

Aus dem Institut für Pharmakologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. K. Schrör

**WIRKUNG DES NEUEN KLASSE III-ANTIARRHYTHMIKUMS
IBUTILIDE AUF AKTIONSPOTENTIALE DES
MEERSCHWEINCHENPAPILLARMUSKELS**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von

Dima Christine Koudmani

2006

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

gez: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Nürnberg

Dekan

Referent: Prof. Dr. Dr. U. Borchard

Koreferent: Univ.-Prof. Dr. Thämer

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	5
2.	Material und Methoden	8
2.1.	Gewebe und Präparation	8
2.2.	Versuchsaufbau	10
2.3.	Versuchsablauf	12
2.3.1.	Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen der Substanz Ibutilide unter Normal- ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) und unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)	12
2.3.2.	Versuch unter den Bedingungen der Teildepolarisation ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$)	13
2.3.3.	Frequenz-Versuche unter Normal- ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) und unter „slow response“- Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)	13
2.3.4.	Post-Pause-Versuche unter Normal- ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) und unter „slow response“- Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)	13
2.3.5.	Auswaschversuche	14
2.4.	Auswertung	15
3.	Ergebnisse	16
3.1.	Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen für den Einfluss von Ibutilide auf die Aktionspotentialparameter unter Normalbedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$)	16
3.2.	Versuche unter Bedingungen der Teildepolarisation ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$)	19
3.3.	Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen für den Einfluss von Ibutilide auf die Parameter der „slow response“ ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)	20
3.4.	Frequenzabhängigkeit des Einflusses von Ibutilide auf die Aktionspotentialparameter unter Normalbedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$)	23
3.5.	Frequenzabhängigkeit des Einflusses von Ibutilide auf die Aktionspotentialparameter unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)	31
3.6.	Post-Pause-Versuche unter Normalbedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$)	39
3.7.	Post-Pause-Versuche unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)	44
3.8.	Auswaschversuche	48

4.	Diskussion	49
4.1.	Wirkung von Ibutilide auf die Aktionspotentialdauer, die Kraft und V_{\max} unter Normalbedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$), am teildepolarisierten Muskel ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$) und am depolarisierten Muskel („slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$))	51
4.2.	Frequenzabhängigkeit der Substanzeffekte	54
4.3.	Interaktion der Substanz mit Ionenkanälen im Ruhezustand (Post-Pause-Versuche)	57
4.4.	Auswaschbarkeit der Substanz	59
5.	Zusammenfassung	60
	Abkürzungsverzeichnis	62
6.	Literaturverzeichnis	63

1. Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen stehen in den westlichen Industrieländern an der Spitze aller Todesursachen (*Statistisches Bundesamt Deutschland 2004*). Dabei spielen sowohl der Myokardinfarkt, als auch der plötzliche Herztod eine entscheidende Rolle, wobei der plötzliche Herztod in den meisten Fällen auf tachykarde ventrikuläre Rhythmusstörungen zurückzuführen ist (*KALUSCHE 1989*). Die Behandlung der ventrikulären Rhythmusstörungen gestaltet sich als äußerst schwierig, da diese häufig in einem bereits infarktgeschädigten Herzen entstehen. Obwohl im Laufe der Zeit viele invasive Therapieverfahren wie zum Beispiel die Katheterablation (*EVANS et. al. 1988*), die Implantation eines automatischen Defibrillationsaggregates (*WINKLE et. al. 1989, KAY et. al. 1990*) oder die kardiochirurgische Intervention (*OSTERMEYER 1981*) entwickelt wurden, bleibt die Pharmakotherapie eine der Grundsäulen der Behandlung von Herzrhythmusstörungen.

In den letzten Jahren wurden die Indikationen zur medikamentösen Therapie von Herzrhythmusstörungen aufgrund der Ergebnisse der *CAST I* und *CAST II* Studien (*The Cardiac Arrhythmia Suppression Trials, 1989, 1992*) allerdings deutlich eingeschränkt, da eine Zunahme der Letalität unter dem Einfluss der Klasse I Antiarrhythmika Flecainid, Encainid und Moricizin aufgezeigt wurde. Deshalb gilt heute bei allen Antiarrhythmika der Klassen I A-C der Einsatz innerhalb der ersten drei Monate nach Myokardinfarkt oder bei eingeschränkter Herzleistung als Kontraindikation. Aus diesem Grunde kommt den Klasse III Antiarrhythmika eine steigende Bedeutung in der Behandlung von Patienten mit komplexen Arrhythmien und strukturellen Herzerkrankungen zu. Einschränkend sollte allerdings die *SWORD*-Studie (*WALDO et. al. 1996*) nicht unerwähnt bleiben. Hier wurde bei 3121 Postinfarktpatienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Funktion die Wirkung von d-Sotalol, einem reinen Kaliumkanalblocker ohne betablockierende Wirkungen, mit einem Placebo verglichen. Die Studie wurde aufgrund der erhöhten Mortalität in der Verumgruppe abgebrochen. Die *ALIVE*- („The Azimilide post-Infarct survival Evaluation trial“) Studie (*CAMM et. al. 1998*) demonstrierte bei insgesamt 3717 Patienten einen neutralen Effekt des neueren Klasse III Antiarrhythmikums Azimilide auf die Mortalität der untersuchten Postinfarktpatienten. Bei Einsatz von Klasse III

Antiarrhythmika sollte dementsprechend besonders auf proarrhythmische Effekte geachtet werden.

Klasse III Antiarrhythmika beeinflussen hauptsächlich die Repolarisationsphase des Aktionspotentials. Hieraus resultiert eine Verlängerung der Aktionspotentialdauer und damit auch der effektiven Refraktärzeit, was zu einer Reduktion der Erregbarkeit des Myokardgewebes führt. Die Substanzen Amiodaron, Sotalol, Dofetilide und Ibutilide sind den Klasse III Antiarrhythmika zuzuordnen. Allerdings sind zurzeit in Deutschland nur Amiodaron und d,l-Sotalol für den klinischen Gebrauch verfügbar, in den USA und in Österreich hingegen ist Ibutilide zugelassen. Im März 1996 genehmigte die U.S. Food and Drug Administration FDA den Gebrauch von Ibutilide [CORVERT®] für die schnelle Termination von Vorhofflimmern und -flattern. Frühere Studien zeigten, dass durch d,l-Sotalol (z. B. Sotalex®) und Amiodaron (z. B. Cordarex®) das Auftreten von Arrhythmien nach erfolgreicher Einstellung wirkungsvoll unterdrückt werden kann (SCHMITT *et. al.* 1987, ZHU *et. al.* 1987, SENGES *et. al.* 1984, NADAMANEE *et. al.* 1985, RUDER *et. al.* 1989, ANDERSON 1990).

Dennoch sind beide Substanzen in ihrer klinischen Anwendbarkeit eingeschränkt, da d,l-Sotalol zusätzlich zur Repolarisationsverzögerung eine Blockade der β -Adrenozeptoren verursacht und arrhythmogen wirken kann und Amiodaron eine extrem lange Halbwertszeit von 34-118 Tagen aufweist (HOLT und STOREY 1983). Zudem können bei der Einnahme von Amiodaron schwerwiegende Nebeneffekte wie Hypo- oder Hyperthyreose, Korneaeinlagerungen, Lungenfibrose und Photodermatose auftreten (HARRIS 1983). Daher besteht ein besonderes klinisches Interesse an der Entwicklung von neuen repolarisationsverzögernden Antiarrhythmika.

Ibutilide ist ein Methansulfonamidderivat und weist strukturelle Ähnlichkeit mit Sotalol und Dofetilide auf. Aufgrund des hohen first-pass Metabolismus wird die Substanz nur intravenös verabreicht.

Ibutilide wird bei Vorhofflimmern und Vorhofflattern eingesetzt und vermag diese Tachykardien schnell in den Sinusrhythmus zu überführen, wobei bei Patienten mit Vorhofflattern bessere Ergebnisse erzielt wurden (DIMARCO *et. al.* 1990, ELLENBOGEN *et. al.* 1996, STAMBLER *et. al.* 1996, CRIJNS *et. al.* 1996, VOLGMAN *et. al.* 1996). Allerdings kann Ibutilide auch Torsade de pointes (eine polymorphe ventrikuläre Tachykardie) hervorrufen (STAMBLER *et. al.* 1996,

IBUTILIDE PACKAGE INSERT 1996) und ist deshalb kontraindiziert, z. B. bei Patienten mit bekannter polymorpher ventrikulärer Tachykardie (u. a. Torsade de Pointes), bei Patienten mit symptomatischer Herzinsuffizienz, Verlängerung der QT-Dauer, AV-Block 2. oder 3. Grades bei Patienten ohne Herzschrittmacher oder bei Patienten mit Sinusknotensyndrom (*IBUTILIDE PACKAGE INSERT 1996*).

Obwohl Ibutilide den Klasse III Antiarrhythmika (nach *VAUGHAN und WILLIAMS 1975*) zugeordnet wird, ist man sich bis heute nicht eindeutig über den Wirkmechanismus der Substanz im Klaren. Es wird diskutiert, dass der aktionspotentialverlängernde Effekt der Substanz Ibutilide auf einer Aktivierung eines langsamen Natrium-Einwärtsstromes durch einen durch Nifedipin hemmbaren Kanal und der aktionspotentialverkürzende Effekt bei höheren Konzentrationen auf einer Aktivierung von auswärtsgerichteten Kaliumströmen beruht (*LEE 1992, LEE et. al. 1993 und LEE und LEE 1998*). Andere Autoren wie z. B. *YANG et. al. (1995)* wiesen hingegen nach, dass Ibutilide ein potenter Blocker des I_{Kr} -Kanals in AT-1 Zellen (atriale Tumorzellen von Mäusen) ist.

Um den Wirkmechanismus von Ibutilide besser zu verstehen, wurde im Rahmen dieser Arbeit der Einfluss von Ibutilide auf Membranpotentiale der Zellen des Meerschweinchenpapillarmuskels mit Hilfe intrazellulärer Ableitungen durch Mikroelektroden untersucht. Hierzu wurden Versuche am normal polarisierten Muskel ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$), am teildepolarisierten Muskel ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$) und am depolarisierten Muskel („slow response“-Bedingungen, $[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$) durchgeführt. Auch die Frequenzabhängigkeit der Substanz, ihr Einfluss auf den nicht stimulierten Muskel (Post-Pause-Versuche) und ihre Auswaschbarkeit wurden getestet.

2. Material und Methoden

2.1. Gewebe und Präparation

Die Experimente wurden an rechtsventrikulären Papillarmuskelpräparaten von Meerschweinchen durchgeführt, wobei es sich ausschließlich um männliche Tiere mit einem Gewicht zwischen 200 und 500 g handelte.

Die Tiere wurden durch einen Genickschlag getötet. Anschließend wurde die Arteria carotis communis beidseits durchtrennt. Dann wurde der Thorax vorsichtig eröffnet, um das Herz freizulegen. Zur Verhinderung einer Koagelbildung erfolgte ein Einschnitt in die linke Ventrikelwand. Schließlich wurden die großen Gefäße kurz nach ihrem Austritt aus dem Herzen durchtrennt, das Herz entnommen und unmittelbar in ein Gefäß mit Nährlösung überführt, welche kontinuierlich mit Carbogen begast wurde (siehe Tabelle 1). Dort konnte nun bei Zimmertemperatur die Präparation des Papillarmuskels vorgenommen werden. Hierzu wurde der rechte Ventrikel vorsichtig eröffnet und ein geeigneter Papillarmuskel mit einer Länge zwischen 2 und 5 mm und einem Durchmesser von bis zu 1 mm entnommen. An der Basis wurde ein kleines Stück der Ventrikelwand und an der Spitze die Sehnenfäden belassen, um das Präparat später in der Perfusionskammer befestigen zu können.

KREBS & HENSELEIT - Nährlösung

Ionenkonzentrationen angegeben in mmol/l

NaCl	118.5	NaH ₂ PO ₄	1.2
KCl	4.7	NaHCO ₃	25.0
MgSO ₄	1.2	Glucose	10.1
CaCl ₂	1.8	Pyruvat	2.0

Kontinuierliche Begasung mit Carbogen: 95 % O₂, 5 % CO₂

ph-Wert der Lösung:	7.4
Temperatur:	31°C
Badvolumen:	100 ml
Perfusionsrate:	10 ml/min

Depolarisation der Zellmembran durch Erhöhung von KCl in der Badlösung:

1. Teildepolarisation (Ruhepotential ca. -71 mV) : 8 mmol/l KCl
2. Depolarisation („slow response“) (Ruhepotential ca. -54.5 mV): 27 mmol/l KCl

Tabelle 1:

Nährlösung

Zusammensetzung (modifiziert nach *KREBS und HENSELEIT* 1932)

2.2. Versuchsaufbau

Die Papillarmuskelpräparate wurden in eine Plexiglaskammer überführt, wo sie mit Hilfe einer Rollenpumpe von einer Nährlösung (siehe Tabelle 1) kontinuierlich umspült wurden. Die Temperatur der Nährlösung betrug 31°C, wurde durch einen thermostatgesteuerten Wärmeaustauscher konstant gehalten und mittels eines elektronischen Thermometers fortwährend überwacht. Tabelle 2 enthält eine Auflistung der verwendeten Geräte und deren Hersteller.

Das Muskelpräparat wurde nun in diesem Bad befestigt, indem die Sehnenfäden am Haken eines Kraftmessers eingespannt und die Basis des Muskels an einem Edelstahlring fixiert wurde. So konnte eine kontinuierliche Aufzeichnung der isometrischen Kraftentwicklung auf dem Speicheroszillographen oder mittels Papierschreiber erfolgen. Die Vorspannung der Papillarmuskeln betrug 5 mN.

Die Präparate wurden mittels eines Reizgenerators gereizt. Die Rechtecksignale wurden durch wandständige, sich gegenüberliegende Platinelektroden auf die Präparate übertragen. Reizamplitude und -dauer wurden so eingestellt, dass eine möglichst gute Trennung zwischen Reizartefakt und Aufstrich des Aktionspotentials resultierte. Meist ergab dies eine Reizdauer von 1 ms und eine Amplitude, die ca. 10% über der Erregungsschwelle lag. Durch die Änderung der Amplitude des Reizimpulses während des Versuchs konnte die Latenzzeit zwischen Reizartefakt und maximaler Depolarisationsgeschwindigkeit (V_{max}) konstant gehalten werden, um versuchsbedingte Einflüsse auf die Erregungsschwelle auszugleichen.

Die Ableitung intrazellulärer Aktionspotentiale erfolgte mittels einer Glaskapillar-Mikroelektrode. Mit Hilfe eines vertikalen Magnet-Ziehgerätes wurden diese Elektroden aus Borsilikatglasröhrchen mit einem Innendurchmesser von ca. 1,5 mm hergestellt und mit 3 mol/l KCl gefüllt. Anschließend wurden die Elektroden in einem Ag/AgCl-Elektrodenhalter befestigt, wobei die Messsignale einem Verstärker zugeführt und auf einem Speicherosziloskop registriert wurden. Der Widerstand der Elektrode wurde über einen Teststrom aus dem Messverstärker gemessen und lag zwischen 5 und 20 MΩ. Das Bad wurde mittels eines chlorierten Silberdrahtes geerdet.

Nach einer Adaptationszeit von mindestens 60 Minuten bei einer kontinuierlichen Stimulation mit einer Reizfrequenz von 1 Hz wurde mit Hilfe eines mechanischen Mikromanipulators unter mikroskopischer Sicht die Elektrode über dem Präparat

platziert und eingestochen, bis ein stabiles Aktionspotential abgeleitet werden konnte, dessen Amplitude mindestens 120 mV betragen musste.

Geräte	Hersteller
Perfusionskammer	Eigenbau der feinmechanischen Werkstatt des pharmakologischen Institutes, HHU Düsseldorf
Mikroskop	Wild M7A, Heerbrugg, Schweiz
Rollerpumpe	Modell VRX 200, Verder, Düsseldorf
Thermostat	Colora Messtechnik GmbH, Lorch/Württ.
Thermometer	Yellow Springs Instrument Co. USA
Glas-Mikroelektroden-Puller	Modell 819, Hugo Sachs, March/Württ.
Mikromanipulator	Ernst Leitz, Wetzlar
Reizgenerator	Eigenbau: Ing. grad. H. J. Springer Pharmakologisches Institut, HHU Düsseldorf
Elektrodenhalter	Eigenbau der feinmechanischen Werkstatt des Pharmakologischen Instituts der HHU Düsseldorf
Messverstärker	WPI 750, WP Instruments Inc., New Haven, USA
Kraftmesser	Statham UC II, Gould Advance Inc., Cleveland, USA
Differentiationsmodul	Eigenbau: Ing. grad. H. J. Springer Pharmakologisches Institut, HHU Düsseldorf
Analoges Speicheroszilloskop	Modell 5113, Tektronix Inc., USA
Digitale Speicheroszilloskope	Nicolet Explorer 2090-III, Nicolet Instrument Corp., USA und Modell OS 4000, Gould Advance Inc., Cleveland, USA
Papierschreiber	Recomed, Heilige, Freiburg i. Br.
Personal Computer	Compaq 386/25 Deskpro, USA und ACER TravelMate 660

Tabelle 2:

Verwendete Geräte und deren Hersteller

2.3. Versuchsablauf

Mit der Registrierung der Ausgangswerte wurde erst begonnen, nachdem die Aktionspotentiale mindestens 15 Minuten konstant waren.

Es wurden folgende Parameter registriert:

Das Aktionspotential (AP), welches gegen eine zweite Mikroelektrode im Bad (Nullreferenz) gemessen wurde, außerdem die erste Ableitung der Aktionspotentiale nach der Zeit (dV/dt_{\max} bzw. V_{\max}) und das Kraftsignal des isometrischen Kraftmessers.

Je nach Versuchsreihe wurde unterschiedlich verfahren.

2.3.1. Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen der Substanz Ibutilide unter Normal- ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) und unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)

In dieser Versuchsreihe wurden durch kumulative Gabe der Substanz Ibutilide (Strukturformel siehe Abbildung 1) Konzentrations-Wirkungs-Kurven ermittelt. Nach der Gabe einer bestimmten Substanzmenge (Bereich $0.01\text{-}10 \mu\text{mol/l}$) erfolgte eine Einwirkdauer von 30 Minuten, um die Einstellung eines steady state abzuwarten. Die Reizfrequenz betrug 1 Hz. Anschließend wurden die Signale für jede Substanzkonzentration mit Hilfe eines digitalen Speicheroszilloskops auf einem Magnetspeicher (floppy disk) abgelegt. So konnten die Messwert - Veränderungen durch die Substanzeinwirkung in Prozent des Kontrollwertes vor der Substanzzugabe berechnet werden.

Bei den Versuchen unter „slow response“-Bedingungen wurde die K^+ -Ionenkonzentration durch Zugabe einer definierten Menge KCl-Lösung von 4.7 mmol/l auf 27 mmol/l erhöht. Dies führte zu einer Anhebung des Ruhepotentials von ca. -80 mV auf ca. -50 bis -40 mV und damit zu einer Inaktivierung der Na^+ Kanäle (I_{Na}). Es erfolgte die Zugabe von $0.5 \text{ mmol/l BaCl}_2$, um die Erregungsschwelle herabzusetzen (EHARA und INAZAWA 1980) und langsame Aktionspotentiale („slow response“) auszulösen. Die Aufstrichgeschwindigkeit V_{\max} der langsamen Aktionspotentiale stellt ein Maß für den langsamen Ca^{2+} -Einwärtsstrom ($I_{si} = \text{slow inward current}$) dar (MALECOT und TRAUTWEIN 1987).

Die Aufnahme der Kontrolle erfolgte nach einer einstündigen Einwirkzeit der KCl -, BaCl₂ - Lösung. Anschließend wurde, wie oben beschrieben, die Substanz Ibutilide in kumulativ ansteigenden Konzentrationen hinzugegeben.

2.3.2. Versuch unter den Bedingungen der Teildepolarisation ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$)

In diesem Experiment wurde die Kaliumkonzentration in der Nährlösung von 4.7 mmol/l auf 8 mmol/l erhöht. Dadurch erfolgte eine Teildepolarisation der Zellen um etwa 15 mV. Somit konnte die Wirkung der Substanz auf die teilweise inaktivierten Natriumkanäle untersucht werden. In vivo kann man eine Teildepolarisation der Zellen in ischämischen und geschädigten Bereichen des Myokards beobachten, in denen Kalium erhöht ist (*HILL und GETTES 1980*).

Es wurden Substanzkonzentrationen von 1 und 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide angewendet. Die Reizfrequenz betrug 1 Hz.

