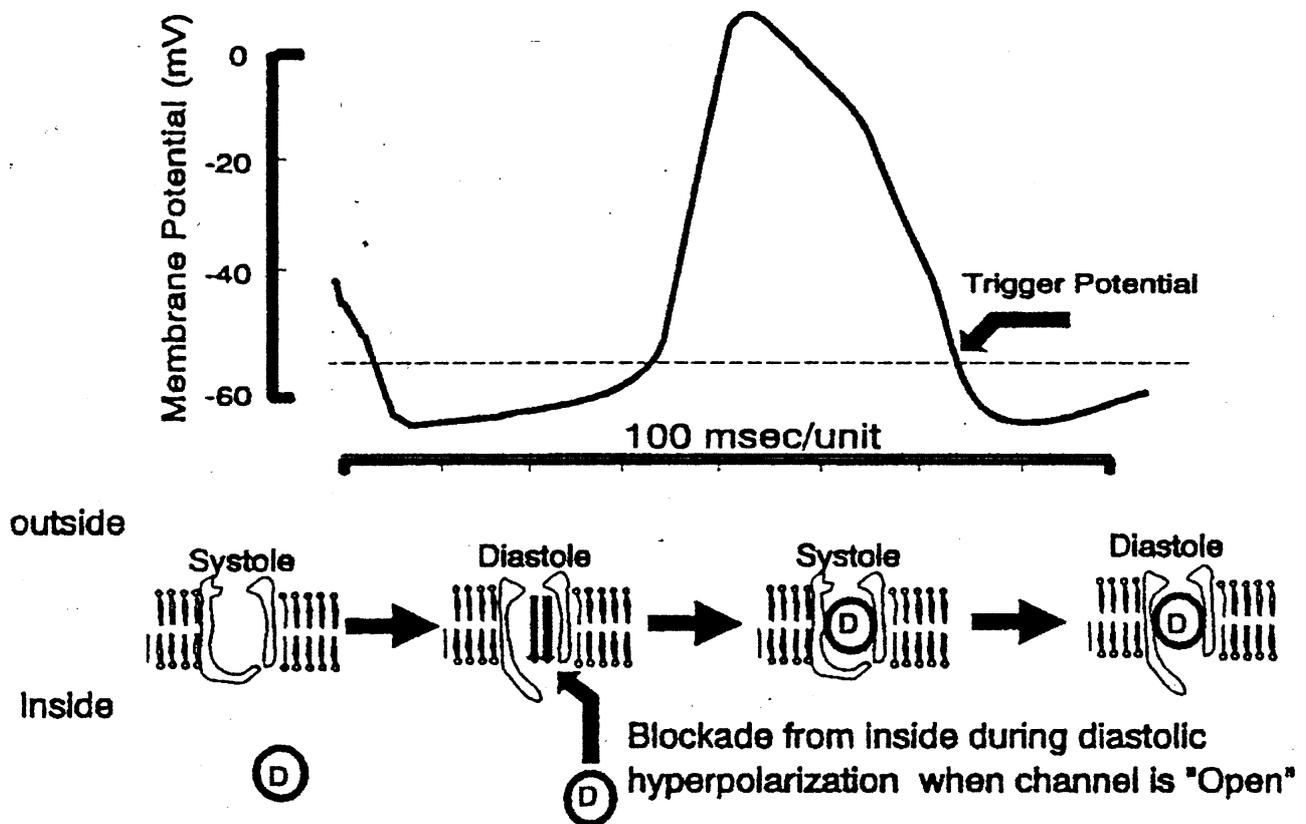


Abb. 19: Die Konfiguration des I_f -Kanals ist spannungsabhängig (Öffnung bei Hyperpolarisation in der Diastole. Schließung bei Depolarisation in der Systole), so daß Cilobradin (DK-AH 269) (D) nur während der Hyperpolarisation an die innere Membranoberfläche gebunden werden kann (Abb. mit freundlicher Genehmigung der Firma Dr. Karl Thomae GmbH).

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Hämodynamik

4.2.1.1 Herzfrequenz und Diastolendauer

Tab. 1: Senkung der Herzfrequenz durch spezifisch bradykarde Substanzen. Die Senkung der Herzfrequenz ist die am einheitlichsten beurteilte und dokumentierte Wirkung spezifisch bradykarder Substanzen. Das Ausmaß der Bradykardie ist abhängig von Substanz, Dosierung, Spezies und experimentellem Modell.

Autor	Jahr	Substanz	Dosierung	Spezies	Exp. Modell	HF-Red.	Literatur
Skarvan	1987	Alinidin	10 mg	Mensch	Postoperativ	12 %	[50]
Gombotz	1988	Alinidin	0,6 mg/kg	Mensch	Intraoperativ	18 %	[59]
Schad	1991	Alinidin	2 mg/kg	Hund	Akut	33 %	[60]
Schipke	1991	UL-FS 49	1 mg/kg	Kaninchen	Isoliert	11 %	[4]
Preiser	1992	Alinidin	1 mg/kg	Hund	Akut	12 %	[61]
O'Brien	1992	UL-FS 49	0,25 mg/kg	Hund	Akut	32 %	[91]
v. Woerkens	1992	UL-FS 49	0,44 mg	Schwein	Akut	25 %	[71]
Guth	1992	DK-AH 269	0,3 mg/kg	Schwein	Akut	21 %	[24]
Guth	1992	DK-AH 269	10 ⁻⁶ M	Schwein	Isol. Atrium	32 %	[25]
Breall	1993	UL-FS 49	0,975 mg	Schwein	Isoliert	31 %	[49]
Bril	1994	UL-FS 49	0,75 mg/kg	Kaninchen	Akut	35 %	[62]
Frishmann	1995	UL-FS 49	10 mg	Mensch	Probanden	16 %	[22]
Schulz	1995	UL-FS 49	0,6 mg/kg	Schwein	Akut	27 %	[9]
Boucher	1995	Alinidin	4 mg/kg	Hund	Akut	43 %	[63]
Leitch	1995	ZD 7288	0,64 µm	Meerschw./Kaninchen	Isoliert	53 %/38 %	[64]
Ryu	1996	UL-FS 49	0,75 mg/kg	Kaninchen	Chronisch	25 %	[39]
Granetzny	1996	DK-AH 269	10 ⁻⁶ M	Kaninchen (NZW)	Isoliert	25 %	[26]
Hu	1997	UL-FS 49	100 mg/kg	Ratte	Chronisch	30 %	[74]
Granetzny	1998	DK-AH 269	10 ⁻⁶ M	Kaninchen (NZW)	Isoliert	23 %	[27]
Mangin	1998	S-16257	2mg/kg	Ratte	Akut	29 %	[65]
Ragueneau	1998	S-16257	10 mg	Mensch	Probanden	19 %	[70]
Mitrovic	1998	KC 8857	0,3 mg/kg	Mensch	Probanden	13 %	[66]
Schlack	1998	ZD 7288	0,7 mg/kg	Hund	Akut	29 %	[69]

Die Herzfrequenz (HF) blieb während des gesamten Protokolls in der Placebo-Gruppe, abgesehen von einer nicht signifikanten Abnahme, konstant. Dieser Befund ist in guter Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen an isolierten Kaninchenherzen [67;68]. Der von uns gezeigte Effekt auf die Herzfrequenz mit einer max. Abnahme auf 74 % der Ausgangsfrequenz nach 10^{-6} M Cilobradin entspricht bisher publizierten Daten, die an verschiedenen Tiermodellen und mit verschiedenen bradykarden Substanzen, wie z.B. Zatebradin [4;15] oder Alinidin [19;60;69], gewonnen wurden, und bei denen die Herzfrequenz zwischen 11 % [23] und 30 % [4] reduziert wurde (s. auch Tab. 1). Eine Dosisfindungsstudie bei gleichem Modell, gleicher Substanz und gleicher Dosierung ergab nahezu identische Werte [26]. Beim Menschen führten bradykarde Substanzen nicht zu eindeutigen Herzfrequenzsenkungen, sie variierten zwischen 12 % [50] und 19 % [70], was in einem vergleichbaren Rahmen zu dem steht, was von β -Blockern berichtet wird [7;8]. Die Herzfrequenzreduktion nach Gabe von Verapamil war signifikant, und die konstante Herzfrequenz bei dieser Substanz und bei Cilobradin während der Reperfusionphase, bezogen auf den Wert nach Substanzgabe, legt die Vermutung nahe, daß eine low-flow Ischämie bis zu 75 min nur einen geringen Einfluß auf die Herzfrequenz hat.