2.3.3. Frequenz-Versuche unter Normal- ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) und unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)

Bei den Frequenz-Versuchen unter Normalbedingungen wurden bei verschiedenen Substanzkonzentrationen drei verschiedene Reizfrequenzen (0.1 Hz, 1 Hz und 2 Hz) untersucht. Unter „slow response“-Bedingungen wurden zwei Reizfrequenzen (0.17 Hz und 0.05 Hz) getestet. Der Substanzeffekt wurde als Prozentwert in Bezug auf den Kontrollwert bei der jeweiligen Reizfrequenz ermittelt.

2.3.4. Post-Pause-Versuche unter Normal- ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) und unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)

Nach Registrierung der Aktionspotentiale des stimulierten Muskels unter Kontrollbedingungen folgte eine 30 minütige Reizpause, in welcher der Muskel nicht mehr durch den Reizgenerator stimuliert wurde. Anschließend wurden mit Hilfe des Autocycle-Betriebs des Magnetspeicheroszilloskops Nicolet die ersten mit der

erneuten Reizung auftretenden Aktionspotentiale registriert, wobei bis zu 96 Spuren kontinuierlich bespielt wurden. Um ein ausreichend langes Zeitintervall zu erfassen, wurden mehrere Zyklen nacheinander registriert.

Sowohl unter Normal - als auch unter „slow response“-Bedingungen wurde mit einer Frequenz von 0.17 Hz gereizt, das heißt alle 6 Sekunden erfolgte ein elektrischer Reiz.

Die letzten Aktionspotentialdauer (APD)-Werte vor der Reizpause wurden gleich 100% gesetzt und dienten als Bezugswert für die APD der nach der Reizpause ausgelösten Aktionspotentiale. Die Substanzgabe erfolgte kumulativ.

2.3.5. Auswaschversuche

Bei den Auswaschversuchen wurden die Aktionspotentialparameter nach Substanzgabe und nach 15-, 30-, 45- und 60 minütigem Auswaschen der Substanz (durch Spülung mit Krebs-Henseleit-Lösung) bei einer Reizfrequenz von 1 Hz registriert. Als Kontrollwert diente der Wert, der vor Substanzgabe bei einer Reizfrequenz von 1 Hz registriert wurde.

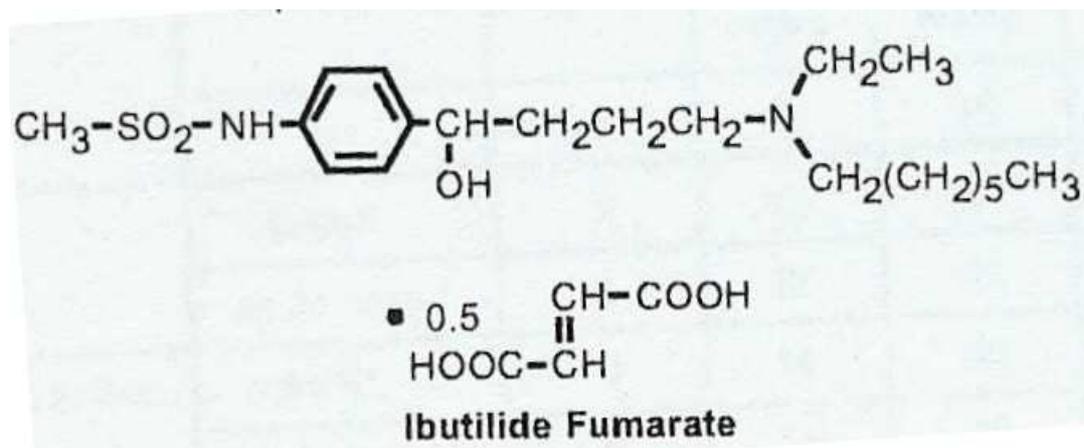


Abbildung 1:

Strukturformel der Substanz Ibutilide (zur Verfügung gestellt von der Firma Pharmacia)

2.4. Auswertung

Die auf den Disketten gespeicherten Daten wurden auf einen Personal Computer übertragen, wo sie mit Hilfe eines Quick-Basic (Microsoft)-Auswertungsprogrammes berechnet und graphisch dargestellt wurden.

Die Ermittlung des Ruhepotentials erfolgte durch die Mittelung von mindestens 20 Messpunkten (entsprechen 10 ms) vor dem Aktionspotential (AP). Der daraus resultierende Wert wurde auf den Wert der Referenzelektrode bezogen. Zu Beginn des Versuchs wurden die AP- und die Referenzelektrode auf Null abgeglichen.

Aktionspotentialdauern wurden für das Repolarisationsniveau von 30 % (APD 30) und 90 % (APD 90) ausgewertet. Ferner wurden die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials (V_{\max}) und die isometrische Kontraktionskraft des Muskels (F_C) erfasst.

Die Messwerte wurden in eine Microsoft Excel-Tabelle eingegeben und in Prozent der Kontrollwerte berechnet. Zudem wurden die Mittelwerte und der Standardmessfehler (SEM) angegeben und hinsichtlich ihrer Signifikanz mittels des zweiseitigen t-tests und zusätzlich mittels ANOVA getestet.

Anschließend wurden die Daten zur Darstellung in das Programm Prism3 (Graphpad Software Incorporated © 1994-1999) eingegeben.

3. Ergebnisse

3.1. Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen für den Einfluss von Ibutilide auf die Aktionspotentialparameter unter Normalbedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$)

Die Substanz Ibutilide beeinflusste die Aktionspotentialparameter in unterschiedlichem Ausmaß (siehe auch Tabelle 3).

Bei Konzentrationen bis $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ wurde die Aktionspotentialdauer auf 90 % Repolarisationsniveau (APD 90) stetig erhöht. Bei Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-7}$ war eine hochsignifikante Erhöhung auf $111.2 \pm 2.9 \%$ der Kontrolle ($p < 0.01$), und bei Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ eine signifikante Zunahme auf $112.6 \pm 3.8 \%$ der Kontrolle ($p < 0.05$) zu beobachten. Die Verlängerung der APD könnte auf einen Kaliumkanal-blockierenden Effekt der Substanz Ibutilide hinweisen. Wurde die Konzentration auf $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ gesteigert, so war eine Verminderung der APD 90 auf $89.8 \pm 5.5 \%$ der Kontrolle zu verzeichnen (siehe Abbildung 2 A).

Die Aktionspotentialdauer auf 30 % Repolarisationsniveau (APD 30) war bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol/l}$ geringfügig auf $101.4 \pm 2.2 \%$ der Kontrolle erhöht, dagegen bei Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol/l}$ auf $99.5 \pm 1.9 \%$, bei $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ auf $96.2 \pm 4.1 \%$ und bei $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ signifikant ($p < 0.05$) auf $72.7 \pm 8.7 \%$ gesenkt (siehe Abbildung 2 A).

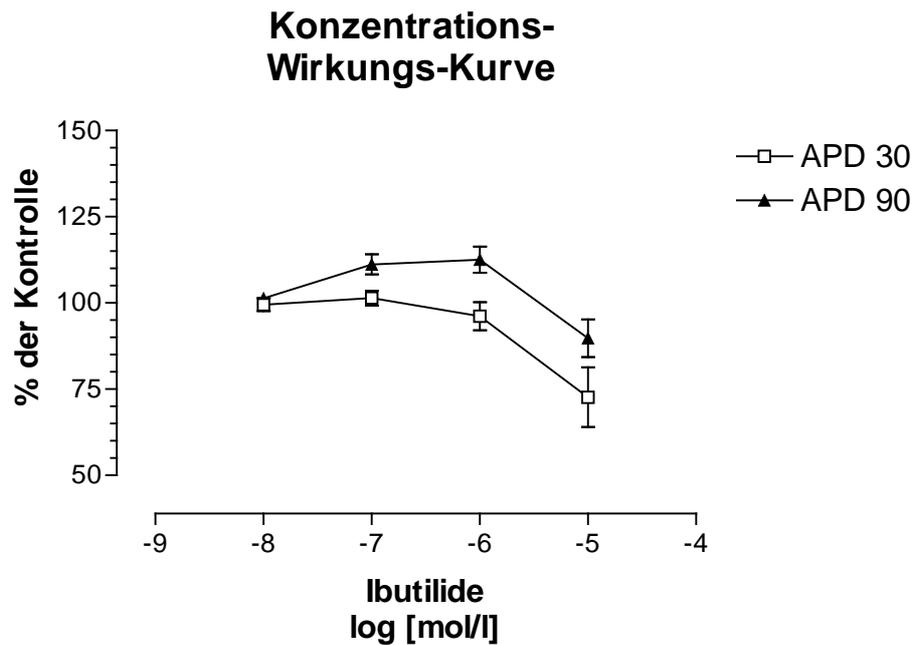


Abbildung 2 A:

Konzentrations-Wirkungs-Kurve für den Einfluß der Substanz Ibutilide (0.01 bis 10 $\mu\text{mol/l}$) auf die APD 30 und APD 90 unter Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o$: 4.7 mmol/l).

Substanzeffekt in % der Kontrolle, die für die APD 30 73.5 ms und die APD 90 281.4 ms betrug. Frequenz: 1 Hz, SEM als Balken dargestellt. (n = 6-8)

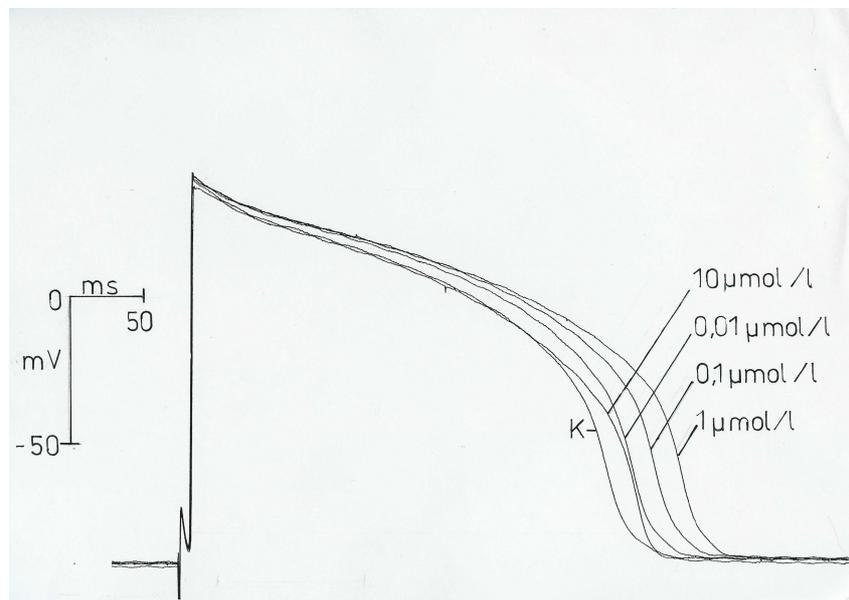


Abbildung 2 B:

Originalregistrierungen der Wirkung von Ibutilide auf Aktionspotentiale des Meerschweinchenpapillarmuskels unter Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o$: 4.7 mmol/l) ohne Substanz (Kontrolle = K) und bei Konzentrationen von 0.01 bis 10 $\mu\text{mol/l}$. Reizfrequenz 1 Hz

Die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials dV/dt_{\max} (V_{\max}) stieg bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-8}$ mol/l auf 105 ± 2.5 % der Kontrolle an, bei weiter ansteigenden Konzentrationen sank sie kontinuierlich ab (bei $1 \cdot 10^{-7}$ mol/l auf 102.5 ± 3.8 % der Kontrolle, bei $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l auf 101.8 ± 5.3 % der Kontrolle und bei $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l auf 94.4 ± 7.6 % der Kontrolle) (siehe Abbildung 3). V_{\max} ändert sich demnach nur geringfügig, was darauf hinweisen könnte, dass die Substanz keinen wesentlichen Effekt auf die Natriumkanäle aufweist.

Die isometrische Kontraktionskraft F_c stieg bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-8}$ mol/l auf 111.3 ± 5.1 % der Kontrolle an. Bei der Konzentration von $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l sank sie allerdings hochsignifikant ($p < 0.01$) auf 41.6 ± 2.3 % der Kontrolle ab (siehe Abbildung 3). Die Abnahme von F_c bei hohen Substanzkonzentrationen spricht für einen kalziumantagonistischen Effekt von Ibutilide.

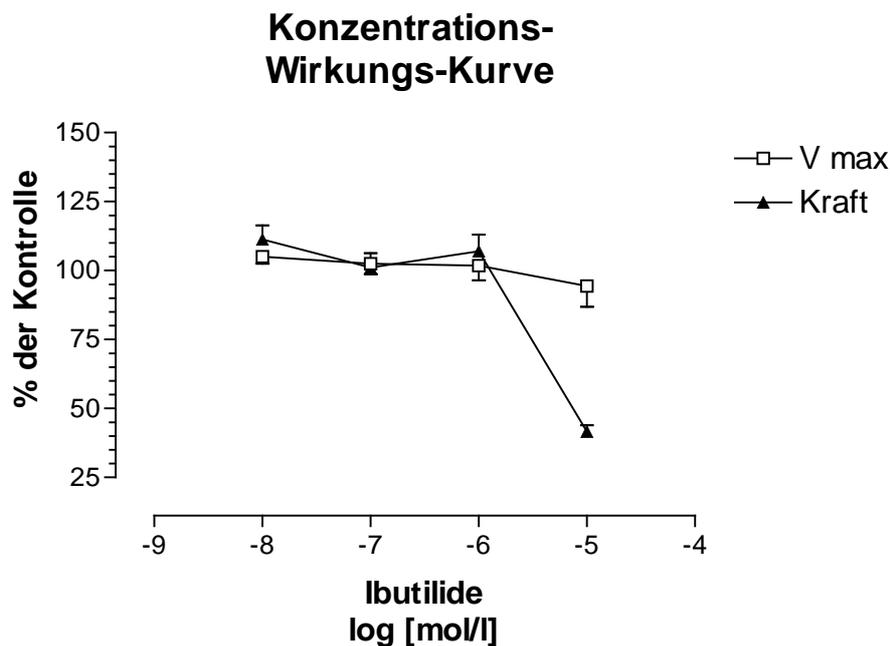


Abbildung 3:

Konzentrations-Wirkungs-Kurve für den Einfluss von Ibutilide (0.01 bis $10 \mu\text{mol/l}$) auf V_{\max} und die isometrische Kontraktionskraft F_c unter Normalbedingungen ($[K^+]_o$: 4.7 mmol/l). Substanzeffekt in % der Kontrolle, die für V_{\max} 172.5 V/s und für die Kraft 1.1 mN betrug. Frequenz: 1 Hz , SEM als Balken dargestellt. ($n = 6-8$)

Ibutilide ($\mu\text{mol/l}$)	Ruhepotential	APD 30	APD 90	dV/dtmax	Kraft (F_c)
Kontrolle (absolut)	$-73.4 \pm 12.9 \text{ mV}$	$173.5 \pm 18.6 \text{ ms}$	$281.4 \pm 25 \text{ ms}$	$172.5 \pm 13.8 \text{ V/s}$	$1.1 \pm 0.4 \text{ mN}$
0.01	$101.2 \pm 3 \%$	$99.5 \pm 1.9 \%$	$101.3 \pm 1.5 \%$	$105 \pm 2.5 \%$	$111.2 \pm 5.1 \%$
0.1	$99.9 \pm 2.2 \%$	$101.4 \pm 2.2 \%$	$111.2 \pm 2.9 \%$	$102.5 \pm 3.8 \%$	$101.1 \pm 5.2 \%$
1	$99.6 \pm 3.1 \%$	$96.2 \pm 4.1 \%$	$112.6 \pm 3.8 \%$	$101.8 \pm 5.3 \%$	$107 \pm 6.1 \%$
10	$94.7 \pm 3.6 \%$	$72.7 \pm 8.7 \%$	$89.8 \pm 5.5 \%$	$94.4 \pm 7.6 \%$	$41.6 \pm 2.3 \%$

Tabelle 3:

Wirkung von Ibutilide (0.01-10 $\mu\text{mol/l}$) auf die Aktionspotentialparameter und Kontraktionskraft F_c des Meerschweinchen-Papillarmuskels. Substanzeffekte in Prozent der Kontrollwerte.

$[\text{K}^+]_o$: 4.7 mmol/l, Reizfrequenz: 1 Hz, Mittelwerte \pm Standardmessfehler (SEM). (n = 6-8)

3.2. Versuch unter den Bedingungen der Teildepolarisation ($[\text{K}^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$)

In einem Versuch wurde die Kalium-Konzentration von 4.7 mmol/l auf 8 mmol/l angehoben, was eine Teildepolarisation des Muskels um 18 mV zur Folge hatte. Somit konnte die Wirkung der Substanz bei teilweise inaktiviertem Natrium-Einwärtsstrom I_{Na} untersucht werden.

Durch die Teildepolarisation wurden die Aktionspotentiale deutlich verlängert (APD 30 von 163 ms ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) auf 264 ms ($[\text{K}^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$) und die APD 90 von 295 ms ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) auf 348 ms ($[\text{K}^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$). V_{max} war reduziert (von 177 V/s ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) auf 143 V/s ($[\text{K}^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$)). Die Kontraktionskraft änderte sich nicht.

Als Kontrollwerte dienten die Werte ohne Substanzzugabe nach der Teildepolarisation mit 8 mmol/l Kalium.

Nach Zugabe von 1 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide stieg die APD 30 auf 112.9 %, die APD 90 auf 118.4 % der Kontrolle (siehe Tabelle 4). V_{max} änderte sich nicht, hingegen stieg die Kraft auf 150 % der Kontrolle an.

Nach Zugabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide lag der Wert der APD 30 bei 108 % der Kontrolle und der Wert der APD 90 bei 112.9 % der Kontrolle. Der Wert für V_{max} sank auf 98.6 % der Kontrolle ab, die Kraft lag bei 100 % der Kontrolle.

Konzentration Ibutilide In $\mu\text{mol/l}$	Ruhepotential	Amplitude	APD 30	APD 90	V_{max}	Kraft
$[\text{K}^+]_o =$ 4.7 mmol/l Ibutilide = 0 $\mu\text{mol/l}$	-89 mV	124 mV	163 ms	295 ms	177 V/s	0.4 mN
$[\text{K}^+]_o =$ 8 mmol/l Ibutilide = 0 $\mu\text{mol/l}$ Kontrolle	-71 mV	109 mV	264 ms	348 ms	143 V/s	0.4 mN
1 $\mu\text{mol/l}$	97.2 %	100 %	112.9 %	118.4 %	100 %	150 %
10 $\mu\text{mol/l}$	95.8 %	97.3 %	108 %	112.9 %	98.6 %	100 %

Tabelle 4:

Einfluss von Ibutilide (1 bzw. 10 $\mu\text{mol/l}$) auf die Aktionspotentialparameter nach Teildepolarisation des Meerschweinchenpapillarmuskels mit 8 mmol/l $[\text{K}^+]_o$. Substanzeffekte in % der Kontrolle.

Reizfrequenz: 1 Hz. (n = 1)

3.3. Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen für den Einfluss von Ibutilide auf die Parameter der „slow response“ ($[\text{K}^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)

Die Erhöhung der extrazellulären K^+ - Ionenkonzentration von 4.7 mmol/l auf 27 mmol/l („slow response“-Bedingungen) führte zu einer Depolarisation der Membran von -73.4 mV auf $-54.5 \pm 4.5 \text{ mV}$. Ferner wurden die Amplitude, die isometrische Kontraktionskraft F_c und die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials V_{max} deutlich reduziert, die APD 30 und die APD 90 hingegen deutlich gesteigert (vgl. Tabelle 5).

Die Substanz Ibutilide führte insgesamt zu einer deutlichen Erhöhung der APD 30. Bis zu einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l nahm die APD 30 stetig zu. Bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-8}$ mol/l stieg sie auf 102.5 ± 2.2 % der Kontrolle, bei $1 \cdot 10^{-7}$ mol/l auf 122.7 ± 10.9 % und bei $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l auf 138.5 ± 14.8 %. (siehe Abbildung 4 und Tabelle 5). Bei $1 \cdot 10^{-5}$ nahm die APD 30 ab (124.1 ± 16 %).

Auch die APD 90 nahm mit steigender Konzentration der Substanz Ibutilide deutlich zu. Das Maximum wurde bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l erreicht, wo ein Wert von 141.1 ± 15.2 % der Kontrolle verzeichnet werden konnte. Bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l wurde eine leichte Verminderung der APD 90 auf einen Wert von 137.2 ± 15.4 % registriert (siehe Abbildung 4 und Tabelle 5).

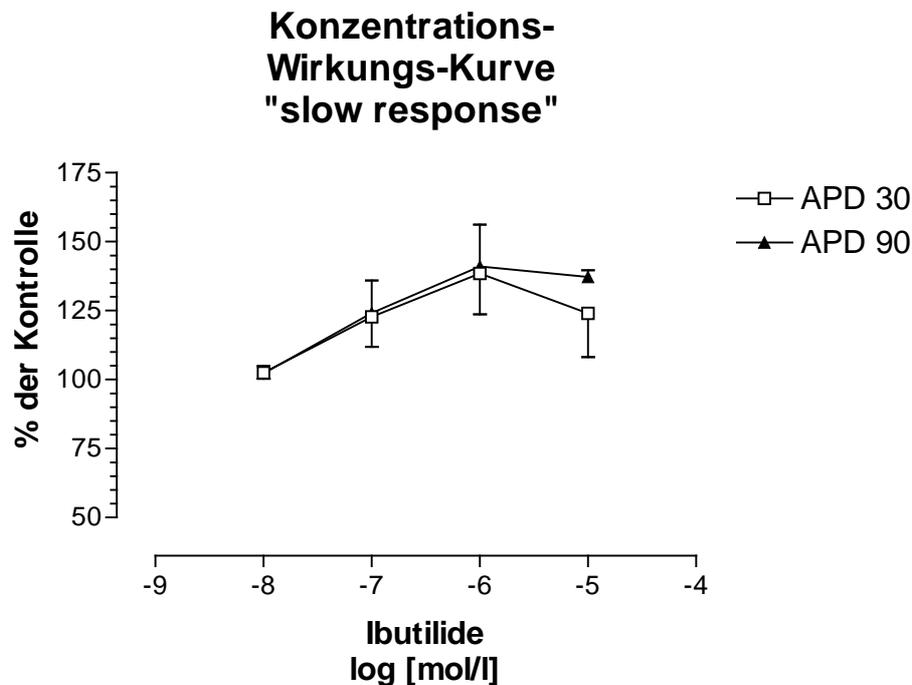


Abbildung 4:

Konzentrations-Wirkungs-Kurve für den Einfluss von Ibutilide (0.01 bis 10 μ mol/l) auf die Aktionspotentialparameter unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o$: 27 mmol/l), Substanzeffekt in % der Kontrolle, die für die APD 30 324 ms und für die APD 90 424.5 ms betrug. Frequenz: 0.17 Hz. SEM als Balken dargestellt. (n = 4)

Der Parameter V_{\max} wurde im gesamten Konzentrationsbereich ($1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l) vermindert (bei $1 \cdot 10^{-8}$ mol/l auf 96.2 ± 3 % der Kontrolle, bei $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l auf 88.6 ± 5.5 %) (siehe Abbildung 5 und Tabelle 5). Die isometrische Kontraktionskraft F_c nahm zunächst zu (bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-8}$ mol/l wurden 107.7 ± 4.5 % und bei $1 \cdot 10^{-7}$ mol/l 112.5 ± 12.5 % der Kontrolle erreicht), bei höheren Konzentrationen nahm sie wieder ab (bei $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l auf 86.3 ± 19.6 %) (siehe Abbildung 5 und Tabelle 5).

Die Abnahme von V_{\max} und der isometrischen Kontraktionskraft bei steigender Konzentration von Ibutilide am depolarisierten Papillarmuskel sprechen für einen kalziumantagonistischen Effekt der Substanz.

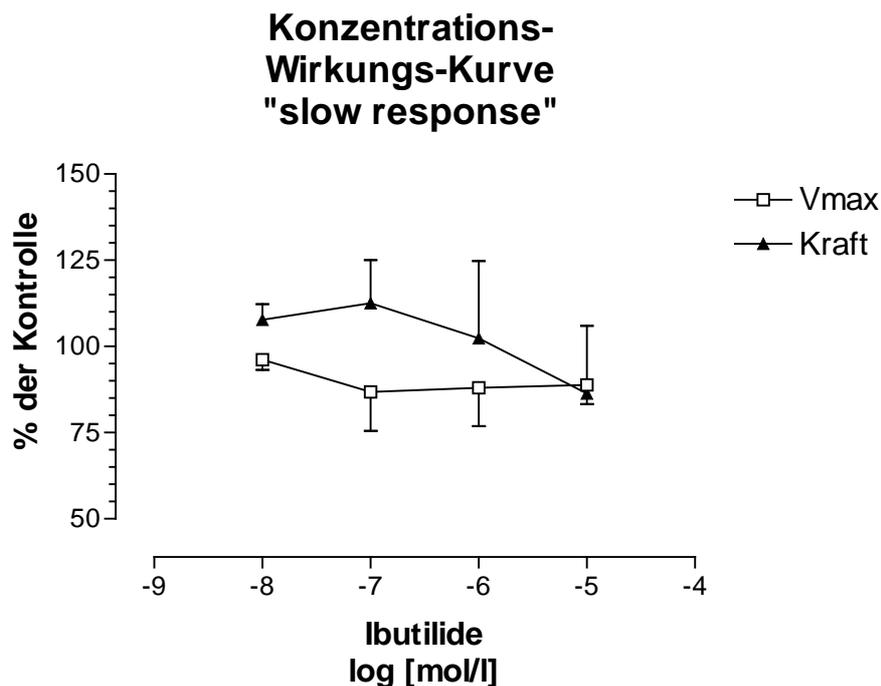


Abbildung 5:

Konzentrations-Wirkungs-Kurve für den Einfluss von Ibutilide (0.01 bis $10 \mu\text{mol/l}$) auf V_{\max} und die isometrische Kontraktionskraft F_c unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o$: 27 mmol/l).

Substanzeffekt in % der Kontrolle, die für V_{\max} 3.6 V/s und für die Kraft 0.6 mN betrug.

Frequenz: 0.17 Hz . SEM als Balken dargestellt. ($n = 4$)

Ibutilide ($\mu\text{mol/l}$)	Ruhepotential	APD 30	APD 90	dV/dtmax	Kraft (F_c)
Kontrolle (absolut)	$-54.5 \pm 4.5 \text{ mV}$	$324 \pm 29.2 \text{ ms}$	$424.5 \pm 25.2 \text{ ms}$	$3.6 \pm 0.4 \text{ V/s}$	$0.6 \pm 0 \text{ mN}$
0.01	$95.9 \pm 2.8 \%$	$102.5 \pm 2.2 \%$	$102.2 \pm 2.7 \%$	$96.2 \pm 3 \%$	$107.7 \pm 4.5 \%$
0.1	$92.9 \pm 3.8 \%$	$122.7 \pm 10.9 \%$	$124.1 \pm 11.8 \%$	$86.9 \pm 11.3 \%$	$112.5 \pm 12.5 \%$
1	$98.3 \pm 1.2 \%$	$138.5 \pm 14.8 \%$	$141.1 \pm 15.2 \%$	$88 \pm 11.1 \%$	$102.4 \pm 22.4 \%$
10	$93.2 \pm 2.6 \%$	$124.1 \pm 16 \%$	$137.2 \pm 15.4 \%$	$88.9 \pm 5.5 \%$	$86.3 \pm 19.6 \%$

Tabelle 5:

Wirkung von Ibutilide (0.01-10 $\mu\text{mol/l}$) auf die Aktionspotentialparameter und die isometrische Kontraktionskraft F_c des Meerschweinchen-Papillarmuskels unter „slow response“-Bedingungen ($[\text{K}^+]_o$: 27 mmol/l). Substanzeffekte in % der Kontrollwerte

Reizfrequenz: 0.17 Hz. Mittelwerte \pm Standardmessfehler (SEM). (n = 4)

3.4. Frequenzabhängigkeit des Einflusses von Ibutilide auf die Aktionspotentialparameter unter Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$)

Die Frequenzabhängigkeit der Wirkung der Substanz Ibutilide auf die Aktionspotentialparameter unter Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o$: 4.7 mmol/l) wurde bei den Konzentrationen $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol/l}$ und $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ untersucht. Es wurden drei verschiedene Reizfrequenzen (0.1 Hz, 1 Hz und 2 Hz) verwendet.

In den Kontrollregistrierungen ohne Substanz wurden die APD 30 und APD 90 durch Steigerung der Reizfrequenz von 1 auf 2 Hz verkürzt und V_{max} reduziert (siehe Tabelle 6). Beim Übergang von 1 auf 0.1 Hz ließ sich eine Verlängerung der APD 30 und 90 sowie eine Erhöhung von V_{max} verzeichnen.

Ibutilide ($\mu\text{mol/l}$)	APD 30			APD 90			dV/dtmax		
	0.1	1	2	0.1	1	2	0.1	1	2
Kontrolle (absolut)	219.4 \pm 19.4 ms	173.5 \pm 18.6 ms	119.5 \pm 14.3 ms	339.4 \pm 29.6 ms	281.4 \pm 25 ms	211.1 \pm 17.4 ms	175.8 \pm 15.4 V/s	172.5 \pm 13.8 V/s	162.8 \pm 11.7 V/s
0.1	104.3 \pm 5.6 %	101.4 \pm 2.2 %	105.9 \pm 3.2 %	110.8 \pm 2.9 %	111.2 \pm 2.9 %	109.8 \pm 2.3 %	106.9 \pm 3.7 %	102.5 \pm 3.8 %	107.1 \pm 9.3 %
10	73 \pm 9.1 %	72.7 \pm 8.7 %	87.4 \pm 9.9 %	94.9 \pm 5.4 %	89.8 \pm 5.5 %	97 \pm 4.5 %	105.3 \pm 12.5 %	94.4 \pm 7.6 %	96.4 \pm 13 %

Tabelle 6:

Frequenzabhängige Wirkung von 0.1 und 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide auf die Aktionspotentialparameter des Meerschweinchenpapillarmuskels.

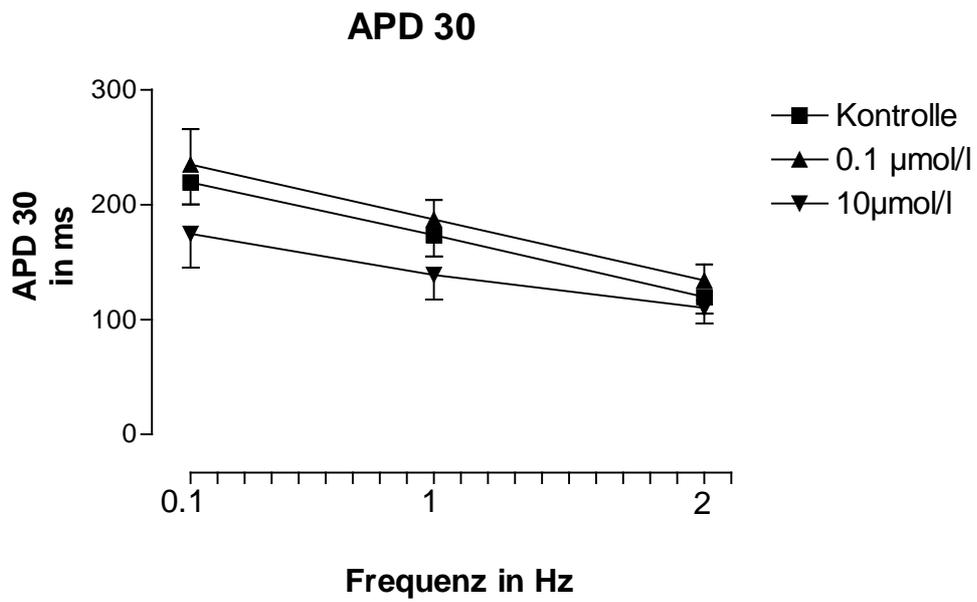
$[\text{K}^+]_o$: 4.7 mmol/l, Substanzeffekte in Prozent der Kontrollwerte bei der jeweiligen Reizfrequenz.

Reizfrequenzen: 0.1, 1 und 2 Hz. Mittelwerte \pm Standardmessfehler (SEM). (n = 6-8)

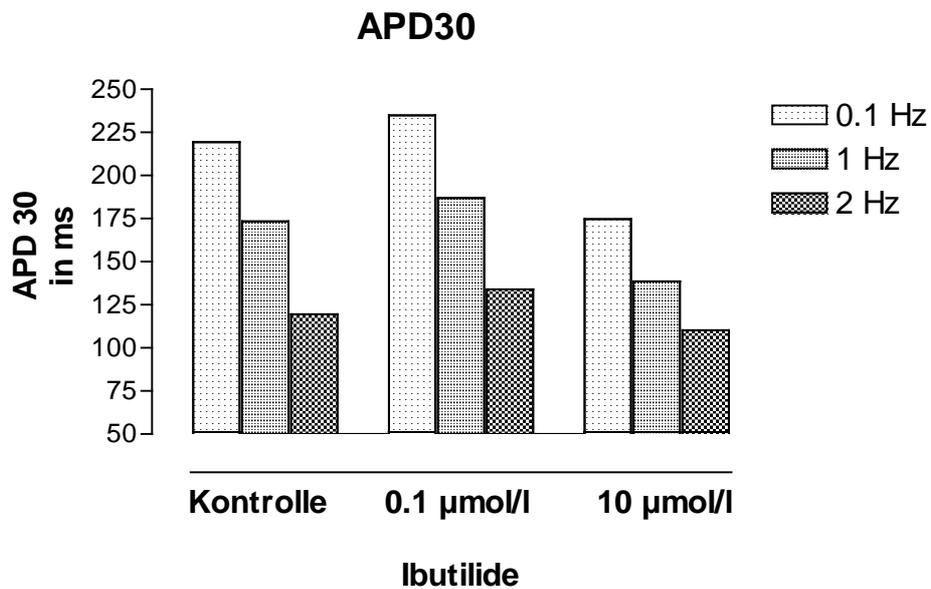
Bei einer Konzentration von 0.1 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide wurden die Absolutwerte der APD 30 mit steigender Frequenz gesenkt (0.1 Hz: 234.9 \pm 30.7 ms, 2 Hz: 134.0 \pm 13.8 ms). Relativ in Prozent der Kontrolle ergab sich bei Erhöhung der Reizfrequenz kaum eine Änderung (bei 0.1 Hz 104.3 % und bei 2 Hz 105.9 % der Kontrolle). Somit lagen die Werte allesamt oberhalb der Kontrollwerte (siehe Abbildung 6 und 7). Ähnlich verhielt es sich mit der APD 90, wobei sich dort die Werte noch deutlicher oberhalb der Kontrollwerte befanden (bei einer Reizfrequenz von 0.1 Hz: 110.8 % und bei 2 Hz: 109.8 % der Kontrolle) (siehe Abbildung 8 und 9). Der Absolutwert von V_{max} nahm bei Erhöhung der Reizfrequenz ebenfalls ab (0.1 Hz: 188.4 \pm 17.1 V/s, 2 Hz: 174.3 \pm 19.8 V/s). Relativ in Prozent der Kontrolle ergab sich auch für V_{max} kaum eine Veränderung (bei 0.1 Hz: 106.9 %, und bei 2 Hz 107.1 % der Kontrolle). Auch hier lagen die Werte allesamt oberhalb der Kontrollwerte (siehe Abbildung 10 und 11).

Bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide wurden die Absolutwerte der APD 30 mit steigender Reizfrequenz gesenkt (0.1 Hz: 174.7 ± 29.6 ms, 2 Hz: 110.2 ± 13.6 ms). Relativ in Prozent der Kontrolle ergab sich bei Erhöhung der Reizfrequenz allerdings ein Anstieg der APD 30 (von 73 % der Kontrolle bei 0.1 Hz auf 87.4 % bei 2 Hz). Die Werte lagen somit allesamt unterhalb der Kontrollwerte (siehe Abbildung 6 und 7). Ebenso verhielt es sich mit der APD 90 (bei einer Reizfrequenz von 0.1 Hz: 94.9 % und bei 2 Hz: 97 % der Kontrolle) (siehe Abbildung 8 und 9). Für V_{max} sanken die Werte mit steigender Reizfrequenz sowohl absolut als auch relativ, wobei bei einer Frequenz von 0.1 Hz die Werte oberhalb der Kontrollwerte, und bei den Frequenzen von 1 Hz und 2 Hz unterhalb der Kontrollwerte lagen (bei 0.1 Hz: 105 %, bei 1 Hz: 94.4 % und bei 2 Hz: 96.4 % der Kontrolle) (siehe Abbildung 10 und 11).

A)

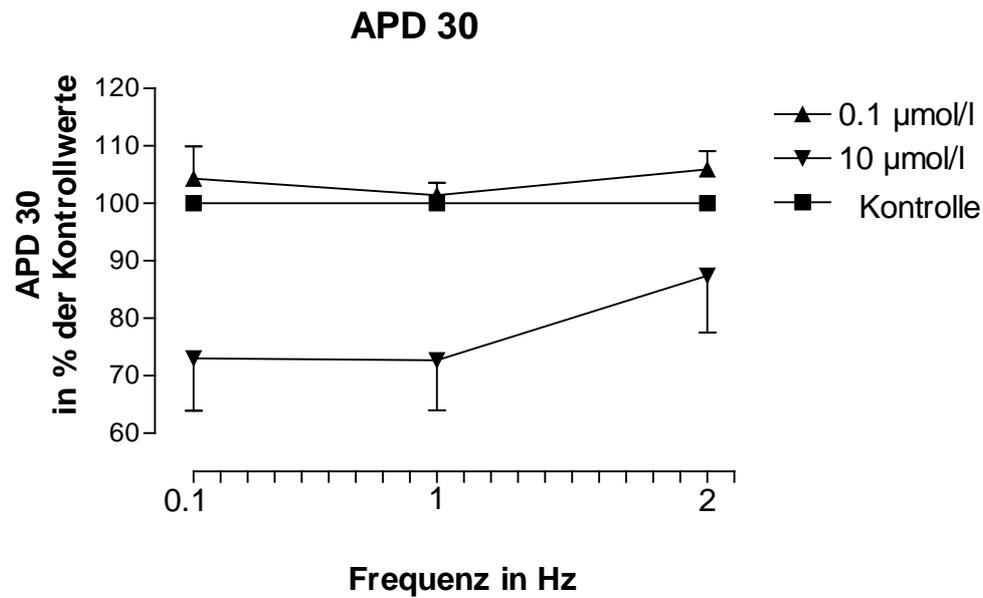


B)

**Abbildung 6:**

Frequenzabhängigkeit der APD 30 bei 0 (Kontrolle), 0.1 und 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 4.7 mmol/l), SEM als Balken dargestellt. (n = 6-8)

In A) Darstellung als Graph und in B) als Blockdiagramm

**Abbildung 7:**

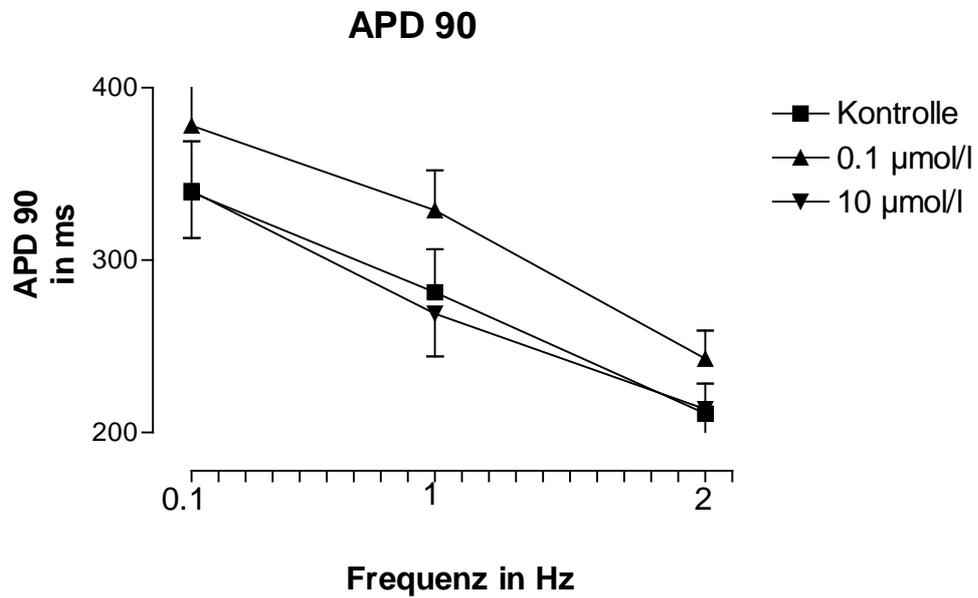
Frequenzabhängigkeit der APD 30 bei 0.1 und bei 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 4.7 mmol/l).

Abszisse: Reizfrequenz in Hz.