Da die Systolendauer bei Induktion einer Bradykardie im wesentlichen unverändert bleibt, zeigt sich für Herzfrequenz und Diastolendauer ein spiegelbildliches Verhalten, das bei Abnahme der Herzfrequenz zu einer verlängerten Diastole führt. Dies hat sowohl eine verbesserte ventrikuläre Füllung als auch eine bessere koronare Durchblutung zur Folge. Diese Effekte wurden in anderen Studien bestätigt [71;72], allerdings wurde auch eine gering verlängerte Systole bei ebenfalls tendentiell verkürzter Diastole in der Reperfusionphase beschrieben [73].

4.2.1.2 Systolische Funktion

Verapamil oder Cilobradin in einer Konzentration, die die Herzfrequenz um ein vergleichbares Maß senkte, verschlechterten die systolische Funktion in der Verapamil-Gruppe dramatisch und bei Cilobradin moderat. Eine derart hohe Dosierung von Verapamil mit damit verbundener, signifikanter Herzfrequenzreduktion ist in der Klinik nicht tolerierbar. Primäres Ziel dieser Studie war aber, Unterschiede zwischen Cilobradin und Verapamil hinsichtlich ihrer Einflüsse auf den inotropen Status in vergleichbaren Dosierungen herauszuarbeiten, v.a. in Hinblick auf kontroverse Ergebnisse anderer experimenteller Studien mit anderen spezifisch bradykarden Substanzen [23;74]. Bei Ca^{2+} -Antagonisten wie Verapamil, aber auch β -Blockern wurden in vielen experimentellen und klinischen Studien deutlich negativ inotrope Effekte nachgewiesen [14;43;47]. Diesen Ergebnissen entsprachen unsere Befunde. So wurde der linksventrikuläre Spitzendruck und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit als Kontraktilitätsmaß durch Cilobradin moderat (auf 90 % bzw. 81 %), aber durch Gabe von Verapamil signifikant (auf 26 % bzw. 21 %) reduziert. Im weiteren Verlauf während der Reperfusion erholten sich diese Variablen in allen drei Gruppen nur unwesentlich. Überraschend war diese Beobachtung nicht, da die Erholung der systolischen Funktion nach 75 min low-flow Ischämie mehrere Tage oder Wochen andauern kann [75]. Somit ist ein entscheidender Vorteil spezifisch bradykarder Substanzen gegenüber Ca^{2+} -Antagonisten und β -Blockern die Herzfrequenz zu senken, ohne die systolische Funktion signifikant zu beeinflussen. Dies gilt als gut gesichert, abgesehen von der Abnahme der Kontraktilität durch die negative Kraft-Frequenz-Beziehung (= negatives Treppenphänomen) [26;27;76;77], auf welche später eingegangen wird. Unabhängig von der negativen Kraft-Frequenz-

Beziehung ist die Abnahme der systolischen Funktion während der postischämischen Reperfusion umfangreich beschrieben [73;79;80].

Die fehlende negative Inotropie der Sinusknoteninhibitoren wurde u.a. auch am insuffizienten Herzen der Ratte bestätigt [74]. Im experimentellen Infarktmodell der Ratte kommt es mit zunehmender Infarktgröße zu einer geringen Verschlechterung der linksventrikulären Funktion. Über die Beeinträchtigung der systolischen Funktion während der Reperfusion in Studien mit regionaler und globaler Ischämie wurde bereits des Öfteren berichtet [68;78]. In der vorliegenden Studie stimmte die signifikante Reduktion der systolischen Funktion während Reperfusion nach Ischämie (= myokardiales Stunning) in der Placebo-Gruppe mit anderen Studien gut überein [73;78;79;80;81]. Erwähnenswert ist die Tatsache, daß Cilobradin eine Reduktion des Schlagvolumens während Reperfusion auf 13 % nach sich zog, wohingegen nach Verapamil kein Schlagvolumen mehr ausgeworfen wurde.

Insgesamt geht diese Beeinträchtigung aller linksventrikulärer Funktionsvariablen mit einem inadäquat hohen Sauerstoffverbrauch und damit der Abnahme des kontraktile und externen Wirkungsgrades im postischämisch, reperfundierten Myokard einher. Der angebotene Sauerstoff wird nur ineffizient in Kraftentwicklung umgesetzt [82]. Für dieses Phänomen wurde der Begriff des metabolischen Stunnings geprägt [73]. Für das Zustandekommen der postischämischen Dysfunktion kann vermutlich auch ein gestörter Ca^{2+} -Haushalt verantwortlich gemacht werden. Auch in Abwesenheit einer Ischämie konnten durch eine transiente Ca^{2+} -Überladung physiologische, metabolische und histologische Aspekte von myokardialen Stunning imitiert werden [83].

4.2.1.3 Kraft-Frequenz-Beziehung (= Treppenphänomen)

Um die Frage zu beantworten, ob bradykarde Substanzen negativ inotrope Eigenschaften aufweisen oder nicht, muß das sog. Treppenphänomen oder der Bowditch-Effekt berücksichtigt werden, der die Relation zwischen Kontraktionskraft und Herzfrequenz beschreibt [76]. Das Phänomen besagt, daß im normalen, intakten Myokard die Kontraktionskraft mit der Herzfrequenz in physiologischen Bereichen ansteigt. Folglich wäre das Kraft-Frequenz-Verhältnis positiv. Umgekehrt, im insuffizienten Myokard würde die systolische Funktion bei einer Herzfrequenzsteigerung vermindert, d.h. beim insuffizienten Myokard ist das Kraft-Frequenz-Verhältnis negativ [84]. Folglich könnte sich die systolische Funktion im insuffizienten Myokard verbessern, wenn eine bradykarde Substanz, wie in der vorliegenden Studie Cilobradin, die Herzfrequenz senkt. Bei Patienten mit mäßiger oder schwerer Herzinsuffizienz können Ca^{2+} -Antagonisten bereits in niedrigen Konzentrationen die vorbestehende Herzinsuffizienz drastisch verschlechtern [85]. Deshalb kommt die negative Kraft-Frequenz-Beziehung bei Ca^{2+} -Antagonisten nicht zum Tragen. Bei spezifisch bradykarden Substanzen könnte die negative Kraft-Frequenz-Beziehung jedoch einen positiven Effekt auslösen.