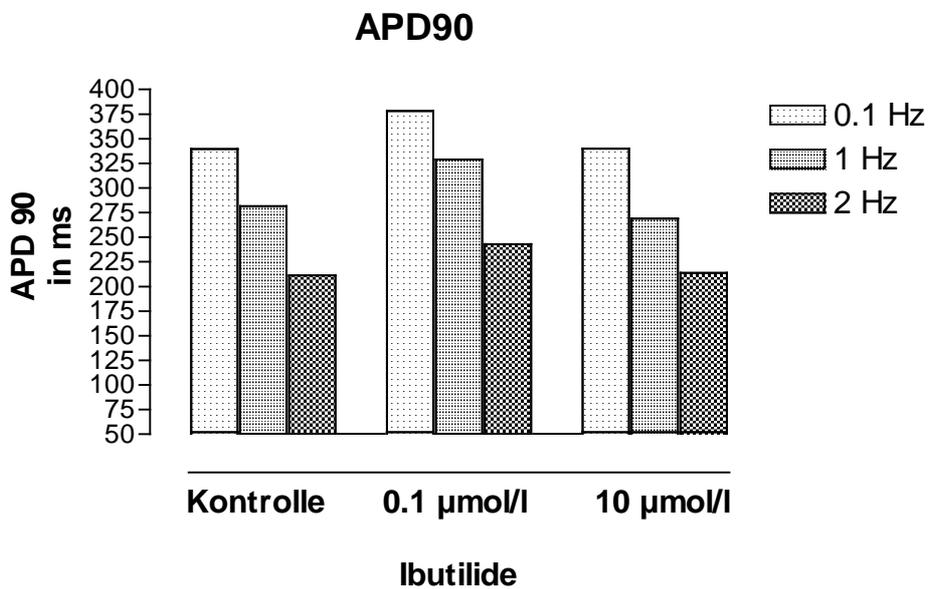
Ordinate: APD 30 in Prozent der Kontrolle bei der jeweiligen Reizfrequenz (= 100%).

SEM als Balken dargestellt. (n = 6-8)

A)

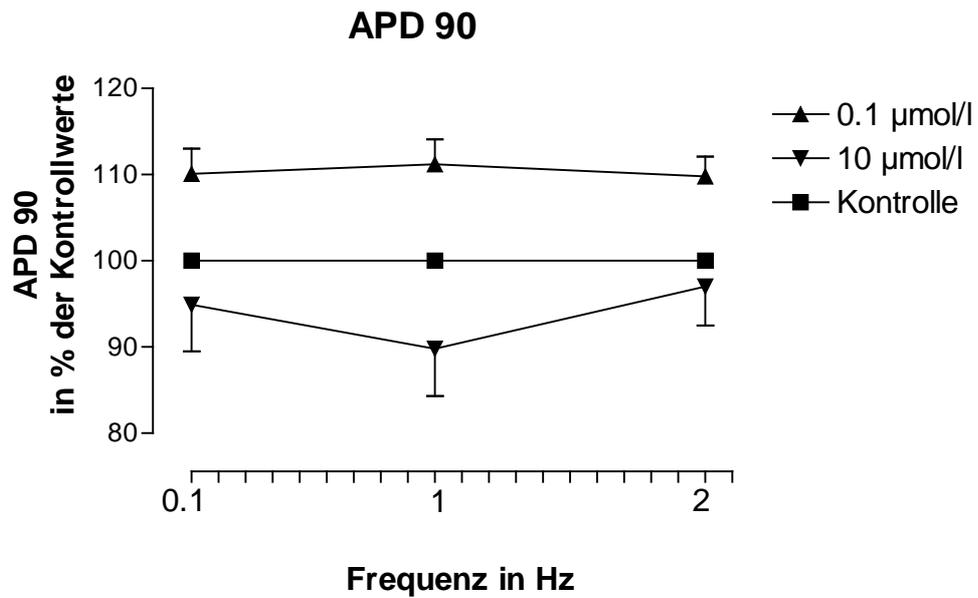


B)

**Abbildung 8:**

Frequenzabhängigkeit der APD 90 bei 0 (Kontrolle), 0.1 und 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 4.7 mmol/l). SEM als Balken dargestellt. (n = 6-8)

In A) Darstellung als Graph und in B) als Blockdiagramm.

**Abbildung 9:**

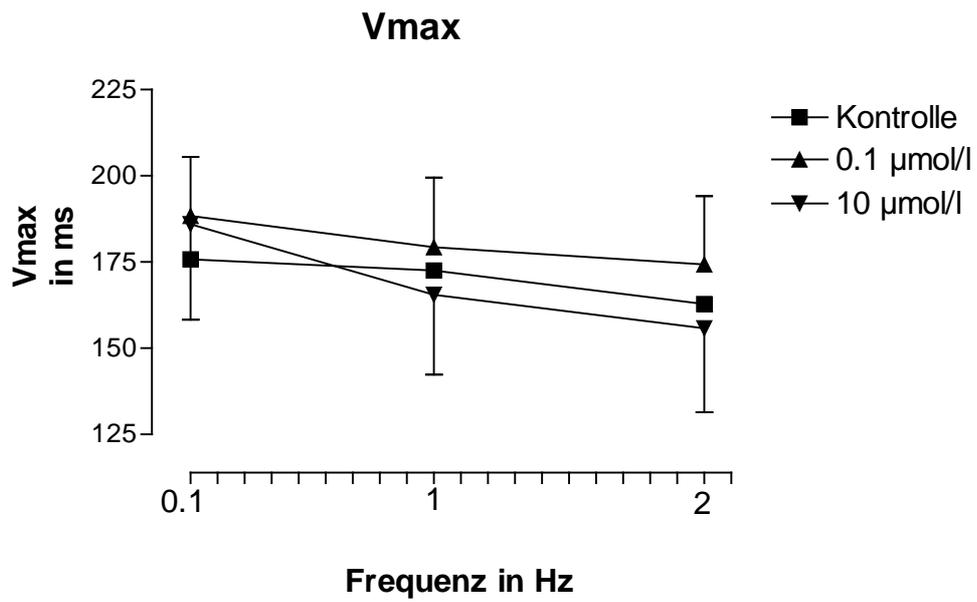
Frequenzabhängigkeit der APD 90 bei 0.1 und bei 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 4.7 mmol/l).

Abszisse: Reizfrequenz in Hz.

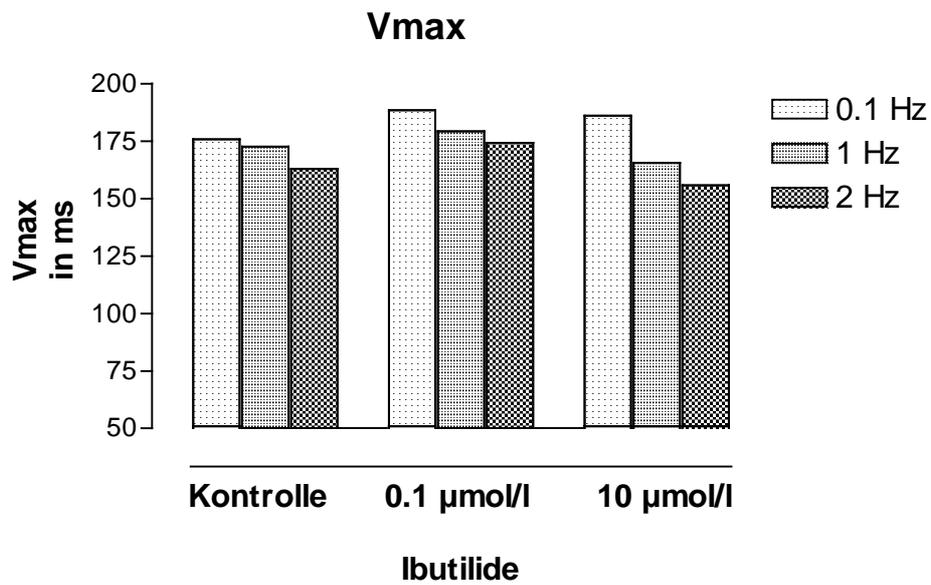
Ordinate: APD 90 in Prozent der Kontrolle bei der jeweiligen Reizfrequenz (= 100%).

SEM als Balken dargestellt. (n = 6-8)

A)



B)

**Abbildung 10:**

Frequenzabhängigkeit des Parameters V_{\max} bei 0 (Kontrolle), 0.1 und 10 µmol/l Ibutilide.

($[K^+]_o$: 4.7 mmol/l). SEM als Balken dargestellt. (n = 6-8)

In A) Darstellung als Graph und in B) als Blockdiagramm.

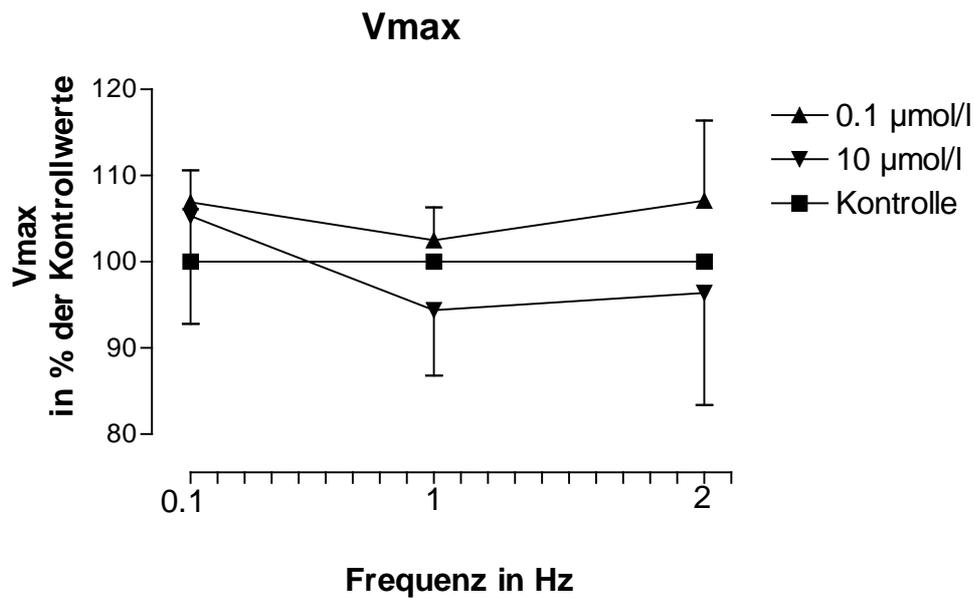


Abbildung 11:

Frequenzabhängigkeit des Parameters V_{\max} bei 0.1 und bei 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide ($[\text{K}^+]_o$: 4.7 mmol/l).

Abszisse: Reizfrequenz in Hz.

Ordinate: V_{\max} in Prozent der Kontrolle bei der jeweiligen Reizfrequenz (= 100%).

SEM als Balken dargestellt. (n = 6-8)

3.5. Frequenzabhängigkeit des Einflusses von Ibutilide auf die Aktionspotentialparameter unter „slow response“-Bedingungen ($[\text{K}^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)

Die Frequenzabhängigkeit der Wirkung der Substanz Ibutilide auf die verschiedenen Aktionspotentialparameter unter „slow response“-Bedingungen ($[\text{K}^+]_o$: 27 mmol/l) wurde bei den Konzentrationen $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol/l}$ und $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ untersucht. Es wurden zwei Frequenzen (0.05 Hz und 0.17 Hz) verwendet.

In den Kontrollregistrierungen ohne Substanz wurden die APD 30 und APD 90 durch Steigerung der Reizfrequenz verkürzt und V_{\max} reduziert (siehe Tabelle 7).

Ibutilide ($\mu\text{mol/l}$)	APD 30		APD 90		dV/dtmax	
	0.05	0.17	0.05	0.17	0.05	0.17
Kontrolle (absolut)	340.5 \pm 31.1 ms	324 \pm 29.2 ms	446 \pm 22.9 ms	424.5 \pm 25.2 ms	3.7 \pm 0.4 V/s	3.6 \pm 0.4 V/s
0.1	116.4 \pm 11.6 %	122.7 \pm 10.9 %	113.9 \pm 11.1 %	124.1 \pm 11.8 %	99.3 \pm 5.2 %	86.9 \pm 11.3 %
10	129.5 \pm 16.8 %	124.1 \pm 16 %	135.9 \pm 15.1 %	137.2 \pm 15.4	95.5 \pm 4 %	88.9 \pm 5.5

Tabelle 7:

Frequenzabhängige Wirkung von 0.1 und 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide auf die „slow response“- Parameter des Meerschweinchenpapillarmuskels ($[\text{K}^+]_o$: 27 mmol/l).

Substanzeffekte in % der Kontrollwerte bei der jeweiligen Reizfrequenz.

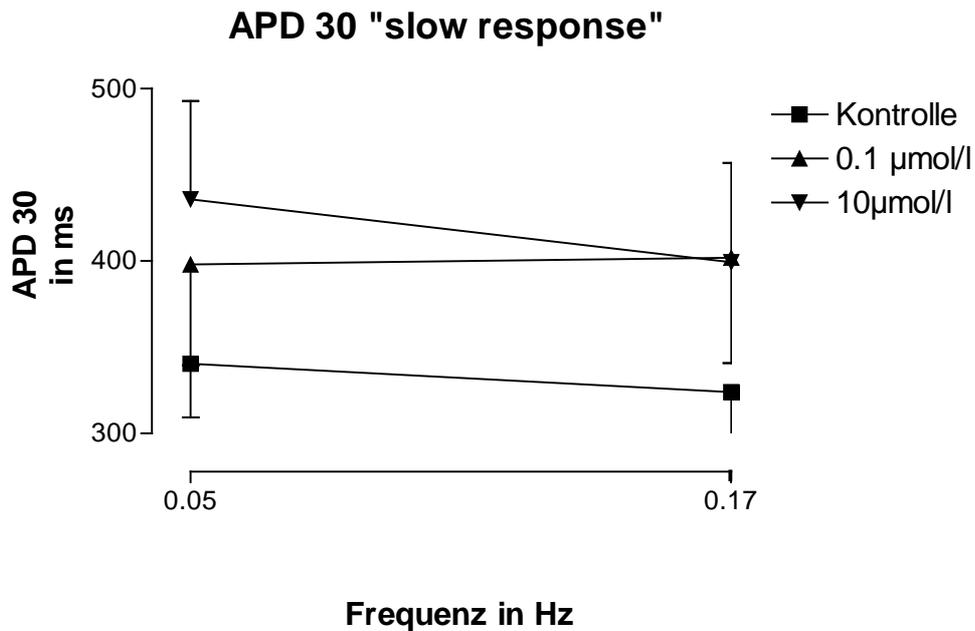
Reizfrequenzen: 0.05 und 0.17 Hz. Mittelwerte \pm Standardmessfehler (SEM). (n = 4)

Bei einer Konzentration von 0.1 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide wurden die Werte der APD 30 bei steigender Frequenz von 0.05 auf 0.17 Hz sowohl absolut als auch relativ in Bezug zur Kontrolle gering erhöht (absolut von 398 ± 58.5 ms auf 402 ± 61.1 ms und relativ von 116.4 ± 11.6 % auf 122.7 ± 10.9 %) (siehe Abbildung 12 und 13). Ebenso verhielt es sich mit den Werten der APD 90 (absolut von 512.8 ± 69.6 ms auf 533 ± 74.6 ms und relativ von 113.9 ± 11.1 % auf 124.1 ± 11.8 %) (siehe Abbildung 14 und 15). Die Werte für V_{max} nahmen mit Steigerung der Reizfrequenz auf 0.17 Hz hingegen ab (absolut von 3.7 ± 0.4 V/s auf 3.2 ± 0.6 V/s und relativ von 99.3 ± 5.2 % auf 86.9 ± 11.3 %) (siehe Abbildung 16 und 17).

Bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide wurden die Werte der APD 30 bei steigender Reizfrequenz von 0.05 auf 0.17 Hz sowohl absolut als auch relativ in Bezug zur Kontrolle gesenkt (absolut von 435.8 ± 57 ms auf 399.3 ± 57.6 ms und relativ von 129.5 ± 16.8 % auf 124.1 ± 16 %) (siehe Abbildung 12 und 13). Ebenso verhielt es sich mit den Werten der APD 90, wobei hier die absolute Senkung wesentlich schwächer ausgeprägt (von im Mittel 607.5 ± 74.3 ms auf 585.3 ± 78.9 ms) und relativ in Prozent der Kontrolle keine deutliche Änderung der APD 90

zu verzeichnen war (0.05 Hz: 135.9 ± 15.1 %, 0.17 Hz: 137.2 ± 15.4 % der Kontrolle) (siehe Abbildung 14 und 15). Die Werte für V_{\max} nahmen bei Steigerung der Frequenz von 0.05 Hz auf 0.17 Hz ab (absolut von 3.5 ± 0.4 V/s auf 3.2 ± 0.4 V/s und relativ von 95.5 ± 4 % auf 88.9 ± 5.5 %) (siehe Abbildung 16 und 17).

A)



B)

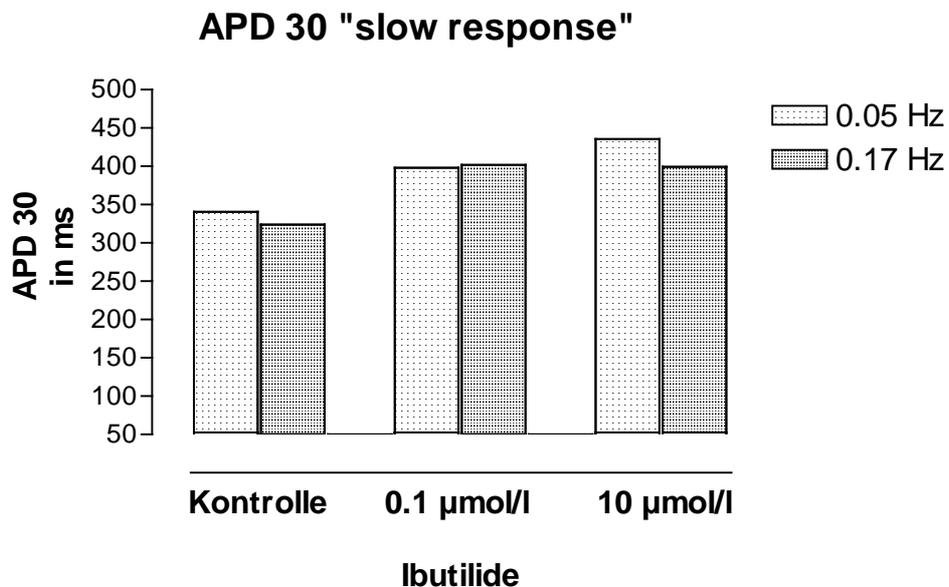
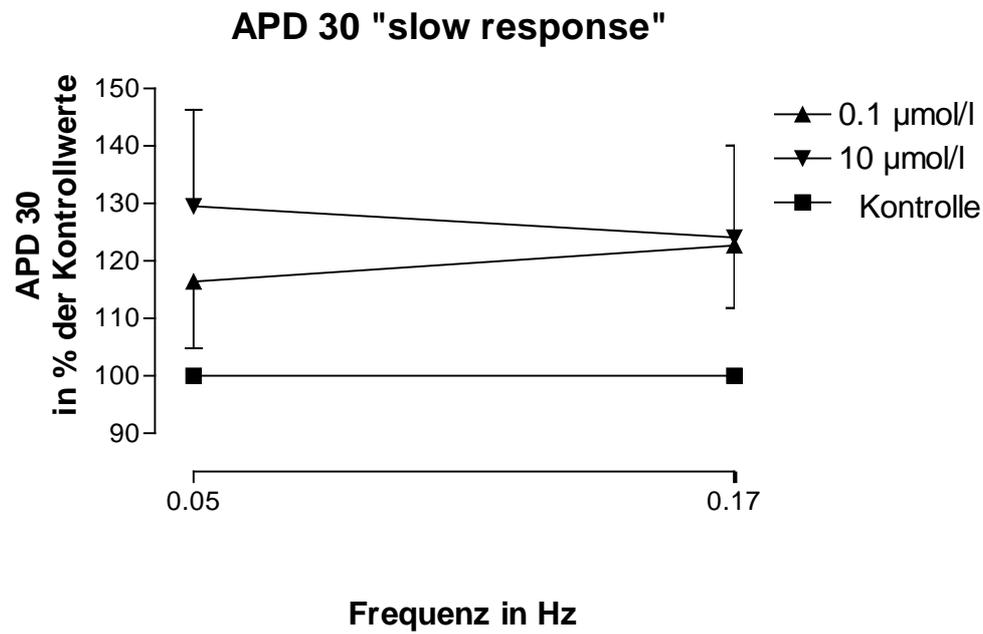


Abbildung 12:

Frequenzabhängigkeit der APD 30 bei 0 (Kontrolle), bei 0.1 und bei 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 27 mmol/l). SEM als Balken dargestellt. (n=4)

In A) Darstellung als Graph und in B) als Blockdiagramm.

**Abbildung 13:**

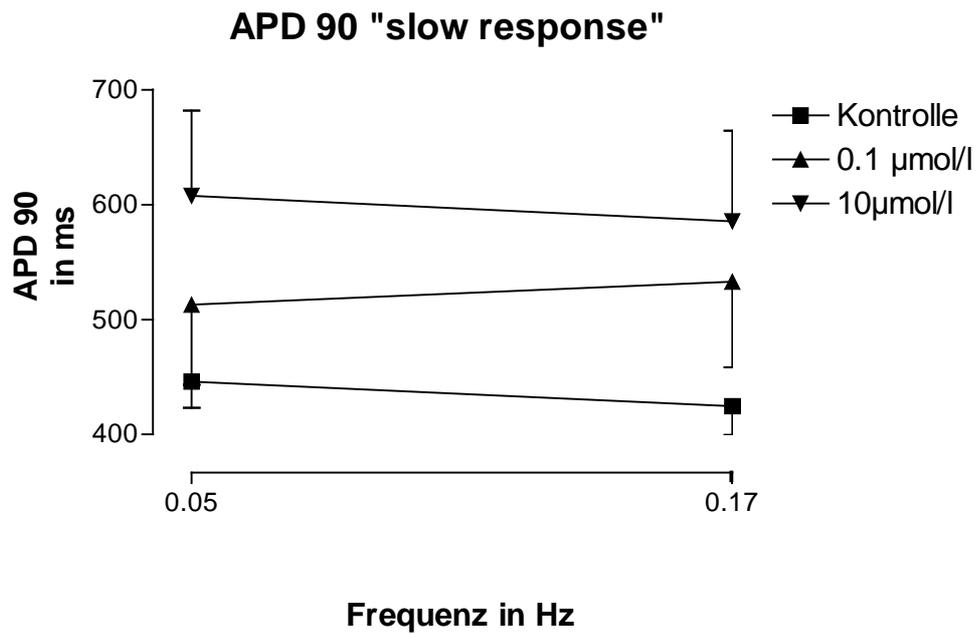
Frequenzabhängigkeit der APD 30 bei 0.1 und bei 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 27 mmol/l).

Abszisse: Reizfrequenz in Hz.

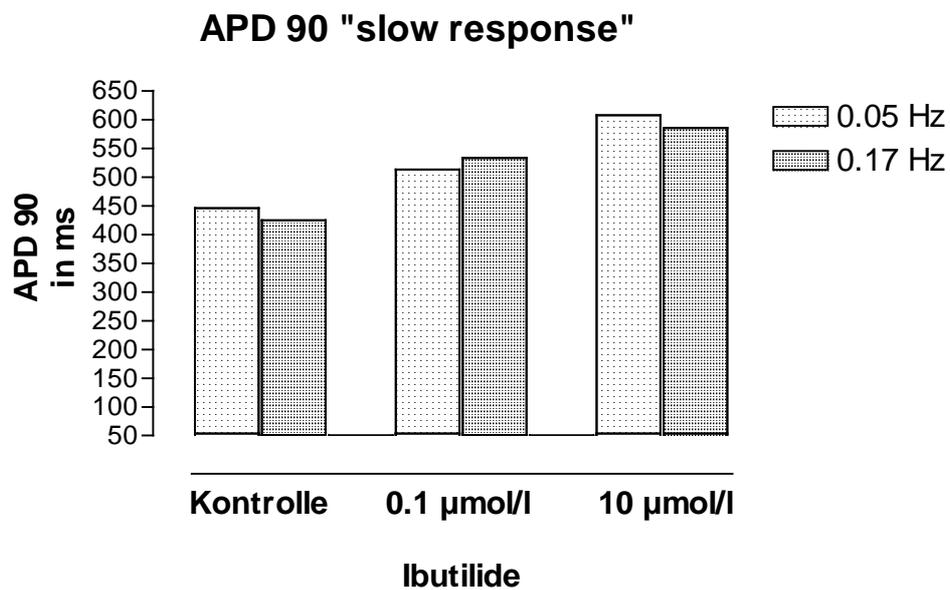
Ordinate: APD 30 in Prozent der Kontrolle bei der jeweiligen Reizfrequenz (= 100%).

SEM als Balken dargestellt. (n = 4)

A)



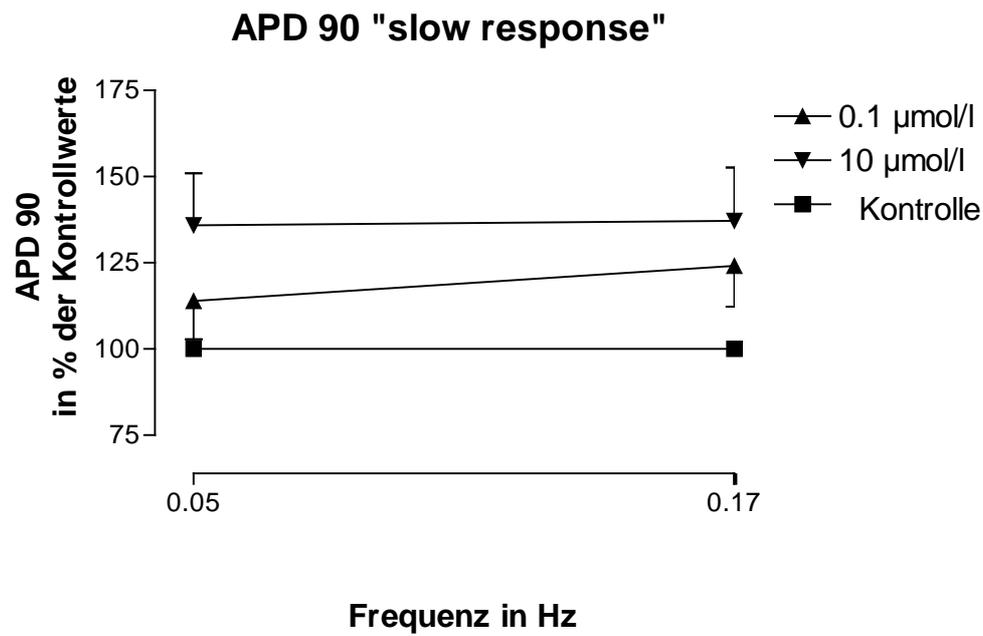
B)

**Abbildung 14:**

Frequenzabhängigkeit der APD 90 bei 0.1 und 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 27 mmol/l).

SEM als Balken dargestellt. (n =4)

In A) Darstellung als Graph und in B) als Blockdiagramm.

**Abbildung 15:**

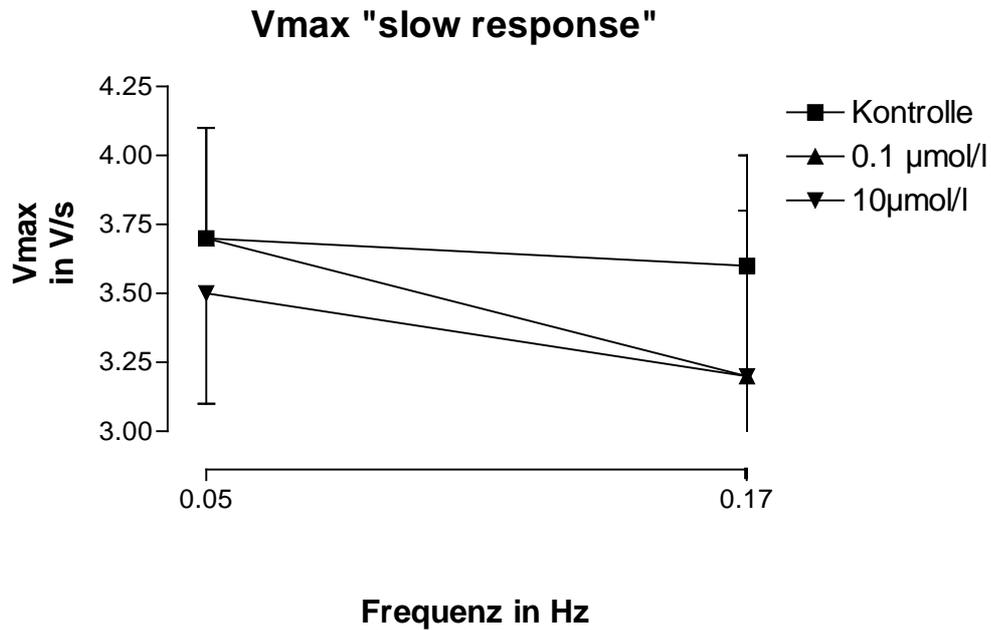
Frequenzabhängigkeit der APD 90 bei 0.1 und bei 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 27 mmol/l).

Abszisse: Reizfrequenz in Hz.

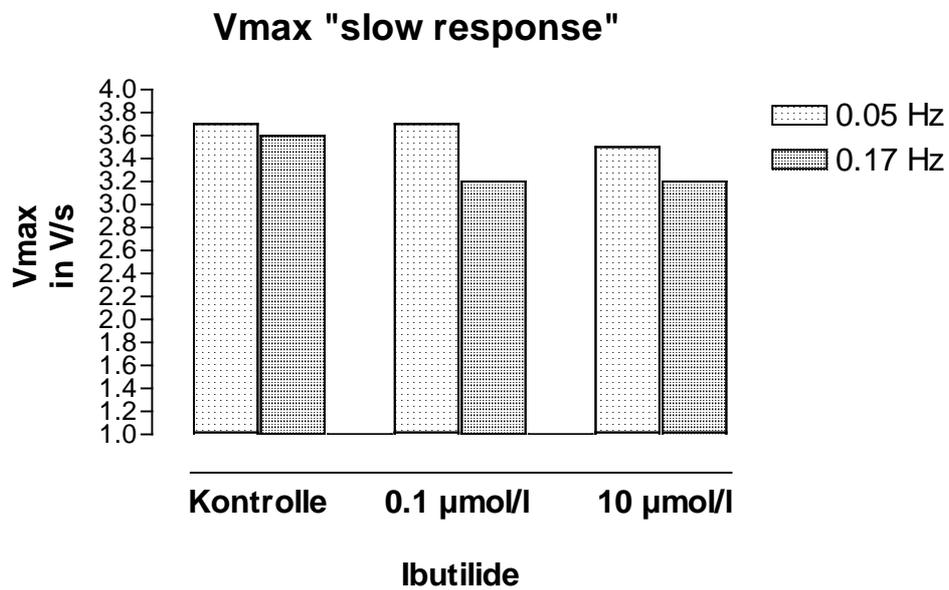
Ordinate: APD 90 in Prozent der Kontrolle bei der jeweiligen Reizfrequenz (= 100%).

SEM als Balken dargestellt. (n = 4)

A)



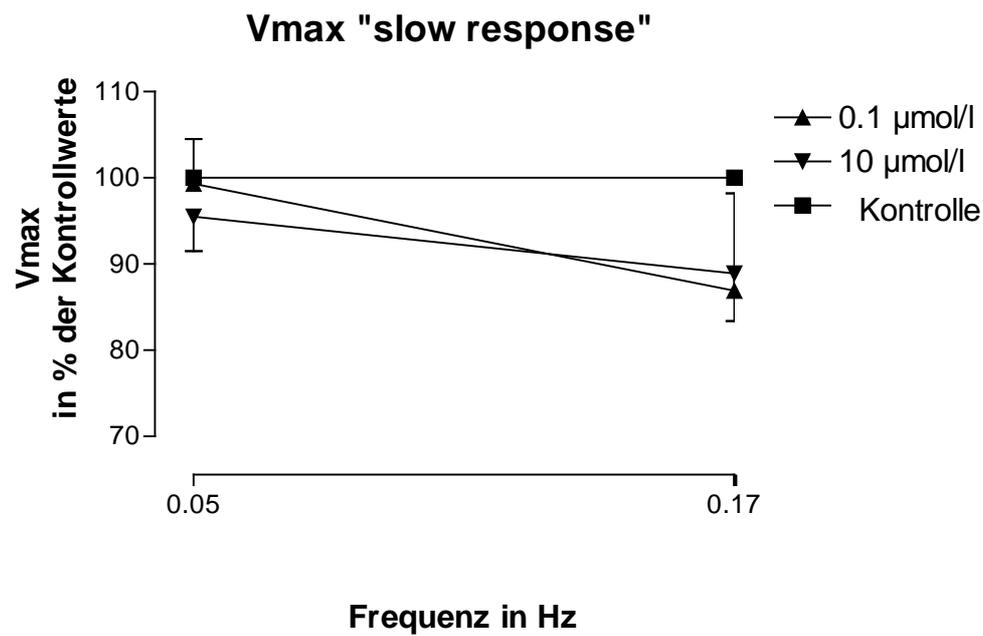
B)

**Abbildung 16:**

Frequenzabhängigkeit des Parameters V_{\max} bei 0 (Kontrolle), bei 0.1 und 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 27 mmol/l).

SEM als Balken dargestellt. (n = 4)

In A) Darstellung als Graph und in B) als Blockdiagramm.

**Abbildung 17:**

Frequenzabhängigkeit des Parameters V_{\max} bei 0.1 und bei 10 µmol/l Ibutilide ($[K^+]_o$: 27 mmol/l).

Abszisse: Reizfrequenz in Hz.

Ordinate: V_{\max} in Prozent der Kontrolle bei der jeweiligen Reizfrequenz (= 100%).

SEM als Balken dargestellt. (n = 4)

3.6. Post-Pause-Versuche unter Normalbedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$)

Die Post-Pause-Versuche sollten klären, mit welchem Kanal-Zustand die Substanz Ibutilide interagiert. Hierzu wurden die Aktionspotentialparameter APD 30 und APD 90 herangezogen. Zu Beginn einer 30 minütigen Reizpause wurde Ibutilide in verschiedenen Konzentrationen ($1 \mu\text{mol/l}$, $10 \mu\text{mol/l}$ und $30 \mu\text{mol/l}$) appliziert. Nach Wiederaufnahme der Reizung wurden die Aktionspotentiale kontinuierlich mittels der Autocycle-Funktion des Speicheroszilloskops Nicolet registriert, um so eine Aussage darüber machen zu können, ob die Substanz im reizfreien Intervall an den Kanal im Ruhezustand bindet. Dieses würde sich in einer Veränderung des Aktionspotentials direkt beim ersten Reiz oder aber direkt nach den ersten Reizen im Anschluss an die Reizpause ausdrücken, da für Substanzen, die durch die sogenannte „rested-state-blockade“ an den Kanal im Ruhezustand binden charakteristisch ist, dass bereits zu Beginn der Stimulation ein hoher Anteil blockierter Kanäle vorliegt und sich schnell eine Abnahme von V_{max} einstellt. Dies ist z. B. für Lidocain beschrieben worden (COLATSKY 1982; GINTANT und HOFFMANN 1984).

Die Reizfrequenz betrug in den Post-Pause-Versuchen 0.17 Hz , d. h. der Muskel wurde alle 6 Sekunden gereizt.

Unter **Kontrollbedingungen** ohne Zugabe der Substanz Ibutilide lag der erste Wert der APD 90 nach der Reizpause, bezogen auf den Kontrollwert, der vor der Reizpause registriert wurde, bei $99.2 \pm 1.3 \%$ der Kontrolle (siehe Abbildung 18). Beim 5. Signal lag der Wert bei $100.2 \pm 1.4 \%$ der Kontrolle und stieg weiterhin kontinuierlich an, so dass 15 Minuten nach Beginn der Reizung ein Wert von $103.4 \pm 1.9 \%$ der Kontrolle registriert wurde.

Bei der APD 30 hingegen lagen die Werte während der ersten 5 Signale nach der Reizpause oberhalb der Kontrollwerte (beim ersten Reiz wurde ein Wert von $104.4 \pm 1.2 \%$ der Kontrolle erreicht, beim 5. Reiz ein Wert von $100.9 \pm 4.5 \%$ der Kontrolle). Bis zum 35. Signal lagen die Werte im Mittel leicht unterhalb der Kontrolle (ein Minimum wurde beim 15. Signal mit einem Wert von $97.3 \pm 7.1 \%$ der Kontrolle erreicht). Ab dem 40. Signal wurden wieder Werte oberhalb der Kontrolle registriert (beim 40. Signal ein Wert von $101.2 \pm 2.7 \%$ der Kontrolle und 15 Minuten nach Beginn der Reizpause ein Wert von $103.6 \pm 1.6 \%$ der Kontrolle).

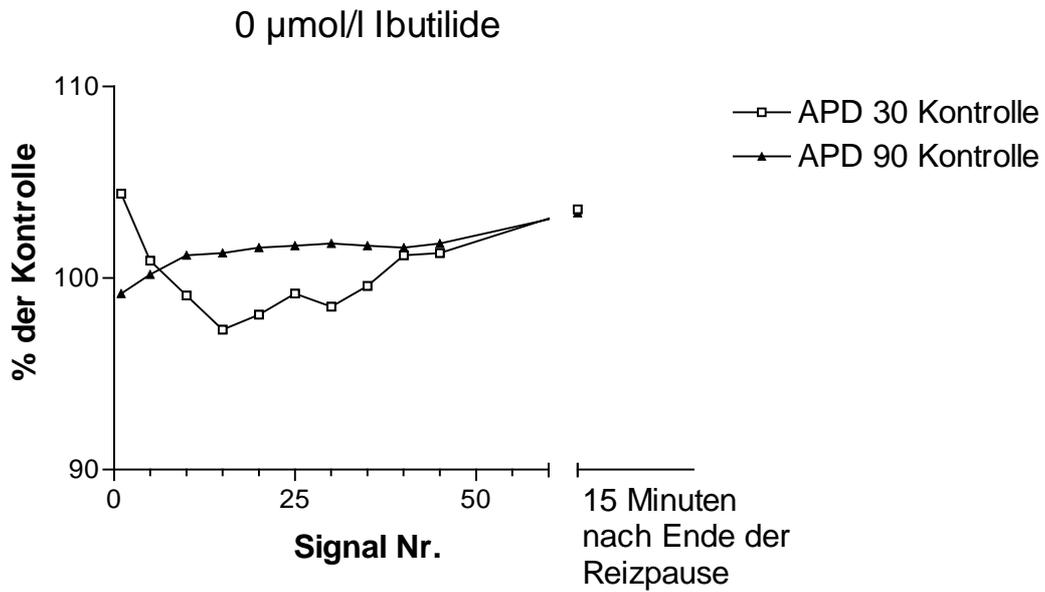


Abbildung 18:

Post-Pause-Versuch unter Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) bei 0 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide (Kontrollbedingungen).

Reizfrequenz = 0.17 Hz. (n = 3)

Dargestellt ist der Übersicht halber jedes 5. Signal der ersten 50 Signale nach Wiederaufnahme der Reizung im Anschluss an eine 30 minütige Reizpause sowie ein Signal, das 15 Minuten nach Wiederaufnahme der Reizung aufgezeichnet wurde.

X-Achse: Nummer der Reizantwort nach der Reizpause, Reizfrequenz 0.17 Hz.

Y-Achse: APD 30 bzw. APD 90 in % bezogen auf das letzte Signal vor der Reizpause mit einer APD 30 von 339.7 ms und einer APD 90 von 484 ms.

Nach 30 minütiger Reizpause zeigte die Substanz Ibutilide bei einer Konzentration von $1 \mu\text{mol/l}$ nach Wiederaufnahme der Reizung eine stetige Zunahme der APD 90 während der ersten 20 Signale. Schon beim ersten Reiz lag der Wert der APD 90 über dem des Kontrollwertes (Erhöhung von zunächst 109.8% der Kontrolle auf ein Plateau von 125% der Kontrolle) (siehe Abbildung 19). Nach den darauffolgenden 50 Reizen und bei einer Aufnahme 15 Minuten nach Beginn der Reizung des Muskels ließ sich nur noch eine geringe Effektzunahme erkennen, sodass der mittlere Wert der APD 90 nach 15 minütiger Stimulation 129.4 % der Kontrolle betrug.

Auch die Werte der APD 30 lagen schon bei Beginn der Reizung oberhalb der Kontrollwerte, wobei hier allerdings kein Anstieg der Werte innerhalb der 15 minütigen Stimulation verzeichnet wurde. So lag der Wert der APD 30 nach dem ersten Reiz bei 115.2 % der Kontrolle und nach 15 Minuten bei 115.8 % der Kontrolle.