4.2.1.4 Diastolische Funktion

Im postischämisch reperfundierten Myokard ist auch die diastolische Funktion verschlechtert [86]. Diese reduzierte diastolische Funktion kann sogar nach Erholung der systolischen Funktionsvariablen persistieren und auf diese Weise zur klinischen Manifestation eines ansteigenden Füllungsdrucks beitragen [73;86]. Als diastolische

Funktionsvariablen bestimmten wir als Maß für die frühe Relaxation die minimale Druckanstiegsgeschwindigkeit [dP/dt_{\min}] und als Maß für die späte Relaxation den linksventrikulären enddiastolischen Druck [LVP_{ed}], die beide bei globaler diastolischer Funktionseinschränkung erhöhte Werte aufweisen müßten. In unserer Studie zeigte dP/dt_{\min} in allen drei Gruppen eine verschieden umfangreiche, aber durchaus vergleichbare Verschlechterung. Verglichen mit der oben genannten systolischen Funktionsvariable [dP/dt_{\max}] war die Einschränkung von dP/dt_{\min} in der als Kontrolle fungierenden Placebo-Gruppe nahezu identisch und verbesserte sich im Verlauf der Reperfusion nicht. Die Veränderungen von dP/dt_{\min} nach globaler Ischämie wurden an ähnlichen Modellen bestätigt [73;86]. Auffallend ist nach unseren Resultaten, daß dP/dt_{\min} nach Gabe von Verapamil wesentlich stärker reduziert war als nach Cilobradin (auf 12 % bzw. 46 %). Dies korreliert gut mit der systolischen Funktionseinbuße dP/dt_{\max} : (19 % bzw. 47 %) und bestätigt den moderaten negativ inotropen Einfluß von Cilobradin [24;25;27]. Es ist gut bekannt, daß dP/dt_{\max} frequenzabhängig ist [87;88], und dasselbe scheint für dP/dt_{\min} zu gelten. Die Verschlechterung der frühen Relaxation ist also offenbar zum Teil frequenzbedingt und nur zu einem anderen Teil direkt auf die Substanzen zurückzuführen.

Ein interessantes Verhalten zeigte der enddiastolische Druck [LVP_{ed}], denn er fiel nach Gabe von Verapamil ab und stieg nach Cilobradin signifikant an. Der enddiastolische Druck wird mindestens von zwei Größen beeinflusst, die in dieser Studie erfaßt werden: die frühe Relaxation [dP/dt_{\min}] und die Diastolendauer. Eine Verbesserung von dP/dt_{\min} sollte zu einer Senkung des enddiastolischen Drucks beitragen. Umgekehrt ist zu erwarten, dass eine verlängerte Diastolendauer über eine verbesserte Ventrikelfüllung zu einem Anstieg des LVP_{ed} führen sollte. Verapamil verschlechterte die frühe Relaxation signifikant, so daß ein Anstieg von

LVP_{ed} zu erwarten wäre. Die verlängerte Diastolendauer sollte zusätzlich zu einem LVP_{ed}-Anstieg führen. Weil nun diese Größe tendentiell sogar abnahm, spekulieren wir, daß die durch Verapamil hervorgerufene Verschlechterung der globalen systolischen Ventrikelfunktion am LVP_{ed}-Verhalten beteiligt ist: Wenn der linksventrikuläre Spitzendruck nach Verapamil auf etwa 25 % seines Ausgangswertes abfällt, dann ist es - bei einer angemessenen Sauerstoffversorgung - nicht überraschend, wenn auch LVP_{ed} moderat sinkt. Der signifikante Anstieg von LVP_{ed} nach Gabe von Cilobradin entspricht der Vorstellung einer verbesserten Ventrikelfüllung in folge der verlängerten Diastole, wie sie auch aus Untersuchungen an chronisch ischämischen Schweinen berichtet wird [71].

4.2.1.5 Gefäßtonus

Die Durchblutung der Koronarien geschieht primär in der Diastole. Daher hat eine veränderte Herzfrequenz Einfluß auf die globale und regionale Koronardurchblutung. Ein Anstieg der Herzfrequenz reduziert die Diastolendauer, erhöht die extravasale Komponente des Koronarwiderstandes [89] und behindert somit besonders die Durchblutung subendokardialer Schichten [90]. Von einer Reduktion der Herzfrequenz wäre eine Steigerung des arteriellen Einstroms in die Koronararterien und dadurch eine Verbesserung der transmuralen Versorgung subendokardialer Areale zu erwarten [9]. In unserer Studie verlängerten sowohl Cilobradin als auch Verapamil die Diastolendauer in einem vergleichbaren Maße, jedoch waren ihre Effekte auf die Koronardurchblutung unterschiedlich. Eine signifikante Steigerung der Koronardurchblutung in Anwesenheit von Verapamil ist auf die bekannten vasodilatierenden Eigenschaften dieser Substanz zurückzuführen und trat wie

erwartet ein. Im Gegensatz dazu war die Koronardurchblutung nach Gabe von Cilobradin geringfügig reduziert, blieb aber unverändert, wenn sie für den einzelnen Herzschlag berechnet wurde. Daher ist Cilobradin vermutlich nicht vasoaktiv. Außerdem könnte ein deutlicher Anstieg des LVP_{ed} zu einem Anstieg der extravasalen Komponente des Koronarwiderstandes führen und damit Ursache der verminderten Koronardurchblutung sein. Die synchrone, geringfügige Reduktion der Koronardurchblutung zusammen mit einer geringfügigen Verschlechterung der linksventrikulären Funktion spricht für eine intakte Autoregulation, welche bei einer verminderten metabolischen Aktivität zu einem erhöhten Gefäßtonus führt [23]. Die Abnahme der Koronardurchblutung nach Cilobradin wird von anderen Autoren für vergleichbare spezifisch bradykarde Substanzen bestätigt [23]. Nach Untersuchungen an anderen Modellen kommt es zu einer regionalen Umverteilung des koronaren Flusses mit einer vermehrten subendokardialen Durchblutung, die zu Lasten der subepikardialen Perfusion geht [23]. Eine Veränderung der transmuralen Perfusion konnten wir an unserem Modell nicht nachweisen; sie konnte in anderen Studien jedoch deutlich belegt werden [36;37;91].

Es ist auch zu berücksichtigen, daß bei einer 75 min low-flow Ischämie nicht nur myokardiales Stunning ausgelöst wird, sondern auch irreversible Veränderungen hervorgerufen werden. Die während der Reperfusion in allen drei Gruppen reduzierte Koronardurchblutung ließe sich auf die verminderte Ventrikelfunktion aber auch auf eine Läsion der Koronargefäße zurückführen. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß der Sauerstoffverbrauch im „stunned Myokard“ relativ hoch ist, da der angebotene Sauerstoff nur wenig effizient in Funktion umgesetzt wird (= metabolisches Stunning [67]). Andererseits kam es während der post-ischämischen Reperfusion zu einem Anstieg des Koronarwiderstandes, der sich

aufgrund des konstant gehaltenen Perfusionsdrucks spiegelbildlich zur Koronardurchblutung verhielt. Auf der Basis der reduzierten Koronarreserve und des angestiegenen Widerstandes nach kurzen ischämischen Perioden wurde der Begriff des mikrovaskulären Stunnings geprägt [92]. Mögliche Mechanismen, die dieses Phänomen erklären können, sind morphologische Veränderungen der Kapillaren und eine interstitielle Ödembildung, die sich während der Reperfusion entwickeln können [3]. Wenn man allerdings bedenkt, daß die Diastolendauer in unseren Versuchen verlängert war, so mag der Widerstandsanstieg etwas überraschend erscheinen. Möglicherweise ist die Bedeutung der Diastolendauer für die Koronarperfusion in unserem Modell im Vergleich zur Entstehung des Zellödems und der verminderten linksventrikulären Funktion nicht so bedeutend.

4.2.2 Myokardstoffwechsel

O₂-Verbrauch

Herzfrequenz und myokardialer Sauerstoffverbrauch [$M\dot{V}O_2$] sind linear miteinander verknüpft, deshalb war vorhersehbar, daß sich der gesamte $M\dot{V}O_2$ nach Verabreichung von Verapamil oder Cilobradin verringerte. Im weiteren Verlauf, während im normalen Myokard eine enge Beziehung zwischen oxidativem Metabolismus und ventrikulärer Funktion besteht, lag während der postischämischen Reperfusion ein sog. oxidativer „Hypermetabolismus“ vor [93], d.h. der $M\dot{V}O_2$ blieb im Vergleich zur Funktionseinbuße unerwartet hoch. Auch in der Placebo-Gruppe war der $M\dot{V}O_2$ während der Reperfusion signifikant vermindert, jedoch weniger als dem prozentualen Verlust der systolischen Funktion [SV, LVP_{max} , dP/dt_{max}] entspräche. Insbesondere nach Verapamil-Gabe kam es zu einer massiven

Funktionseinbuße, nicht aber zu einer deutlichen Verminderung des Sauerstoffverbrauchs. Der $\dot{M}\dot{V}O_2$ /Schlag steigt sogar an, ein Vorgang, der zu Recht als „Hypermetabolismus“ oder als „Sauerstoffverschwendung“ bezeichnet wird.

Während der Reperfusion sinkt der Sauerstoffverbrauch sowohl gesamtmukardial als auch pro Schlag nach Verapamil nur mäßig ab. Zum Teil kann der postischämisch erhöhte Sauerstoffbedarf durch „Reparaturprozesse“ erklärt werden, die im postischämischen Myokard stattfinden [92]. Auch eine zunehmende Wandspannung und ein gesteigerter basaler Metabolismus werden diskutiert [73]. In der Cilobradin-Gruppe kam es zu einem nahezu identischen Verlauf, obwohl diese Substanz kaum einen negativ inotropen Einfluß hatte, wie Sie nach Verapamilgabe zu beobachten war. Hervorzuheben bleibt, daß der $\dot{M}\dot{V}O_2$ in allen Gruppen während der frühen Reperfusion größer als während der späten Reperfusion war, während sich die Ventrikelfunktion in der gleichen Zeit geringfügig erholte. Diese Ergebnisse zeigen sehr eindrucksvoll, daß der Sauerstoff bei myokardialer Stunning nur ineffektiv in Funktion umgewandelt wird [73;94;95], was als Phänomen des „metabolischen Stunnings“ bezeichnet wird (s.o.) [73]. Unter diesem Aspekt ist zu beachten, die Herzfunktion während einer postischämischen Reperfusion nicht unnötig mit negativ inotropen Substanzen zu kompromittieren.

4.2.3 Postischämische Infarktgröße

Verglichen mit der Placebo-Gruppe scheint die Herzfrequenzreduktion in beiden anderen Gruppen eine Rolle bei der Reduktion der Infarktgröße gespielt zu haben. Dieser Effekt zeichnete sich am deutlichsten in der Verapamil-Gruppe ab, weshalb diese Substanz zur Prävention einer Ischämie mit anschließender Reperfusion am

effektivsten zu sein scheint. Dieser Erfolg war aber nicht nur das Ergebnis der Herzfrequenzreduktion, sondern auch der drastisch verminderten Funktion, durch welche der „ischämische Streß“ massiv vermindert wurde. In der Klinik wäre allerdings eine vergleichsweise kleine Infarktgrößenreduktion auf Kosten eines derart umfangreichen Funktionsverlustes nicht zu tolerieren. Für Cilobradin gibt es bisher keine experimentellen Daten zur Reduktion der Infarktgröße. Es liegen aber entsprechende Resultate über die gut untersuchte Vorgängersubstanz Zatebradin (UL-FS 49) vor, die zu einer ähnlichen Infarktgrößenreduktion wie ein β -Blocker (Atenolol) führte [96]. In dieser Studie an narkotisierten Schweinen mit regional induzierter Ischämie war interessanterweise nur die spezifisch bradykarde Substanz und nicht der β -Blocker in der Lage die regionale Dysfunktion zu verhindern.

Man könnte argumentieren, daß die Infarktflächen in unserer Studie bedeutend kleiner als in anderen Modellen mit regionaler myokardialer Ischämie waren. In anderen Studien an Kaninchenherzen führte ein 30 min Koronararterienverschluß zu einem Verhältnis von Nekroseareal zu Ischämierisikogebiet von 33 % bis zu 50 % [97;98]. In solchen Modellen mit regionaler Ischämie werden die Effekte einer Ischämie deutlicher, da die intakten Myokardareale weiter kontrahieren und sogar den funktionellen Verlust des ischämisch gemachten Areals überkompensieren können. Als Folge davon wird dieses Gebiet für den bestehenden intraventrikulären Druck anfälliger, was mit dem oft beschriebenen Phänomen des „Bulging“ einhergeht [99]. Im völligen Gegensatz dazu reduziert der gesamte Ventrikel seine Funktion als Antwort auf eine globale Ischämie, so daß es nicht zu der beschriebenen Asynchronie zwischen nichtischämischen und ischämischen Myokard kommt. Derartige Bedingungen einer globalen Ischämie existieren unter perioperativen Bedingungen, z.B. während Bypass-Operationen mit Kardioplegie.

4.3 Kritik der Methode

4.3.1 Das Langendorff-Modell

Das arbeitende, isolierte Herz in einer modifizierten Langendorff-Anlage bietet im Vergleich zu in situ Modellen den Vorteil, daß sich störende neurohumorale Einflüsse oder Interaktionen mit den übrigen Organen und dem peripheren Kreislauf ausschließen lassen. Damit können unmittelbare kardiale Einflüsse von Wirkstoffen, wie z.B. in unserer Studie Cilobradin, besser analysiert werden. Andererseits müssen durch das fehlende Perikard, die Durchtrennung der linksventrikulären Chordae tendineae, das Einführen des intraventrikulären Ballons und durch das Aufhängen des Präparates geringfügige Veränderungen der Ventrikelgeometrie in Kauf genommen werden.

Der systemische Kreislauf war an unserem Modell so ausgelegt, daß der linksventrikuläre Spitzendruck bei auswerfenden Kontraktionen einen Betrag von 80 mmHg nicht überschreiten konnte, da die „Nachlast“ durch eine Wassersäule entsprechender Höhe gebildet wurde. Eine verminderte Ventrikelfunktion war daher mit einer anderen Kontraktionsform (= isovolumetrisch) verbunden.

4.3.2 Infarktgrößenbestimmung

Der Nachweis eines Herzinfarktes mit makroskopisch, enzymatischen Reaktionen durch Inkubation von Myokardschnitten in Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid (TTC)-Lösung ist ein gut etabliertes Verfahren [30]. Bei der Bestimmung der Infarktgrößen können jedoch methodenbedingte Fehler auftreten. Bei Verwendung von zu wenig Inkubationsflüssigkeit liegen die Herzscheiben auf dem Boden des Gefäßes fest auf,

so daß die Lösung die Unterseiten nicht genügend erreichen kann. Wir haben daher die Scheiben mehrmals in der Lösung gewendet, um so eine gleichmäßige Einwirkung zu erzielen. Bei der Betrachtung der Oberflächen einer begrenzten Anzahl an zufällig ausgewählten Scheiben bei theoretisch unendlich vielen Herz-schnitten bedient man sich zwangsweise einer Näherung. Die Flächenbestimmung wird zusätzlich um so ungenauer, je fleckiger der Infarkt ist und je unschärfer die Grenzen zu erkennen sind. Eine Untersuchung an 7 menschlichen Herzen zeigte jedoch, daß die Einbeziehung von nur 5 anstelle von 9 Herzscheiben einen Genauigkeitsverlust von lediglich 3 % der Infarktgröße verursachte [100]. Wegen des verminderten Auswertungsaufwandes haben wir uns daher für die Aufarbeitung des linken Ventrikels in durchschnittlich 6-8 Scheiben entschieden.