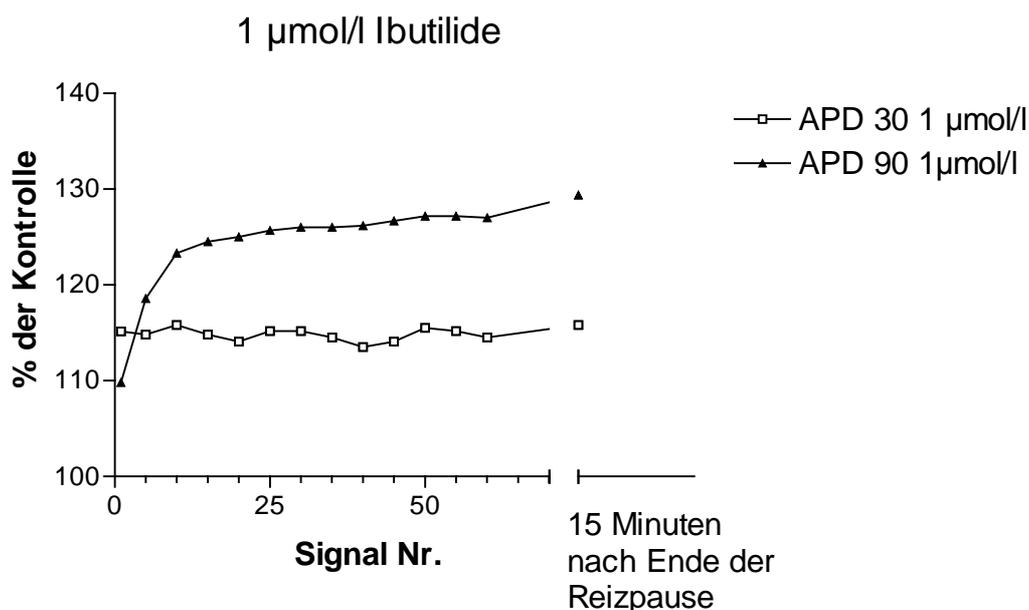


Abbildung 19:

Post-Pause-Versuch unter Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) bei $1 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide.

Reizfrequenz = 0.17 Hz. (n = 1)

Dargestellt ist der Übersicht halber jedes 5. Signal der ersten 60 Signale nach Wiederaufnahme der Reizung im Anschluss an eine 30 minütige Reizpause sowie ein Signal, das 15 Minuten nach Wiederaufnahme der Reizung aufgezeichnet wurde.

X-Achse: Nummer der Reizantwort nach der Reizpause, Reizfrequenz = 0.17 Hz.

Y-Achse: APD 30 bzw. APD 90 in % bezogen auf das letzte Signal vor der Reizpause mit einer APD 30 von 352.7 ms und einer APD 90 von 501.7 ms.

Bei einer Konzentration von **10 $\mu\text{mol/l}$** Ibutilide war nach Wiederaufnahme der Reizung bis zum 10. Signal eine starke Verlängerung der APD 90 zu verzeichnen, wobei jedoch alle Werte unterhalb des Kontrollwerts lagen (Kontrollwert = letztes Signal vor der Pause. Da es sich um eine kumulative Substanzgabe handelte, entspricht er dem letzten gemessenen Signal, also dem 15-Minuten-Wert unter **1 $\mu\text{mol/l}$** Ibutilide) (siehe Abbildung 20). Beim ersten Reiz betrug die APD 90 $90.9 \pm 1.5 \%$ der Kontrolle ($p = 0.03$), beim 10. Reiz wurde ein Plateau erreicht, mit einem Wert von $96.5 \pm 0.7 \%$ der Kontrolle ($p = 0.04$). Mit den darauffolgenden Reizen nahm die APD 90 kontinuierlich ab und erreichte nach 15 Minuten einen Wert von $93.2 \pm 0.8 \%$ der Kontrolle ($p = 0.012$).

Die APD 30 lag beim ersten Reiz bei einem Wert von $95.7 \pm 4.5 \%$ der Kontrolle und nahm im weiteren Verlauf kontinuierlich ab, so dass beim 10. Reiz bereits ein Wert von $93.1 \pm 2.6 \%$ und nach 15 Minuten ein Wert von $88.7 \pm 2.6 \%$ der Kontrolle erreicht wurde.

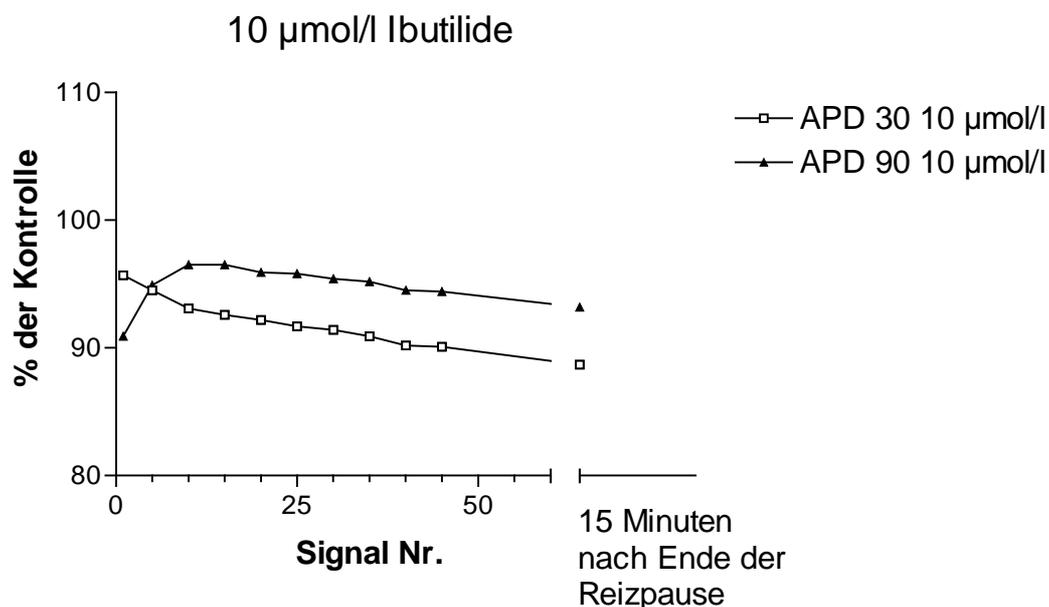


Abbildung 20:

Post-Pause-Versuch unter Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) bei $10 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide.

Reizfrequenz = 0.17 Hz . ($n = 3$)

Dargestellt ist der Übersicht halber jedes 5. Signal der ersten 45 Signale nach Wiederaufnahme der Reizung im Anschluss an eine 30 minütige Reizpause sowie ein Signal, das 15 Minuten nach Wiederaufnahme der Reizung aufgezeichnet wurde.

X-Achse: Nummer der Reizantwort nach der Reizpause, Reizfrequenz = 0.17 Hz .

Y-Achse: APD 30 bzw. APD 90 in % bezogen auf das letzte Signal vor der Reizpause (entspricht dem 15-Minuten-Wert unter $1 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide) mit einer APD 30 von 344 ms und einer APD 90 von 528 ms .

Bei einer Konzentration von **30 $\mu\text{mol/l}$** Ibutilide betrug nach Wiedereinsetzen der Stimulation die APD 90 beim ersten Reiz 75.1 % der Kontrolle (Kontrollwert = letztes Signal vor der Pause. Da es sich um eine kumulative Substanzgabe handelte, entspricht er dem letzten gemessenen Signal, also dem 15-Minuten-Wert unter 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide). Dann wurde die APD 90 bis zum 10. Reiz leicht erhöht und nahm anschließend kontinuierlich ab. Beim 10. Reiz betrug sie 76.6 % der Kontrolle und 15 Minuten nach Wiederaufnahme der Stimulation 69.3 %. Die Werte der APD 90 lagen somit nach der Reizpause deutlich unter den Kontrollwerten (siehe Abbildung 21). Beim ersten Reiz nach der Reizpause lag der mittlere Wert der APD 30 bei 74.1 % der Kontrolle, beim 10. Reiz sank er auf 71.8 % ab und erreichte nach 15 Minuten einen Wert von 62.1 %.

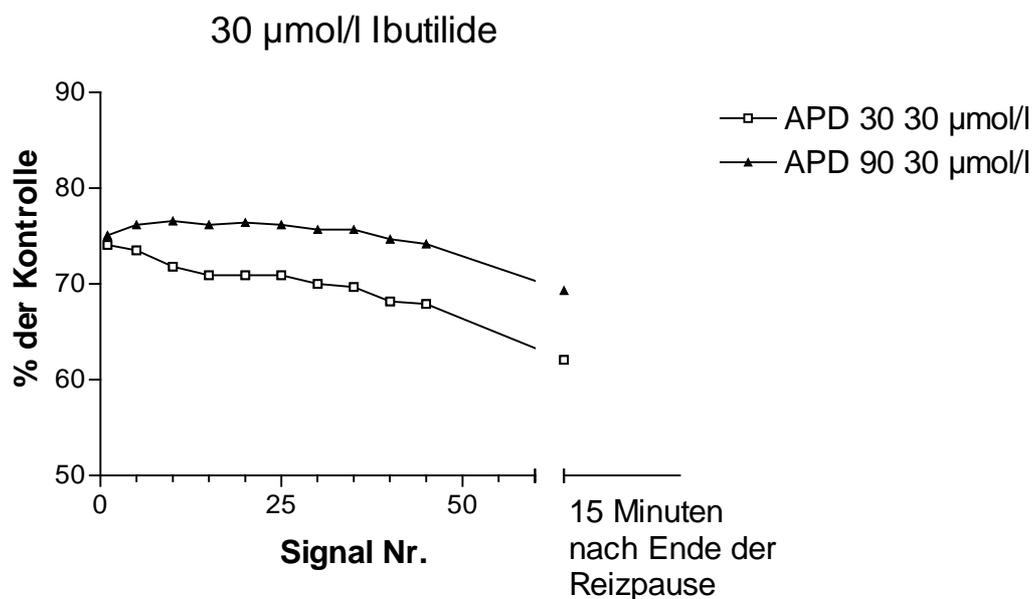


Abbildung 21:

Post-Pause-Versuch unter Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) bei 30 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide.

Reizfrequenz = 0.17 Hz. (n = 1)

Dargestellt ist der Übersicht halber jedes 5. Signal der ersten 45 Signale nach Wiederaufnahme der Reizung im Anschluss an eine 30 minütige Reizpause sowie ein Signal, das 15 Minuten nach Wiederaufnahme der Reizung aufgezeichnet wurde.

X-Achse: Nummer der Reizantwort nach der Reizpause, Reizfrequenz = 0.17 Hz.

Y-Achse: APD 30 bzw. APD 90 in % bezogen auf das letzte Signal vor der Reizpause (entspricht dem 15-Minuten-Wert unter 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide) mit einer APD 30 von 326 ms und einer APD 90 von 504.7 ms.

3.7. Post-Pause-Versuche unter „slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$)

Bei den Post-Pause-Versuchen unter „slow response“-Bedingungen wurde vorgegangen wie unter 3.5. bereits beschrieben. Die Zellen wurden vor Beginn des Versuches mit $27 \text{ mmol/l } [K^+]_o$ depolarisiert. Es wurden Konzentrationen von 1 und $30 \text{ } \mu\text{mol/l}$ Ibutilide verwendet. Vor und nach der Reizpause wurde das Präparat mit 0.17 Hz stimuliert.

Unter **Kontrollbedingungen** ohne Zugabe der Substanz Ibutilide lag der erste Wert der APD 90 nach der Reizpause, bezogen auf den Kontrollwert, der vor der Reizpause registriert wurde, bei 119.2% der Kontrolle (siehe Abbildung 22). Beim 8. Signal konnte eine starke Verkürzung der APD 90 auf $105.1 \pm 7.3 \%$ der Kontrolle registriert werden, wobei mit dem 8. Signal ein Plateau erreicht wurde. 15 Minuten nach der Reizpause wurde ein Wert von 105.9% der Kontrolle gemessen.

Ähnlich verhielt sich die APD 30. Der erste Wert nach der Reizpause lag bei 122.6% der Kontrolle, der Wert des 8. Signals war gegenüber dem ersten Wert stark vermindert und erreichte mit 108.1% der Kontrolle ein Plateau. 15 Minuten nach der Reizpause wurden Werte von 107.4% der Kontrolle registriert.

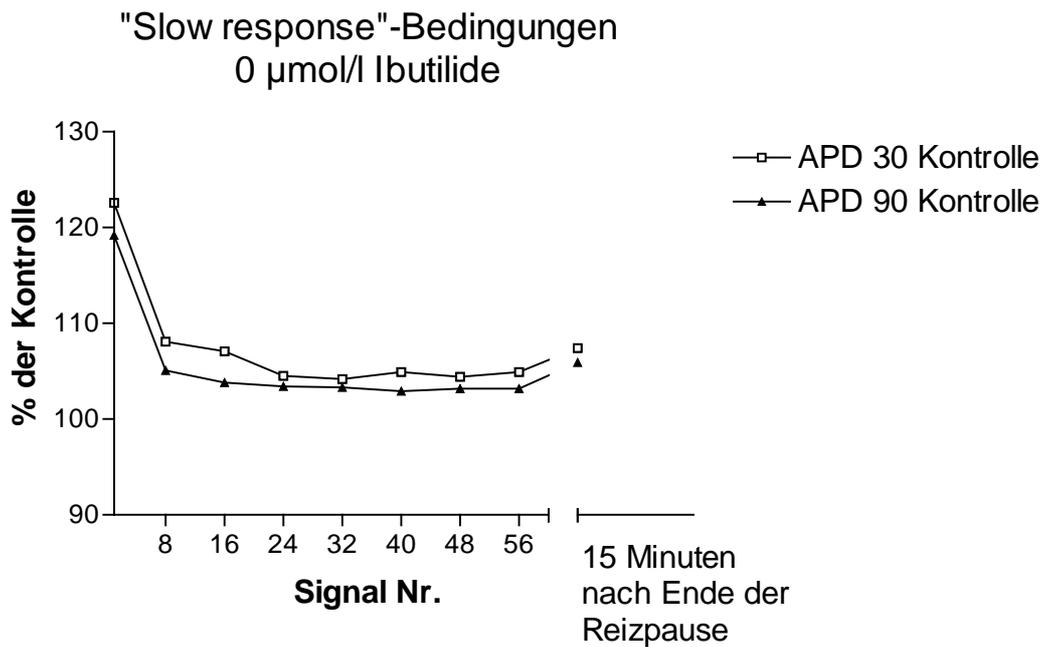


Abbildung 22:

Post-Pause-Versuch unter „slow response“-Bedingungen ($[\text{K}^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$) bei $0 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide (Kontrollbedingungen).

Reizfrequenz = 0.17 Hz . ($n = 2$)

Dargestellt ist der Übersicht halber jedes 8. Signal der ersten 56 Signale nach Wiederaufnahme der Reizung im Anschluss an eine 30 minütige Reizpause sowie ein Signal, das 15 Minuten nach Wiederaufnahme der Reizung aufgezeichnet wurde.

X-Achse: Nummer der Reizantwort nach der Reizpause, Reizfrequenz = 0.17 Hz .

Y-Achse: APD 30 bzw. APD 90 in % bezogen auf das letzte Signal vor der Reizpause mit einer APD 30 von 373 ms und einer APD 90 von 460 ms .

Unter der Einwirkung von **1 $\mu\text{mol/l}$** Ibutilide während der 30 minütigen Reizpause wurden mit einsetzender Reizung die APD 90 und die APD 30 zunehmend verkürzt. Alle Werte lagen deutlich oberhalb der Kontrollwerte (siehe Abbildung 23).

Direkt nach Einsetzen der Reizung konnte ein Wert von 167.6 % der Kontrolle für die APD 90 verzeichnet werden, wobei der Wert für die APD 30 166.4 % der Kontrolle betrug. Bis zum 32. Signal nahmen die Werte für die APD 30 und 90 ab und erreichten ein Plateau (der Wert für die APD 90 lag beim 32. Signal bei 148.6 % der Kontrolle und für die APD 30 bei 147.7 %). Bis zu der Registrierung 15 Minuten nach Beginn der Reizung blieben die Werte relativ konstant (APD 90 145 % der Kontrolle und APD 30 142.4 %).

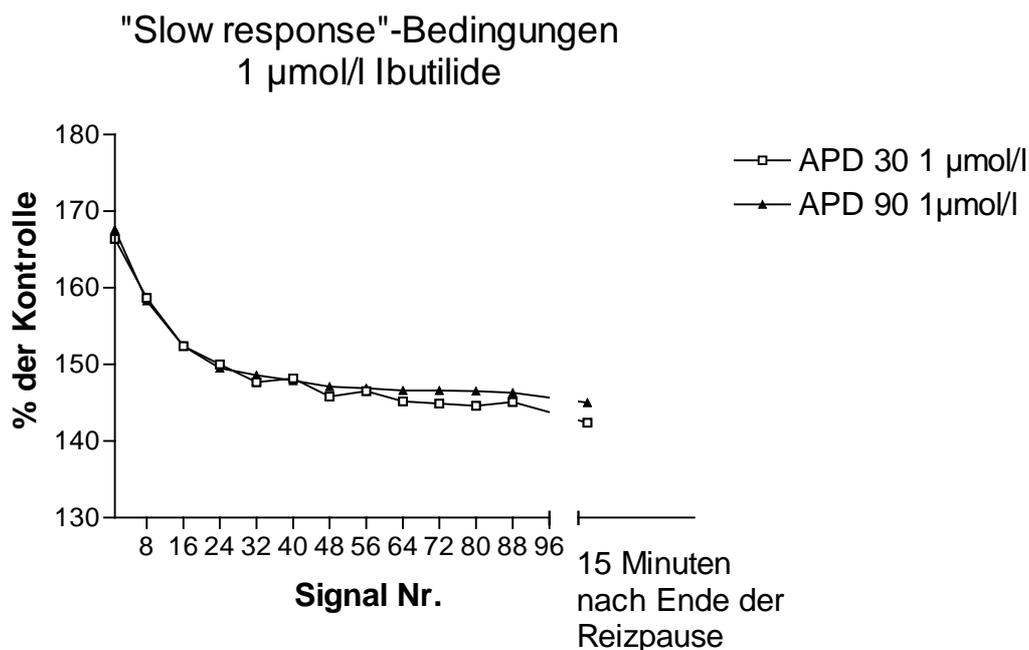


Abbildung 23:

Post-Pause-Versuch unter „slow response“-Bedingungen ($[\text{K}^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$) bei $1 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide.

Reizfrequenz = 0.17 Hz. (n = 2)

Dargestellt ist der Übersicht halber jedes 8. Signal der ersten 88 Signale nach Wiederaufnahme der Reizung im Anschluss an eine 30 minütige Reizpause sowie ein Signal, das 15 Minuten nach Wiederaufnahme der Reizung aufgezeichnet wurde.

X-Achse: Nummer der Reizantwort nach der Reizpause, Reizfrequenz = 0.17 Hz.

Y-Achse: APD 30 bzw. APD 90 in % bezogen auf das letzte Signal vor der Reizpause mit einer APD 30 von 400.5 ms und einer APD 90 von 487 ms.

Nach Gabe von **30 $\mu\text{mol/l}$** Ibutilide während der Reizpause ergab sich für die APD 90 und APD 30 ein im Vergleich zu 1 $\mu\text{mol/l}$ vollständig anderes Bild (siehe Abbildung 24).

Beim ersten Signal nach der Reizpause wurden für die APD 90 144.9 % und für die APD 30 129.8 % der Kontrolle gemessen (Kontrollwert = letztes Signal vor der Pause. Da es sich um eine kumulative Substanzgabe handelte, entspricht er dem letzten gemessenen Signal, also dem 15-Minuten-Wert unter 1 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide). Bis zum 8. Signal fielen die APD 90 und APD 30 stark ab, wobei ein Plateau erreicht wurde (beim 8. Signal: APD 90: 82.8 %, APD 30: 80 % der Kontrolle). Bis 15 Minuten nach der Reizpause blieben die Werte für die APD 90 und APD 30 relativ konstant (APD 90: 72.5 % und APD 30: 69.9 % der Kontrolle).