Bei Studien an verstorbenen Patienten mit unterschiedlichen Infarktaltern muß man berücksichtigen, daß das nekrotische Muskelgewebe nach mehreren Monaten von Narbengewebe mit einer resultierenden Wandverdünnung ersetzt wird, während gleichzeitig die umgebenden Muskelfasern aufgrund einer vermehrten Belastung kompensatorisch hypertrophieren und dadurch an Masse zunehmen. Die gemessene Nekrosenausdehnung bei Patienten mit mehreren Wochen oder Monaten alten Infarkten oder bei Langzeittierversuchen wird daher bei vergleichbarer globaler Ischämiedauer kleiner sein als bei den vorliegenden Akutversuchen.

Der rechte Ventrikel wurde bei unserer Infarktgrößenbestimmung vernachlässigt. In Übereinstimmung mit mehreren Arbeitsgruppen wurde nachgewiesen [101], daß der rechte Ventrikel beim Schwein, wie auch beim Menschen, zu 75 % durch die rechte Koronararterie versorgt wird. Andere Autoren fanden bei verstorbenen Herzinfarktpatienten in nur 19 % der Fälle eine Beteiligung des rechten Ventrikels, wobei in diesen Herzen das nekrotische Gebiet des rechten Ventrikels nicht mehr als 7 %

des Gesamtinfarctes ausmachte [100]. Sollten sich also bei der von uns durchgeführten Infarktgrößenbestimmung aufgrund der Nichteinbeziehung des rechten Ventrikels Fehler ergeben haben, wären diese vernachlässigbar.

In unserer Studie wurde durch manuelles Übertragen der Infarktareale auf Folie und eine computergestützte planimetrische Auswertung, ebenfalls per Hand und Maus, zurückgegriffen. Hierbei haben sich sicherlich auch Ungenauigkeiten ergeben, die auf die auswertende Person zurückzuführen sind und die durch ein Scannen und Vergrößern im Computer hätten objektiviert werden können. Die Auswertung war jedoch frei von interindividuellen Schwankungen, da sie von nur einer Person vorgenommen wurde. Des Weiteren hat sich herausgestellt, daß ein Spülen der Herzscheiben nach erfolgter TTC-Färbung mit 0,9 %iger Kochsalzlösung deutlichere und schönere Färbeergebnisse der Infarktareale mit sich gebracht hätte.

5 ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUßFOLGERUNG

In der verwendeten Dosierung senken der Ca^{2+} -Antagonist Verapamil (Isoptin) und die bradykarde Substanz Cilobradin (DK-AH 269) die Herzfrequenz effektiv. Dabei weist Verapamil signifikante, negativ inotrope Effekte auf, wohingegen Cilobradin grundsätzlich den inotropen Status nicht beeinflusst. Beide Substanzen führen im Vergleich zur Placebo-Gruppe zu einer signifikanten Verminderung der Infarktgröße. Die geringfügig kleinere Infarktgröße nach Einsatz von Verapamil gegenüber Cilobradin steht in keinerlei Verhältnis zum dramatischen Verlust ventrikulärer Funktion.

Spezifisch bradykarde Substanzen bieten aus Sicht des Klinikers perfekte therapeutische Optionen. Fast alle Tierexperimente und auch diese Studie stützen die theoretischen Erwartungen und Hoffnungen an und in die Substanzgruppe. Es ist daher verwunderlich, daß diese vielversprechenden Substanzen bisher keinen Einzug in die klinisch, therapeutische Routine gefunden haben.

Möglicherweise erreichen spezifisch bradykarde Substanzen eine neue Bedeutung bei Operationen am schlagenden Herzen, bei denen eine nebenwirkungsarme Herzfrequenzreduktion wünschenswert wäre. Dieser Aspekt gewinnt immer mehr an Bedeutung, weil andere Substanzen zur Senkung der Herzfrequenz bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit anscheinend ungeeignet sind.

6 LITERATUR

- [1] Braunwald E, Sobel BE (1988) Coronary blood flow and myocardial ischemia. In: Braunwald E Heart disease 1. ed Philadelphia-London-Toronto. WB Saunders Comp S. 1191-1221.
- [2] Büchner F (1939) Die Koronarinsuffizienz. Dresden und Leipzig, Steinkopff-Verlag 1939, S. 1-92.
- [3] Jennings RB, Reimer KA (1983) Factors involved in salvaging ischemic myocardium: Factors involved in salvaging ischemic myocardium: Effects of reperfusion of arterial blood. *Circulation* 68 (Supp I): 25-36.
- [4] Schipke JD, Harasawa Y, Sugiura S, Alexander J Jr, Burkhoff D (1990) Effect of a bradycardic agent on the isolated blood perfused canine heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 5: 481-488.
- [5] Sonnenblick EH, Ross J Jr, Braunwald E (1968) Oxygen consumption of the heart. *Am J Cardiol* 22: 328-336.
- [6] Braunwald E, Ross J Jr, Sonnenblick EH (1976) Mechanisms of contraction of the normal and failing heart. Little, Brown and Company, Boston.
- [7] Eichhorn EJ, Heesch CM, Barnett JH, Alvarez LG, Fass SM, Grayburn PA, Hatfield BA, Marcoux LG, Malloy CR (1994) 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* 24: 1310-1320.
- [8] Olsen SL, Gilbert EM, Renlund DG, Taylor DO, Yanowitz FD, Bristow MR (1995) Carvedilol improves left ventricular function and symptoms in chronic heart failure: a double-blind randomized study [see comments]. *J Am Coll Cardiol* 25: 1225-1231.

-
- [9] Schulz R, Rose J, Skyschally A, Heusch G (1995) Bradycardic agent UL-FS 49 attenuates ischemic regional myocardial dysfunction and reduces infarct size in swine: comparison with the β -Blocker atenolol. *J Cardiovasc Pharmacol* 25: 216-228.
- [10] Ishibashi K, Kuwahara M, Gu Y, Kageyama Y, Tohsaka A, Suzuki F, Marumo F, Sasaki S (1997) Cloning and functional expression of a new water channel abundantly expressed in the testis permeable to water, glycerol and urea. *J Biol Chem* 272: 20782-20786.
- [11] Theroux P, Gregoire J, Chin C, Pelletier G, De Guise P, Juneau M (1998) Intravenous diltiazem in acute myocardial infarction. Diltiazem as adjunctive therapy to activase (DATA) trial. *J Am Coll Cardiol* 32: 620-628.
- [12] Gilliam PMS (1965) Use of propranolol in angina pectoris. *Brit Med J* 2: 337-339.
- [13] Josephson MA, Singh BN (1985) Use of calcium antagonists in ventricular dysfunction. *Am J Cardiol* 55: 81B-85B.
- [14] Vatner SF, Hintze TH (1982) Effects of a calcium-channel antagonist on large and small coronary arteries in conscious dogs. *Circulation* 66: 579-588.
- [15] Dämmgen JW, Lamping KA, Gross GJ (1985) Actions of two new bradycardic agents, AQ-AH 208 and UL-FS 49, on ischemic myocardial perfusion and function. *J Cardiovasc Pharmacol* 7(1): 71-79.
- [16] Pape HC (1994) Specific bradycardic agents block the hyperpolarization activated cation current in central neurons. *Neuroscience* 59: 363-373.
- [17] Kobinger W (1985) Specific bradycardic agents, a new approach to therapy in angina pectoris? *Prog Pharmacol* 5(3):89-100.