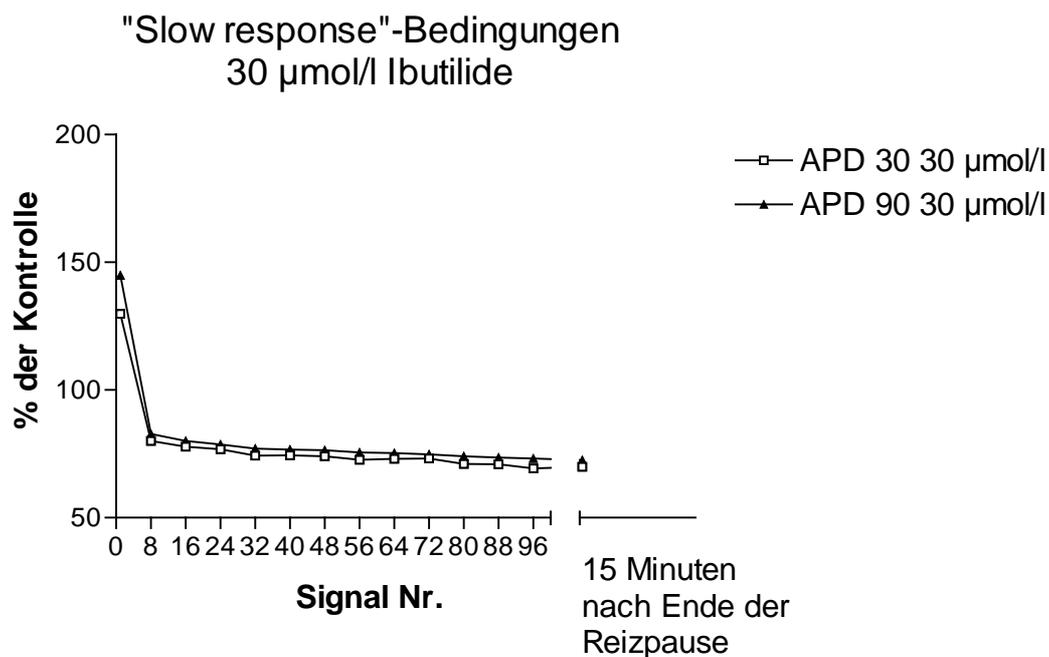


Abbildung 24:

Post-Pause-Versuch unter „slow response“-Bedingungen ($[\text{K}^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$) bei 30 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide.

Reizfrequenz = 0.17 Hz. (n = 2)

Dargestellt ist der Übersicht halber jedes 8. Signal der ersten 96 Signale nach Wiederaufnahme der Reizung im Anschluss an eine 30 minütige Reizpause sowie ein Signal, das 15 Minuten nach Wiederaufnahme der Reizung aufgezeichnet wurde.

X-Achse: Nummer der Reizantwort nach der Reizpause, Reizfrequenz = 0.17 Hz.

Y-Achse: APD 30 bzw. APD 90 in % bezogen auf das letzte Signal vor der Reizpause (entspricht dem 15-Minuten-Wert unter 1 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide) mit einer APD 30 von 570.5 ms und einer APD 90 von 706.5 ms.

3.8. Auswaschversuche

Bei den Auswaschversuchen wurden die APD 30 und APD 90 nach Gabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide bestimmt und die Werte nach 15-, 30-, 45- und 60 minütigem Auswaschen in % des Kontrollwertes dargestellt (0 μmol Substanz, Reizfrequenz 1 Hz, siehe Abbildung 25).

Bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide betrug die APD 30 63 %, die APD 90 betrug 90.9 % der Kontrolle.

Die APD 30 stieg nach 60 minütigem Auswaschen auf 76.9 %, die APD 90 auf 103.6 % der Kontrolle an.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Substanz Ibutilide sich nur sehr langsam auswaschen lässt.

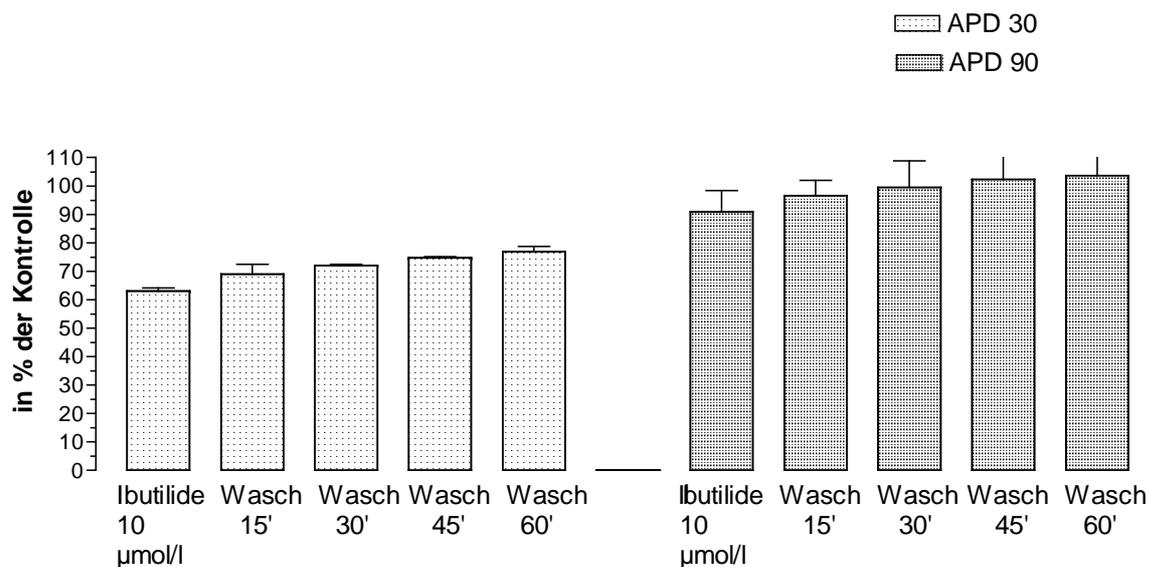


Abbildung 25:

Auswaschversuch: Steady state nach 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide und anschließendes Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung.

Links: APD 30-Werte in % der Kontrolle.

Rechts: APD 90-Werte in % der Kontrolle.

Standardfehler (SD) als Balken dargestellt, Reizfrequenz: 1 Hz.

Normalbedingungen ($[\text{K}^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$). (n = 2)

4. Diskussion

Die Substanz Ibutilide gehört nach der Einteilung von Vaughan und Williams (VAUGHAN und WILLIAMS, 1975) zur Klasse 3 der Antiarrhythmika, deren antiarrhythmische Wirkung hauptsächlich auf einer Aktionspotentialverlängerung beruht.

In früheren Studien wurde für Ibutilide eine aktionspotentialverlängernde Wirkung bei Konzentrationen bis $1 \cdot 10^{-7}$ mol/l und eine APD-Verkürzung bei weiter ansteigenden Konzentrationen festgestellt. Es wurde eine glockenförmige Konzentrations-Wirkungskurve beschrieben (z. B. LEE 1992 und LEE et. al. 1993). Über den Wirkmechanismus der Substanz sind sich die verschiedenen Autoren jedoch uneinig. LEE (1992), LEE et. al. (1993) und LEE und LEE (1998) schließen aus ihren Studien an Ventrikelzellen des Meerschweinchens und Vorhofzellen aus dem menschlichen Herzen, dass die Substanz bei niedrigen Konzentrationen bis $1 \cdot 10^{-7}$ mol/l hauptsächlich über die Aktivierung eines langsamen Natrium-Einwärtsstromes ihren aktionspotentialverlängernden Effekt erzielt. Zunächst wurde ein substanzsensitiver Natrium-Kanal I_{Na-s} beschrieben, wobei dieser Befund in späteren Studien widerlegt wird unter der neuen Annahme, dass der Natrium-Einwärtsstrom durch einen Ionenkanal erfolgt, der durch Nifedipin hemmbar ist. LEE und LEE. (1998) schließen daraus, dass es sich um einen Kalziumkanal handelt, der starke Ähnlichkeit mit dem L-Typ Kalziumkanal aufweist. Obwohl die Aktivierung eines langsamen Natrium-Einwärtsstroms hauptsächlich für den Substanzeffekt verantwortlich gemacht wird, schließen LEE und LEE (1998) nicht völlig aus, dass auch ein gewisser Kaliumkanal-blockierender Effekt zumindest eine geringe Rolle spielen könnte.

Die Aktionspotentialverkürzung bei hohen Konzentrationen schreiben LEE und LEE (1998) einer Aktivierung eines auswärtsgerichteten Kaliumstromes zu.

Auch die Autoren WESLEY et. al. (1993) vertreten die Ansicht, dass die APD-Verlängerung durch die Aktivierung eines Natriumkanals während des Plateaus zustande kommt. Auch für die Aktionspotentialverkürzung bei höheren Konzentrationen haben sie die gleiche Erklärung wie LEE und LEE (1998).

Andere Autoren zeigen hingegen in ihren Studien, dass der aktionspotentialverlängernde Effekt sehr wohl durch eine Blockade von auswärtsgerichteten Kaliumströmen, genauer gesagt der schnellen Komponente I_{Kr} des verzögerten Gleichrichters, zustande kommt. So wiesen YANG et. al. (1995) in

ihrer Studie nach, dass Ibutilide ein potenter Blocker des I_{Kr} -Kanals in AT-1 Zellen (atriale Tumorzellen von Mäusen) ist. Auch die Autoren *LYNCH et. al. (1995)* vermuteten eine Interaktion zwischen Ibutilide und dem Kanal I_{Kr} . *KODIROV (1998)*, der die Wirkung von Ibutilide auf beide Komponenten des I_K (I_{Kr} und I_{Ks}) in der Meerschweinchenventrikelzelle mittels Whole-Cell-Konfiguration der Patch-Clamp-Technik untersuchte, stellte fest, dass Ibutilide die Amplitude der auswärtsrektifizierenden Kaliumströme in einer konzentrationsabhängigen Weise reduziert, wobei die Blockade der schnellen Komponente I_{Kr} effektiver ist als die der langsamen. Die Autoren *PERRY et. al. (2004)* wiesen nach, dass Ibutilide HERG-Kanäle in einer konzentrationsabhängigen Weise blockiert, wobei die HERG-Kanäle die molekulare Basis für den I_{Kr} -Strom darstellen. Die Autoren *FRIEDRICHS et. al. (1993)* vermuteten, dass der antifibrillatorische Effekt von Ibutilide eventuell durch die Inhibition von ATP-abhängigen Kaliumkanälen zustande kommt. *WOOD et. al. (2001)* testeten den Effekt von Kalziumantagonisten bei Patienten, die mit Ibutilide behandelt wurden und kamen zu dem Schluss, dass ihre Ergebnisse mit der Theorie vereinbar waren, dass Ibutilide eher über eine Kaliumkanalblockade wirkt als über die Aktivierung eines Natriumeinstromes durch Modulation eines Kalziumkanals.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass der Wirkmechanismus der Substanz Ibutilide noch nicht vollständig geklärt ist. Zur Beantwortung noch offener Fragen wurde im Rahmen dieser Arbeit der Einfluss von Ibutilide auf Membranpotentiale der Zellen des Meerschweinchenpapillarmuskels untersucht. Die Untersuchungen wurden am normal polarisierten Muskel ($[K^+]_o = 4.7$ mmol/l), am teildepolarisierten Muskel ($[K^+]_o = 8$ mmol/l) und am depolarisierten Muskel („slow response“-Bedingungen, ($[K^+]_o = 27$ mmol/l)) durchgeführt. Es wurde die Frequenzabhängigkeit der Wirkung der Substanz Ibutilide auf die verschiedenen Aktionspotentialparameter und die isometrische Kontraktionskraft getestet und auch ihr Einfluss auf den nicht stimulierten Muskel. Zudem wurde die Auswaschbarkeit von Ibutilide untersucht.

Im Folgenden werden die Ergebnisse diskutiert.

4.1. Wirkung von Ibutilide auf die Aktionspotentialdauer, die Kraft und V_{\max} unter Normalbedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$), am teildepolarisierten Muskel ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$) und am depolarisierten Muskel („slow response“-Bedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$))

Ibutilide verlängert bis zu einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ die Dauer kardialer Aktionspotentiale. Bei höheren Konzentrationen nimmt die Aktionspotentialdauer ab. Bei Konzentrationen bis zu $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ ist die Aufstrichgeschwindigkeit V_{\max} normal polarisierter Präparate ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$), welche ein Maß für den schnellen Natrium-Einwärtsstrom i_{Na} darstellt (HONDEGHEM 1978, COHEN et. al. 1984), nicht wesentlich verändert. Dies gilt auch für die maximale Aufstrichgeschwindigkeit V_{\max} bei teildepolarisiertem Gewebe ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$), was ebenfalls die Vermutung verstärkt, dass die Substanz innerhalb der beschriebenen Konzentrationsbereiche keine Wirkung auf die schnellen Natriumkanäle hat. Dies lässt die Vermutung zu, dass die APD-Verlängerung auf die Reduktion von repolarisierenden Auswärtsströmen zurückzuführen sein könnte. In früheren Studien wurde gezeigt, dass die aktionspotentialprolongierende Wirkung der Substanz zumindest teilweise auf einen blockierenden Effekt von auswärtsgerichteten Kaliumströmen, genauer der schnellen Komponente I_{Kr} des verzögerten Gleichrichters, zurückzuführen ist (LYNCH et. al. 1994, YANG et. al. 1995, KODIROV 1998, PERRY et. al. 2004). Für diese Annahme spricht auch, dass die APD 90 stärker erhöht ist als die APD 30. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass eher die Phase der späten Repolarisation, für die der verzögerte Gleichrichter eine große Rolle spielt, durch die Substanz beeinflusst wird. Die APD-verlängernden Konzentrationen gehen mit einer positiven Inotropie einher (sichtbar an der Zunahme der Kraft F_c). Dies kann durch die Steigerung der intrazellulären Kalziumkonzentration durch die Verzögerung der frühen Repolarisation (sichtbar an der Verlängerung der APD 30) und der damit verbundenen verzögerten Inaktivierung des Kalzium-Einwärtsstroms erklärt werden. Mit der Abnahme der Aktionspotentialdauer bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ ist eine starke Abnahme der Kontraktionskraft F_c zu verzeichnen. Dies legt nahe, dass der Effekt der APD-Verkürzung durch die kalziumantagonistische Wirkung der Substanz bedingt sein könnte, da die Kontraktionskraft von der intrazellulären Kalziumkonzentration abhängig ist, für welche wiederum der Kalzium-Einwärtsstrom I_{si} eine der bestimmenden Größen ist. So wird durch Reduktion des I_{si}

durch spezifische Kalziumkanalblocker die Kontraktionskraft verringert (*BAYER et. al. 1975*). Betrachtet man die Effekte der Substanz am depolarisierten Papillarmuskel („slow response“-Bedingungen, $[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$), so stellt V_{max} ein direktes Maß für den Kalziumeinstrom I_{si} dar (*MALECOT und TRAUTWEIN 1987*). Bei steigender Konzentration von Ibutilide lässt sich eine Abnahme von V_{max} nachweisen, was ebenfalls für die kalziumantagonistische Eigenschaft der Substanz bei höheren Konzentrationen spricht. Die Vermutung, dass ein kalziumantagonistischer Effekt bei hohen Substanzkonzentrationen die Aktionspotentialdauer verkürzt, wird weiterhin dadurch untermauert, dass die APD 30 durch die Substanz bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ stärker verkürzt wird als die APD 90, wobei die APD 30 die Plateaudauer widerspiegelt. Das Plateau wird vorwiegend durch den Einstrom von Ca^{2+} - Ionen getragen.

Vergleicht man die Wirkung der Substanz auf die Aktionspotentialdauer des normal polarisierten Muskelpräparates ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) mit der des teildepolarisierten ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$) und depolarisierten Muskelpräparates („slow response“-Bedingungen $[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$), so lassen sich deutliche Unterschiede feststellen. Unter Kontrollbedingungen verlängert sich mit steigender Depolarisation (bei steigendem Ruhepotential) die APD, da die extrazelluläre K^+ -Konzentration erhöht wird und sich somit der Diffusionsgradient ändert, woraufhin die treibende Kraft für den K^+ -Ausstrom vermindert wird. Dadurch kommt es zu einer Repolarisationsverzögerung und somit zu einer Verlängerung des Aktionspotentials. Man weiß andererseits, dass die Leitfähigkeit der Kaliumkanäle bei steigendem Kalium zunimmt. Dies antagonisiert den Effekt der Repolarisationsverzögerung, kommt aber aufgrund der geringen Ausprägung nicht stark zum Tragen. So liegt die APD 90 unter Kontrollbedingungen beim normal polarisierten Muskel ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$) bei 281.4 ms, beim teildepolarisierten Muskel ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$) bei 295 ms und beim depolarisierten Muskel ($[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$) bei 424 ms.

Unter Zugabe der Substanz tritt ein Kaliumkanal-blockierender Effekt umso ausgeprägter auf, je stärker der Muskel depolarisiert ist. So ist bei Betrachtung der APD 30 bei $1 \mu\text{mol/l}$ Substanz unter Normalbedingungen ein Wert von 96.2 % der Kontrolle registrierbar, am teildepolarisierten Muskel ein Wert von 112.9 % und am depolarisierten Muskel ein Wert von 138.5 %. Ähnlich verhält sich die APD 90. Unter Normalbedingungen wurde ein Wert von 112.6 % der Kontrolle registriert, am teildepolarisierten Muskel ein Wert von 118.4 % und am depolarisierten Muskel ein

Wert von 141.1 %. Bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide ist unter Normalbedingungen schon deutlich der kalziumantagonistische Effekt der Substanz sichtbar, da APD 30 und APD 90 deutlich verkürzt sind (APD 30: 72.7 %, APD 90: 89.8 % der Kontrolle). Unter Bedingungen der Teildepolarisation wurde vermutlich der kalziumantagonistische Effekt vom Kaliumkanal-blockierenden Effekt überlagert, was sich in einer anhaltenden Verlängerung der Aktionspotentialdauer bei der hohen Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide manifestierte (APD 30: 108 % der Kontrolle, APD 90: 113 % der Kontrolle). Noch deutlicher war dieses Phänomen am depolarisierten Muskel sichtbar (APD 30: 124.1 % der Kontrolle, APD 90: 137.2 % der Kontrolle).

Wie bereits oben erwähnt, ist am depolarisierten Muskel die treibende Kraft für den Kalium-Ausstrom herabgesetzt, die Leitfähigkeit der Kaliumkanäle dagegen erhöht, so dass der Kaliumkanal-blockierende Substanzeffekt, die APD-Verlängerung, sich bevorzugt auswirkt. Versuche an sogenannten HERG-Kanälen, die die molekulare Basis für den Kaliumstrom I_{Kr} darstellen, zeigten, dass die Ströme bei Anhebung der extrazellulären Kaliumkonzentration in ihrer Größe zunahmten, und bei Verminderung der extrazellulären Kaliumkonzentration abnahmen (*SANGUETTI et. al.* 1995). Werden die Kaliumkanäle nun durch die Substanz Ibutilide blockiert, so resultiert am depolarisierten Muskel eine besonders starke Verlängerung der Aktionspotentialdauer.

4.2. Frequenzabhängigkeit der Substanzeffekte

Antiarrhythmika weisen idealerweise eine positive „use-dependence“ auf (typisch für Klasse I und Klasse IV Antiarrhythmika). Dies bedeutet, dass bei höheren Reizfrequenzen durch Zunahme der Kanalblockade ein stärkerer Substanzeffekt vorliegt als bei langsamen Frequenzen (*CARMELIET 1992, HANCOX et. al. 2000*). Dieser Effekt wurde zuerst an den Na⁺-Kanälen des Meerschweinchenmyokards für Chinidin beschrieben (*JOHNSON UND MC KINNON 1957*). Eine positive „use-dependence“ liegt typischerweise bei Substanzen vor, die bevorzugt an inaktivierte Kanäle binden (*HANCOX et. al. 2000*), da durch die Erhöhung der Reizfrequenz die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten des inaktivierten Zustandes zunimmt. Dies gilt hauptsächlich für Substanzen, die Natrium- oder Kalziumkanäle blockieren (Klasse I und Klasse IV Antiarrhythmika). Substanzen, die bevorzugt an geschlossene Kanäle binden (d. h. im Intervall zwischen den Aktionspotentialen) weisen hingegen eher eine „reverse use-dependence“ auf, was gemäß *RODEN et. al. (1988)* dadurch erklärt werden könnte, dass die Substanz während der Depolarisation vom Rezeptor dissoziiert. Dies würde bei höheren Reizfrequenzen eine schnellere Dissoziation vom Rezeptor und damit eine Verminderung des Substanzeffektes hervorrufen (*JURKIEWICZ und SANGUETTI 1991, HANCOX et. al. 2000*).