[18] Indolfi C, Guth BD, Miura T, Miyazaki S, Schulz R, Ross J Jr (1989) Mechanisms of improved ischemic regional dysfunction by bradycardia. Studies on UL-FS 49 in swine. *Circulation* 80: 983-993.

[19] Kobinger W, Lillie C, Pichler L (1976) N-allyl-derivative of clonidine, a substance with specific bradycardic action at a cardiac site. *Arch Pharmacol* 306: 255-262.

[20] Meinertz T, Kasper W, Jähnchen E (1987) Alinidine in heart patients: Electrophysiologic and antianginal actions. *Eur Heart J* 8 (Suppl 1): 109-114.

[21] Simoons ML, Tummers J, Meurs van Wozzik H, van Domburg H (1982) Alinidine, a new agent which lowers heart rate in patients with angina pectoris. *Eur Heart J* 3: 342-345.

[22] Frishman WH, Pepine CJ, Weiss RJ, Baiker WM (1995) 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. *J Am Coll Cardiol* 26: 305-312.

[23] Chen Z, Slinker BK., Reuter B (1992) The sinus node inhibitor UL-FS 49 lacks significant inotropic effect. *J Cardiovasc Pharmacol* 19: 264-271.

[24] Guth BD, Dietze T (1992) Acute hemodynamic effects of DK-AH 269 Cl in the anesthetized pig with or without atrial pacing. Personal communication.

[25] Guth BD, Dilger B (1992) 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. Personal communication.

-
- [26] Granetzny A, Schwanke U, Schmitz C, Schmitz-Spanke S, Arnold G, Schulte HD, Schipke JD (1996) Effekt einer neuen bradykarden Substanz auf das isolierte Kaninchenherz. *Z Kardiol* 12: 953-960.
- [27] Granetzny A, Schwanke U, Schmitz C, Schmitz-Spanke S, Arnold G, Schäfer D, Schulte HD, Gams E, Schipke JD (1998) Pharmacological heart rate reduction: effect of a novel, specific bradycardic agent on isolated, blood-perfused rabbit hearts. *Thorac Cardiovasc Surgeon* 46: 63-69.
- [28] Korbmacher B, Sunderdiek U, Arnold G, Schulte HD, Schipke JD (1994) Improved ventricular function by enhancing the Ca²⁺ sensitivity in normal and stunned myocardium of isolated rabbit hearts. *Basic Res Cardiol* 89: 549-562.
- [29] Klein HH, Puschmann S, Schaper J, Schaper W (1981) The mechanism of the tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction. *Virchows Arch Path Anat Histol* 393: 287-297.
- [30] Jestädt R, Sandritter W (1959) Erfahrungen mit der TTC-Reaktion für die pathologisch-anatomische Diagnose des frischen Herzinfarktes. *Z Kreislaufforschung* 42: 802-809.
- [31] Brieden A, Schwanke U, Arnold G, Schipke JD (1997) Computer program to acquire and process data from the experimental laboratory. *Eur J Physiol* 433 [Suppl.6]: P410 (Abstract).
- [32] Wilkinson L (1980) REGM: A multivariate general linear hypothesis program. *Am Statistician* 34 (3): 182.
- [33] Karow T, Lang R (1999) Koronare Herzkrankheit (KHK). In: *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie* 7. Auflage. Bergisch-Gladbach: Druckerei F Hansen: 187-198.

-
- [34] Büchner F (1932) Über Angina pectoris. *Klin Wochenschr* 42: 1737-1739.
- [35] Rein H (1931) Die Physiologie der Koronardurchblutung. Untersuchungen des Koronarkreislaufes am intakten Organismus. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 43: 247-262.
- [36] Heusch G, Guth BD, Seitelberger R, Ross J Jr (1987) Attenuation of exercise-induced myocardial ischemia in dogs with recruitment of coronary vasodilator reserve by nifedipine. *Circulation* 75: 482-490.
- [37] Schulz R, Guth BD, Pieper K, Martin C, Heusch G (1992) Recruitment of an inotropic reserve in moderately ischemic myocardium at the expense of metabolic recovery. A model of short-term hibernation. *Circ Res* 70: 1282-1295.
- [38] Miura T, Miyazaki S, Guth BD, Kambayashi M, Ross J (1992) Influence of the force-frequency relation on left ventricular function during exercise in conscious dogs. *Circulation* 86: 563-571.
- [39] Ryu K-H, Tanaka N, Ross JJ (1996) Effects of sinus node inhibitor on the normal and failing rabbit heart. *Basic Res Cardiol* 91: 131-139.
- [40] Kobinger W, Lillie C (1984) Cardiovascular characterization of UL-FS 49, 1,3,4,5-Tetrahydro-7,8-Dimethoxy-3-(3-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)ethyl)Methylimino)Propyl)-2H-3-Benzazepin-2-ON Hydrochloride, a new „specific bradycardic agent“. *Eur J Pharmacol* 104: 9-18.
- [41] Doerr T, Trautwein W (1990) On the mechanisms of the „specific bradycardic action“ of the verapamil derivative UL-FS 49. *Arch Pharmacol* 341: 331-340.
- [42] Kambayashi M, Miura T, Oh BH, Rockmann HA, Murata K, Ross J (1992) Enhancement of the force-frequency effect on myocardial contractility by adrenergic stimulation in conscious dogs. *Circulation* 86: 572-580.

-
- [43] Schley G (1991) Therapie der Herz- und Gefäßkrankheiten. Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- [44] Strauer BE (1991) Koronare Herzkrankheit. In: Klinische Kardiologie, Hrsg Riecker G Springer 1991 S. 357-474.
- [45] Karow T, Lang R (1999) Koronare Herzkrankheit (KHK). In: Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie 7. Auflage. Bergisch-Gladbach: Druckerei F Hansen: 149.
- [46] Ardja H (1985) Kompaktwissen praktischer Kardiologie. Erlangen, Perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft, S. 214-215.
- [47] Giliam PMS (1965) Use of Propanolol in angina pectoris. Brit Med J 2: 337-339.
- [48] Braunwald E (1971) Control of myocardial oxygen consumption. Am J Cardiol 27: 416-432.
- [49] Breall JA, Watanabe J, Grossmann W (1993) Effect of zatebradine on contractility, relaxation and coronary blood flow. J Am Coll Cardiol 21: 471-477.
- [50] Skarvan K (1987) Value of a specific bradycardic agent in cardiac surgery compared to placebo. Eur Heart J 8 Suppl L: 123-129.
- [51] Boonstra P, Grandejean GJ, Mariani MA (1997) Improved method for direct coronary grafting without CPB via anterolateral small thoracotomy. Ann Thorac Surg 63: 567-569.
- [52] Swynghedauw B, Jasson S, Chevalier B, Clairambault J, Hardouin S, Heymes C, Mangin L, Mansier P, Medigue C, Moallic JM, Thibault N, Carre F (1997) Heart rate and heart rate variability, a pharmacological target. Cardiovasc Drugs Ther 10: 677-685.

- [53] Bel A, Perrault IP, Faris B, Mouas C, Vilaene JP, Menasché P (1998) Inhibition of the Pacemaker Current: A Bradycardic Therapy for Off-Pump Coronary Operations. *Ann Thorac Surg* 66: 148-152.
- [54] Jansen EWL, Gründemann PF, Borst C, et al (1997) Less invasive off-pump CABG using a suction device for immobilization: the „Octopus“ method. *Eur J Cardiothorac Surg* 12: 406-412.
- [55] Hayashi I, Yamamoto T, Hosoda Y, Theroux P, Gregoire J, Chin C, Pelletier G, De Guise P, Juneau M (1998) Right vagal nerve stimulation during minimally invasive direct coronary artery bypass grafting in dogs. A preliminary study Intravenous diltiazem in acute myocardial infarction. Diltiazem as adjunctive therapy to activate (DATA) trial. *J Cardiovasc Surg Torino* 32: 620-628.
- [56] Schauerte P, Scherlag MA, Goli S, Hackmann WM, Lazarra R (1999) Intra-vaskuläre Stimulation parasymphischer Herznerven: Ein neues Konzept zur Kontrolle von Sinustachykardien in der Intensivmedizin? *Z Kardiol* 88[1]: 239.
- [57] Raes A, Goethals M, Snoek J, van Bogaert P (1992) The „sinus node inhibitor“ DK-AH 269 has little effect on the L-type calcium current. *European Congress on Pacing and Electrophysiology, Oostende*.
- [58] Di Francesco D (1991) Generation and control of cardiac pacing. *Trends Cardiovasc Med* 1: 250-255.
- [59] Gombotz H, Metzler H, Winkler G, Rehak P (1988) Intraoperative heart rate reduction - alinidine versus metropolol. *Acta Anaesthesiol Scand* 32:8 686-690.
- [60] Schad H, Heimisch W, Haas F, Mendler N (1991) Effect of the “specific bradycardic agent” alinidine on the function of ischemic myocardium *Thorac Cardiovasc Med* 1: 250-255

-
- [61] Preiser JC, Moulart D, Vincent JL (1992) Addition of alinidine, a specific bradycardic agent, to dobutamine in a canine model of endotoxic shock. *Crit Care Med* 20:8 1146-1151.
- [62] Bril A, Forest MC, Cheval B, Landais L, Gout B (1994) Effect of zatebradine, a specific bradycardic agent, on ischemia-induced arrhythmias in anesthetized rabbits. *Pharmacology* 48:5 308-319.
- [63] Boucher M, Chaissaing C, Chapny E (1995) Cardiac electrophysiologic effects of alinidine, a specific bradycardic agent, in the conscious dog: plasma concentration-response relations. *J Cardiovasc Pharmacol* 25:2 229-233.
- [64] Leitch SP, Sears CE, Brown HF, Paterson DJ (1995) Effects of high potassium and the bradycardic agents ZD 7288 and cesium on heart rate of rabbits and guinea pigs. *J Cardiovasc Pharmacol* 25:2 300-306.
- [65] Mangin L, Swynghedauw B, Benis A, Thibault N, Lerebours G, Carré F (1998) Relationships between heart rate and heart rate variability: study in conscious rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 32:4 601-607.
- [66] Mitrovich V, Oehm E, Thormann J, Pitschner H, Haberbach W (1998) Comparison of the potassium channel blocker tedisamil with the beta-adrenoceptor blocker esmolol and the calcium antagonist gallopamil in patients with coronary artery disease. *Clin Cardiol* 21:7 492-502.
- [67] Schipke JD, Sunderdieck U, Korbmacher B, Schwanke U, Arnold G (1995) Utilization of oxygen by the contractile apparatus is disturbed during reperfusion of postischemic myocardium. *Eur Heart J* 16: 1476-1481

- [68] Korbmacher B, Sunderdiek U, Schwanke U, Schwenen M, Arnold G, Schipke JD (1995) Untersuchungen zur postischämischen Dysfunktion am isolierten blut-perfundierten Kaninchenherzen. 9. Freiburger Fortbildungsseminar „Biomeßtechnik“, 22.-23.02.1995, pp. 126-133. Biomeßtechnik-Verlag, Buchenbach.
- [69] Schlack W, Ebel D, Grunert S, Halilovic S, Meyer O, Thämer V (1998) Effect of a heart rate reduction by 4-(N-ethyl-N-phenyl-amino)-1,2-dimethyl-6-(methylamino)-pyridiniumchloride on infarct size in dog. *Arzneimittelforschung* 48: 26-33.
- [70] Ragueneau I, Laveille C, Jochemsen R, Resplandy G, Furick Brentano C, Jaillon P (1998) Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the effects of ivabradine, a direct sinus node inhibitor, on heart rate in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 64: 192-203.
- [71] van Woerkens LJ, Van der Giessen WJ, Verdouw PD (1992) 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* 6: 59-65.
- [72] Boudoulas H, Rittgers SE, Lewis RP, Leier CV, Weissler AM (1979) Changes in diastolic time with various pharmacologic agents. Implication for myocardial perfusion. *Circulation* 60: 164-169.
- [73] Schipke JD, Korbmacher B, Dorszewski A, Selcan G, Sunderdiek U, Arnold G (1996) Haemodynamic and energetic properties of stunned myocardium in rabbit hearts. *Heart* 75: 55-61.
- [74] Hu K, Gaudron P, Kaden J, Hagebecker A, Fraccarollo D, Schönaich E, Ertl G (1997) Langzeitwirkung der Herzfrequenzsenkung auf Letalität, Hämodynamik und Remodeling bei Ratten mit experimentellem Herzinfarkt. *Z Kardiol* 86, Suppl 2, Abstr 998 S. 270.

-
- [75] Poole-Wilson PA (1989) A brief account of the physiology of the heart and circulation. In: Julian DG., Camm AJ., Fox KM., Hall RJC., Poole-Wilson PA. Diseases of the heart. Bailliere Tindall, London pp. 24-36.
- [76] Higgins CB, Vatner SF, Franklin D, Braunwald E (1973) Extend of regulation of the hearts contractile state in conscious dogs by alteration in frequency of contraction. J Clin Invest 52: 1187-1194.
- [77] Raberger G, Krumpl G, Schneider W (1987) Effects of bradycardic agent UL-FS 49 on exercise-induced regional contractile dysfunction in dogs. Int J Cardiol 14: 343-354.
- [78] Matsuzaki M, Gallagher KP, Kemper WS, White F, Ross J Jr (1983) Sustained regional dysfunction produced by prolonged coronary stenosis: Gradual recovery after reperfusion. Circulation 68 (1): 170-182.
- [79] Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF (1975) Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. J Clin Invest 56: 978-985.
- [80] Bolli R (1998) Why myocardial stunning is clinically important. Basic Res Cardiol: 169-172.
- [81] Korbmacher B, Sunderdiek U, Schulte HD, Arnold G, Schipke JD (1995) Comparison between the effects of a novel Ca²⁺-sensitizer and a phosphodiesterase inhibitor on stunned myocardium. J Pharmacol Exp Ther 275: 1433-1441.
- [82] Przyklenk K, Patel B, Kloner RA (1987) Diastolic abnormalities of postischemic „stunned myocardium“. Am J Cardiol 60: 1211-1213.
- [83] Kusuoka H, Marban E (1992) Cellular mechanisms of myocardial stunning. Ann Rev Physiol 54: 243-256.