Leider weisen viele Klasse III Antiarrhythmika bzw. Kaliumkanalblocker eine „reverse use-dependence“ auf. Dies bedeutet, dass die Aktionspotentialverlängerung bei niedrigen Reizfrequenzen stärker ausgeprägt ist als bei hohen Frequenzen (*HONDEGHEM und SNYDERS 1990*). Eine mögliche Erklärung dieses Phänomens wurde von den Autoren *HAFNER et. al. (1988)* vorgenommen, die die „reverse use-dependence“ für Sotalol analysierten: Natrium- und Kalziumkanäle aktivieren viel schneller als Kaliumkanäle. Die Aktivierungszeitkonstanten für Natrium- und Kalziumkanäle liegen zwischen 0.2 und 5 ms, während sie für Kaliumkanäle bei 0.6 s liegen (*DI FRANCESCO und NOBLE 1985*). Aus diesem Grunde erscheint es naheliegend, dass für die Kaliumkanäle nicht die Frequenz der Kanalaktivierungen die „use-dependence“ bestimmt, sondern eher die Zeit, in der ein offener Kanalzustand mit Bindungsmöglichkeit der Substanz vorliegt, wobei diese durch die Aktionspotentialdauer bestimmt wird. Lange Aktionspotentiale erhöhen die Möglichkeit der Substanz, an aktivierte Kanäle zu binden. Die Aktionspotentialdauer wird unter Kontrollbedingungen bei Verminderung der Frequenz verlängert, woraus

schließlich die „reverse use-dependence“ resultieren könnte. In diesem Zusammenhang besteht die Gefahr der proarrhythmischen Wirkung, die durch Förderung von frühen Nachdepolarisationen entsteht (SURAWICZ 1989, CARLSSON *et. al.* 1990). Folgender Mechanismus scheint hierfür eine bedeutsame Rolle zu spielen (JANUARY und RIDDLE 1989, MAKIELSKI und JANUARY 1998): Durch die langsame Repolarisation des Aktionspotentials wird ein Kalziumeinstrom durch L-Typ Kalziumkanäle erleichtert, so dass frühe Nachdepolarisationen ausgelöst werden können. Diese wiederum können zu Torsade de pointes-Arrhythmien führen. Auch für die Substanz Ibutilide ist bekannt, dass sie diese Herzrhythmusstörung auslösen kann (STAMBLER *et. al.* 1996, IBUTILIDE PACKAGE INSERT 1996).

Bislang besteht Uneinigkeit darüber, welche der verschiedenen Klasse III Antiarrhythmika eine positive „use-dependence“ und welche eine „reverse use-dependence“ aufweisen. Auch in Bezug auf die Substanz Ibutilide gehen die Meinungen auseinander. So wird von einigen Autoren eine „reverse use-dependence“ (z. B. von CHEN *et. al.* 1999), von anderen Autoren eine positive „use-dependence“ (z. B. von CIMINI *et. al.* 1992, YANG *et. al.* 1995, BUCHANAN *et. al.* 1996) beschrieben.

Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen weitgehend dafür, dass bei der Substanz Ibutilide eine positive „use-dependence“ für den kalziumantagonistischen Effekt vorliegt. Allerdings wird die Interpretation der Ergebnisse dadurch erschwert, dass die Substanz offensichtlich auf mehrere Kanäle wirkt, so dass je nach Substanzkonzentration unterschiedliche Substanzeffekte auftreten.

Für das Vorliegen einer positiven „use-dependence“ am Kalziumkanal sprechen vor allem die Ergebnisse der Frequenzversuche am depolarisierten Papillarmuskel („slow response“- Bedingungen, $[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$). Unter den gegebenen Bedingungen stellt V_{\max} ein Maß für den Kalziumeinstrom I_{si} in die Zelle dar (MALECOT und TRAUTWEIN 1987). Wie zuvor beschrieben, liegt bei hohen Konzentrationen ein kalziumantagonistischer Effekt der Substanz vor. Bei niedriger Reizfrequenz lässt sich bereits ein kalziumantagonistischer Effekt nachweisen (Verringerung von V_{\max}), der bei Erhöhung der Frequenz weiter verstärkt wird. Bei niedriger Konzentration und niedriger Reizfrequenz ist kein kalziumantagonistischer Effekt sichtbar, wohl allerdings bei hohen Frequenzen. Der kalziumantagonistische Effekt der Substanz

unterliegt demnach einer positiven „use-dependence“, was darauf hindeutet, dass die Substanz bevorzugt an offene- bzw. inaktivierte Kalziumkanäle bindet.

Betrachtet man nun die Ergebnisse der APD 30 und APD 90 unter „slow response“-Bedingungen, so muss man berücksichtigen, dass nicht nur der kalziumantagonistische, sondern auch der Kaliumkanal-blockierende Effekt einer „use-dependence“ unterliegen könnte. Bei hoher Substanzkonzentration nimmt die APD mit steigender Frequenz ab, was sowohl an einer Zunahme des kalziumantagonistischen Effekts als auch an einer „reverse use-dependence“ der Kaliumkanäle liegen kann. Die V_{max} -Abnahme bei höheren Reizfrequenzen spricht für eine Zunahme des kalziumantagonistischen Effekts, der auch die Verkürzung des Plateaus (APD 30) bei der hohen Frequenz erklärt. Bei niedriger Konzentration lässt sich jedoch keine für Kaliumkanal-Inhibitoren übliche „reverse use-dependence“ beobachten.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der kalziumantagonistische Effekt der Substanz einer positiven „use-dependence“ unterliegt und dass für den Kaliumkanal-blockierenden Effekt das Vorliegen einer „reverse use-dependence“ weitgehend ausgeschlossen werden kann.

4.3. Interaktion der Substanz mit Ionenkanälen im Ruhezustand (Post-Pause-Versuche)

Mit Hilfe der Post-Pause-Versuche kann die Interaktion der Substanz mit dem ruhenden, nicht aktivierten Kanal untersucht werden. Dazu wird das erste Aktionspotential nach der Pause herangezogen, welches Rückschlüsse auf eine während des Ruhezustandes der Membran eingetretene Bindung des Liganden an den Rezeptor zulässt. Zudem kann im Falle des Ausbleibens eines Ruheblocks weiterhin beobachtet werden, ob eine anschließende regelmäßige Aktivierung der Kanäle durch kontinuierliche Reizung zu einer Wechselwirkung mit der Substanz führt. Wird dieser Interaktionsvorgang durch zunehmende Aktivierungsfrequenz gesteigert, so besteht eine „use-dependence“ (siehe auch 4.2.).

CARMELIET (1993) testete mit einer ähnlichen Methode neun Substanzen, wobei fünf dieser Substanzen, nämlich Disopyramid, Encainid, Chinidin, Sotalol und Tedisamil, keinen „use-dependent block“ nach der Reizpause aufwiesen, woraus *CARMELIET* schloss, dass der Block direkt beim ersten Reiz nach der Reizpause präsent war und auch bei anhaltender Stimulation kein weiterer Anstieg des Substanzeffekts beobachtet wurde. Der blockierende Effekt der restlichen vier Substanzen Almokalant, Amiodaron, Dofetilide und E-4031 nahm erst mit anhaltender Stimulation nach der Reizpause zu.

Bei den Ergebnissen dieser Arbeit muss wiederum berücksichtigt werden, dass die Substanz Ibutilide wahrscheinlich nicht nur an einem Kanal wirkt, sondern dass sowohl Kalium- als auch Kalzium-Kanäle blockiert werden und dass sich diese beiden Effekte in Bezug auf die APD antagonisieren. So wirkt die Kalziumkanalblockade APD-verkürzend und die Kaliumkanalblockade APD-verlängernd.

Betrachtet man die Kontrollkurve ohne Substanzzugabe unter Normalbedingungen, so kann man feststellen, dass die APD 30 nach der Reizpause zunächst verlängert ist, sich aber nach einigen Schlägen wieder auf dem Kontrollwertniveau einpendelt. Die APD 90 zeigt nach der Reizpause keine wesentliche Änderung. Schon in früheren Arbeiten wurde beschrieben, dass bereits eine 30-minütige Reizunterbrechung die APD verändern kann (*BECHER und RAVENS 1982, HAFNER et. al. 1988*). Dieses Phänomen gilt es bei der Interpretation der Post-Pause-Versuche mit Substanzgabe zu berücksichtigen.

Sowohl die APD 30 als auch die APD 90 sind unter Normalbedingungen ($[K_o]^+ = 4.7 \text{ mmol/l}$) durch $1 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide direkt nach der Reizpause verlängert, wobei die APD 30 im Verlauf konstant bleibt, während die APD 90 weiterhin zunimmt. Dies spricht dafür, dass die Substanz während der Pause schon partiell an die Kaliumkanäle im Ruhezustand bindet („rested-state-block“), so dass direkt nach der Pause ein Substanzeffekt vorliegt. Dem konstanten Verlauf der APD 30 liegt am ehesten ein mit der Stimulation zunehmender, die APD 30 verkürzender, kalziumantagonistischer Effekt zugrunde, welcher eine positive „use-dependence“ aufweist und dem durch die Kaliumkanalblockade verursachten APD-verlängernden Effekt entgegenwirkt.

Bei Konzentrationen von $10 \mu\text{mol/l}$ und $30 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide unter Normalbedingungen ($[K_o]^+ = 4.7 \text{ mmol/l}$) sind die APD 30 und APD 90 direkt nach der Reizpause in Bezug auf die Kontrolle (bei $10 \mu\text{mol/l}$ ist der Kontrollwert der letzte vor der Reizpause registrierte Wert unter $1 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide, bei $30 \mu\text{mol/l}$ der letzte Wert unter $10 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide aufgrund einer kumulativen Substanzgabe) reduziert (bei $30 \mu\text{mol/l}$ noch deutlicher als bei $10 \mu\text{mol/l}$) und nehmen während der Stimulation weiterhin ab. Der bei diesen Konzentrationen überwiegende kalziumantagonistische Effekt tritt demnach schon partiell während der Reizpause ein und weist eine positive „use-dependence“ auf, da mit zunehmender Stimulation die APD weiterhin verkürzt wird. Betrachtet man die Kontrollkurven (ohne Substanz) unter „slow response“-Bedingungen ($[K_o]^+ = 27 \text{ mmol/l}$), so sieht man, dass die APD 30 und APD 90 nach der Pause zunächst verlängert sind, dann aber sehr schnell (nach ca. 8 Stimuli) wieder nahezu auf den Bezugswert vor der Reizpause abfallen.

Berücksichtigt man nun diese Kontrollkurve, so lässt sich für $1 \mu\text{mol/l}$ Ibutilide unter „slow response“-Bedingungen ($[K_o]^+ = 27 \text{ mmol/l}$) festhalten, dass direkt nach der Pause der Substanzeffekt (Verlängerung der APD 30 und APD 90 um ca. 50 %) auftritt, und während der Stimulation erhalten bleibt. Der Abfall der Kurve entspricht in etwa dem unter Kontrollbedingungen, so dass er nicht komplett als Substanzeffekt gewertet werden kann. Eventuell kommt hier noch zusätzlich ein geringer kalziumantagonistischer Effekt zum Tragen. Die Substanz ist demnach unter „slow response“-Bedingungen schon während der Pause nahezu voll wirksam („rested-state-block“). Die Kaliumkanalblockade zeigt keine „use-dependence“.

Betrachtet man die Kurve bei 30 $\mu\text{mol/l}$ Ibutilide unter „slow-response“- Bedingungen ($[\text{K}_o]^+ = 27 \text{ mmol/l}$), so lässt sich auch hier feststellen, dass bereits während der Pause die Kaliumkanalblockade wirksam ist: APD 30 und APD 90 sind im Unterschied zur Kontrolle bei 1 $\mu\text{mol/l}$ Substanz um 30 %, unter Berücksichtigung der Kontrollkurve ohne Substanz, verlängert. Nach Stimulation überwiegt dann der kalziumantagonistische Effekt, welcher zu einer kontinuierlichen Verkürzung der APD führt. Der kalziumkanalantagonistische Effekt wird demnach erst nach der Pause wirksam und weist eine positive „use-dependence“ auf.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Kaliumkanalblockade zumindest schon partiell während der Reizpause zu beobachten ist (unter „slow response“- Bedingungen ein deutlicherer „rested-state-block“ als unter Normalbedingungen). Der bei höheren Substanzkonzentrationen auftretende kalziumantagonistische Effekt zeigt eine positive „use-dependence“, da er mit ansteigender Stimulationsdauer zunimmt (sehr deutlich unter „slow response“-Bedingungen). Unter Normalbedingungen zeigt sich bereits eine partielle Kalziumkanalblockade während der Pause.

4.4. Auswaschbarkeit der Substanz

Die Auswaschversuche ergeben, dass der Substanzeffekt nur sehr langsam reversibel ist. Da bei dem Versuch eine Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ verwendet wurde, trat zunächst eine APD-Verkürzung auf. Beim Auswaschen ließ sich nach einiger Zeit eine Verlängerung des Aktionspotentials beobachten. Insgesamt stieg die APD 30 nach 60 minütigem Auswaschen allerdings nur auf 76.9 % der Kontrolle an. Dies stimmt auch mit den Ergebnissen von *LEE und LEE* (1998) überein, die feststellten, dass die Substanz *in vitro* nur schwer auswaschbar ist, denn nach 15- bis 20-minütigem Auswaschen waren die Substanzeffekte nicht vollständig reversibel. *YANG et. al.* (1995) beschreiben, dass die Substanzeffekte *in vitro* nach fünfminütigem Auswaschen nicht reversibel waren.

LEE (1992) und *PERRY et. al.* (2004) beschrieben hingegen, dass *in vitro* die Substanzeffekte durch Auswaschen reversibel seien (nach *PERRY et. al.*, 2004 Reversibilität bereits nach 10 Minuten).

5. Zusammenfassung

Die Wirkung der Substanz Ibutilide auf Aktionspotentiale des isolierten, superfundierten Meerschweinchenpapillarmuskels wurde anhand von intrazellulären Ableitungen mit Glasmikroelektroden untersucht.

Unter Normalbedingungen ($[K^+]_o = 4.7 \text{ mmol/l}$, Reizfrequenz: 1 Hz) wurde bei Konzentrationen bis zu $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ die Aktionspotentialdauer auf 90 % Repolarisationsniveau (APD 90) stetig erhöht, was auf einen Kaliumkanal-blockierenden Effekt von Ibutilide hinweist. Wurde die Konzentration auf $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ gesteigert, so war eine Verminderung der APD 90 auf $89.8 \pm 5.5 \%$ der Kontrolle zu verzeichnen. Die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials dV/dt_{\max} (V_{\max}) veränderte sich nur geringfügig, was darauf hinweist, dass die Substanz keinen wesentlichen Effekt auf die Natriumkanäle hat. Dies gilt auch für V_{\max} am teildepolarisierten Gewebe ($[K^+]_o = 8 \text{ mmol/l}$). Die isometrische Kontraktionskraft F_c stieg bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol/l}$ auf $111.3 \pm 5.1 \%$ der Kontrolle an. Bei der Konzentration von $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ sank sie allerdings auf $41.6 \pm 2.3 \%$ der Kontrolle ab. Die Zunahme von F_c ist auf die APD-Zunahme mit Verlängerung des Kalziumeinstroms während der Plateauphase zurückzuführen. Die Abnahme von F_c und die Verkürzung des Aktionspotentials (Abnahme der APD 90) bei hohen Konzentrationen lassen sich mit der kalziumantagonistischen Wirkung von Ibutilide erklären. Am depolarisierten Papillarmuskel („slow response“-Bedingungen: $[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$, Reizfrequenz: 0.17 Hz) führte die Substanz Ibutilide zu einer deutlichen Erhöhung der APD 30 und APD 90. Das Maximum wurde bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ erreicht, bei der ein Wert von $141.1 \pm 15.2 \%$ der Kontrolle zu beobachten war. Der Parameter V_{\max} wurde im gesamten Konzentrationsbereich vermindert (bei $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol/l}$ auf $96.2 \pm 3 \%$ der Kontrolle, bei $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ auf $88.6 \pm 5.5 \%$ der Kontrolle). Die isometrische Kontraktionskraft F_c nahm zunächst bis $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol/l}$ zu (auf $112.5 \pm 12.5 \%$ der Kontrolle) und bei höheren Konzentrationen wieder ab (bei $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ auf $86.3 \pm 19.6 \%$). Diese Ergebnisse lassen sich darauf zurückführen, dass Ibutilide bereits in niedrigen Konzentrationen Kaliumkanäle und in hohen Konzentrationen zusätzlich Kalziumkanäle blockiert.

Für das Vorliegen einer positiven „use-dependence“ am Kalziumkanal sprechen vor allem die Ergebnisse der Frequenzversuche am depolarisierten Papillarmuskel („slow response“-Bedingungen, $[K^+]_o = 27 \text{ mmol/l}$). Der kalziumantagonistische Effekt

(Verringerung von V_{max}), wurde bei Erhöhung der Frequenz verstärkt. Andererseits kann für den Kaliumkanal-blockierenden Effekt das Vorliegen einer Frequenzabhängigkeit (z. B. einer „reverse use-dependence“) weitgehend ausgeschlossen werden.

Die Ergebnisse der Post-Pause-Versuche zeigen, dass die Substanz teilweise an Kanälen im Ruhezustand bindet (partieller „rested-state-block“). Dies lässt sich hauptsächlich für die Kaliumkanalblockade beobachten. Der kalziumantagonistische Effekt unterliegt einer positiven „use-dependence“.

Die Auswaschversuche zeigen, dass der Substanzeffekt von Ibutilide nur sehr langsam reversibel ist.

Abkürzungsverzeichnis

AP:	Aktionspotential
APD 30:	Aktionspotentialdauer für das Repolarisationsniveau von 30 %
APD 90:	Aktionspotentialdauer für das Repolarisationsniveau von 90 %
V_{max}:	erste Ableitung der Aktionspotentiale nach der Zeit (dV/dt_{\max}), maximale Depolarisationsgeschwindigkeit bzw. Anstiegssteilheit des Aktionspotentials
F_c:	isometrische Kontraktionskraft des Muskels
I_{Kr}:	schnelle Komponente des verzögerten Gleichrichters (auswärtsgerichteter Kaliumstrom)
I_{si}:	langsamer Ca ²⁺ -Einwärtsstrom (slow inward current)
I_{Na}:	Natrium-Einwärtsstrom
„slow response“-Bedingungen:	Depolarisation der Zellmembran auf ein Ruhepotential von -54.5 mV ($[K^+]_o$: 27mmol/l)
Bedingungen der Teildepolarisation:	Teildepolarisation der Zellmembran auf ein Ruhepotential von -71 mV ($[K^+]_o$: 8 mmol/l)

6. Literaturverzeichnis

ANDERSON JL (1990): Effectiveness of sotalol for therapy of complex ventricular arrhythmias and comparison with placebo and class I antiarrhythmic drugs. *Am. J. Cardiol.* **65** suppl: 37A-42A, 51A-52A

BAYER R, KALUSCHE D, KAUFMANN R, MANNHOLD R (1975): Inotropic and electrophysiological actions of verapamil and D 600 in mammalian myocardium. III. Effects of the optical isomers on transmembrane action potentials. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **290**: 81-97

BECHER R, RAVENS U (1982): Post-rest adaptation of electrical and mechanical activity in the isolated guinea-pig ventricular muscle. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* **90**: 317-327

BUCHANAN LV, LEMAY RJ, GIBSON JK (1996): Comparison of the class III agents d, l sotalol HCl and ibutilide fumarate for atrial reverse use dependence and antiarrhythmic effects. *Pacing clin. Electrophysiol.* **19**: 687. Abstract.

CAMM AJ, KARAM R, PRATT CM (1998): The azimilide post-infarct survival evaluation (ALIVE) trial. *Am. J. Cardiol.* **81**: 35D-39D

CARLSSON L, ALMGREN O, DUKER G (1990): QTU prolongation and torsades de pointes induced by putative Class III antiarrhythmic agents in the rabbit: Etiology and interventions. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **16**: 276-285

CARMELIET E (1992): Use-dependent block and use-dependent unblock of the delayed rectifier K⁺ current by almocalant in rabbit ventricular myocytes. *Circ. Res.* **73**: 857-868

CARMELIET E (1993): Use dependent block of the delayed K⁺ current in rabbit ventricular myocytes. *Cardiovasc. Drugs and Ther.* **7**: 599-604

CHEN Y-J, HSIEH M-H, CHIOU C-W, CHEN S-A (1999): Electropharmacologic characteristics of ventricular proarrhythmia induced by ibutilide. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **34**: 237-247

CIMINI MG, BRUNDEN MN, GIBSON JK (1992): Effects of ibutilide fumarate, a novel antiarrhythmic agent, and its enantiomers on isolated rabbit myocardium. *Eur. J. Pharmacol.* **222** : 93-98

COHEN CJ, BEAN BP, TSIEN RW (1984): Maximal upstroke velocity as an index of available sodium conductance. Comparison of maximal upstroke velocity and voltage clamp measurements of sodium current in rabbit Purkinje fibers. *Circ. Res.* **54**: 636-651

COLATSKY TJ (1982): Mechanisms of action