-
- [84] Hasenfuss G, Holubarsch C, Hermann HP, Astheimer K, Pieske B, Just H (1994) Influence of the force-frequency relationship on haemodynamics and left ventricular function in patients with non-failing hearts and in patients with dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 15: 164-170.
- [85] Erdmann E (1998) Digitalis therapy – Relevance of heart rate reduction. *Basic Res Cardiol* 93: 156-159.
- [86] Ehring T, Schulz R, Schipke JD, Heusch G (1993) Diastolic dysfunction of stunned myocardium. *Am J Cardiovasc Path* 4: 358-366.
- [87] Reeves TJ, Hefner LL, Jones WB, Coghlan C, Prieto G, Carroll J, (1960) The hemodynamic determinants of the rate of change in pressure in the left ventricle during isometric contraction. *Am Heart J*: 745-761.
- [88] Maughan WL, Sunagawa K, Burkhoff D, Graves WL Jr, Hunter WC, Sagawa K (1985) Effect of heart rate on the canine end-systolic pressure-volume relationship. *Circulation* 72: 654-659.
- [89] Raff WK, Kosche F, Lochner W (1971) Herzfrequenz und extravasale Komponente des Koronarwiderstandes. *Pfluegers Arch* 323: 241-249.
- [90] Neill WA, Oxendine JM, Phelps NC, Anderson RP (1975) Subendocardial ischemia provoked by tachycardia in conscious dogs with coronary stenosis. *Am J Cardiol* 35: 30-36.
- [91] O'Brian P, Drage D (1992) Regional redistribution of myocardial perfusion by UL-FS 49, a selective bradycardic agent. *Am Heart J* 123: 566-574.
- [92] Bolli R, Triana JF, Jeroudi MO (1990) Prolonged impairment of coronary vasodilatation after ischemia. Evidence for microvascular stunning. *Circ Res* 67: 332-343.

-
- [93] Lerch R (1993) Oxidative substrate metabolism during postischemic reperfusion. *Basic Res Cardiol* 88: 525-544.
- [94] Burkhoff D (1990) Myocardial energetics and the postischemic heart. *Ann Thorac Surg* 49: 525-527.
- [95] Laster SB, Becker LC, Ambrosio G, Jacobus WE (1989) Reduced aerobic metabolic efficiency in globally „stunned“ myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 21: 419-426.
- [96] Rose J, Schulz R, Skyschally A, Martin C, Heusch G (1994) UL-FS 49 and atenolol reduce myocardial infarct size, but only UL-FS 49 attenuates regional contractile dysfunction. *Pflügers Arch* 426: R115.
- [97] Toombs CF, Wiltse AL, Shebuski RJ (1994) Ischemic preconditioning fails to limit infarct size in reserpinized rabbit myocardium - Implication of norepinephrine release in the preconditioning effect. *Circulation* 88: 2351-2358.
- [98] Baxter GF, Goma FM, Yellon DM (1997) Characterisation on the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: timecourse and dose-dependency studies in rabbit myocardium. *Basic Res Cardiol* 92: 159-167.
- [99] Noma S, Askenase AD, Agarwal JB, Helfant RH (1988) The effect of changes in afterload on systolic bulging. *Circulation* 77: 221-226.
- [100] Hackel DB, Reimer KA, Idecker RE, Mikat EM, Hartwell TD, Parker CB, Braunwald EB, Buja M et al (1984) Comparison of enzymatic and anatomic estimates of myocardial infarct size in man. *Circulation* 70: 824-835.
- [101] Weaver ME, Pantely GA, Bristow JD, Ladley HD (1986) A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man. *Cardiovasc Res* 20: 907-917.

7 LEBENS LAUF

NAME Burkhard Stoffels

GEBURTSDATUM 22. April 1974 in Mönchengladbach

ADRESSE Aachener Str. 445
41069 Mönchengladbach
Telefon: 02161 - 573434

AUSBILDUNG 1980 – 1984: Grundschule Mönchengladbach - Rheindahlen
1984 – 1993: Gymnasium Mönchengladbach - Rheindahlen

ABSCHLUß 1993: Abitur (Allgemeine Hochschulreife)

ZIVILDIENTST August 1993 – Oktober 1994: Funktionskraft im gynäkologischen OP
mit Ausbildung zum Pflegediensthelfer an den Kliniken Maria-Hilf,
Mönchengladbach

MEDIZINSTUDIUM Oktober 1994: Beginn des Studiums der Humanmedizin an der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
August 1996: Physikum (ärztliche Vorprüfung)
August 1997: I. Staatsexamen (Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung)
März 2000: II. Staatsexamen (Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung)
April 2000 – Mai 2001: Praktisches Jahr (PJ): 1. Tertial im Regional-
spital Prättigau, Schiers / Schweiz; Innere Medizin. 2. und 3. Tertial in
den Kliniken Maria-Hilf, Mönchengladbach; Anästhesie und Chirurgie
Mai 2001: III. Staatsexamen (Dritter Abschnitt ärztliche Prüfung)

-
- FAMULATUREN** März 1998: Kliniken Maria-Hilf, Mönchengladbach; Gynäkologie und Geburtshilfe
- März 1999: Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen, Bad Oeynhausen; Thorax- und Kardiovaskularchirurgie
- Juli 1999: Praxis für Allgemein- und Innere Medizin, Düsseldorf
- August 1999: Chris Hani Baragwanath Hospital, University of the Witwatersrand, Johannesburg, Soweto, Südafrika; Chirurgie
- BESCHÄFTIGUNG** Oktober 1994 – Mai 2001: Kliniken Maria-Hilf, Mönchengladbach
- Studentische Hilfskraft auf der operativen Intensivstation
- BERUF** Juni 2001 – Mai 2002: Kliniken Maria-Hilf, Mönchengladbach
- Arzt im Praktikum, Klinik für Gefäßchirurgie, CA Dr. F. Korsten
- Juni 2002 – November 2002: Kliniken Maria-Hilf, Mönchengladbach
- Arzt im Praktikum, Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie, CA Prof. Dr. U. Kania
- ab Januar 2003: Universitätskliniken Bonn,
- Assistenzarzt, Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie, CA Univ.-Prof.-Dr. A. Hirner

**Postischämisch reperfundiertes Myokard, besserer Schutz durch eine
spezifisch bradykarde Substanz (Cilobradin) als durch einen
Ca²⁺-Antagonisten (Verapamil)**

Doktorand: Burkhard Stoffels

In der verwendeten Dosierung senken der Ca²⁺-Antagonist Verapamil (Isoptin®) und die bradykarde Substanz Cilobradin (DK-AH 269) die Herzfrequenz effektiv. Dabei weist Verapamil signifikante, negativ inotrope Effekte auf, wohingegen Cilobradin grundsätzlich den inotropen Status nicht beeinflusst. Beide Substanzen führen im Vergleich zur Placebo-Gruppe zu einer signifikanten Verminderung der Infarktgröße. Die geringfügig kleinere Infarktgröße nach Einsatz von Verapamil gegenüber Cilobradin steht in keinerlei Verhältnis zum dramatischen Verlust ventrikulärer Funktion.

Spezifisch bradykarde Substanzen bieten aus Sicht des Klinikers perfekte therapeutische Optionen. Fast alle Tierexperimente und auch diese Studie stützen die theoretischen Erwartungen und Hoffnungen an und in die Substanzgruppe. Es ist daher verwunderlich, daß diese vielversprechenden Substanzen bisher keinen Einzug in die klinisch, therapeutische Routine gefunden haben.

Möglicherweise erreichen spezifisch bradykarde Substanzen eine neue Bedeutung bei Operationen am schlagenden Herzen, bei denen eine nebenwirkungsarme Herzfrequenzreduktion wünschenswert wäre. Dieser Aspekt gewinnt immer mehr an Bedeutung, weil andere Substanzen zur Senkung der Herzfrequenz bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit anscheinend ungeeignet sind.

Düsseldorf, den 19. Dezember 2002

Univ.-Prof. Dr. rer. nat. J.D. Schipke
Leiter der Forschungsgruppe
Exp. Chirurgie
Zentrum für operative Medizin I
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf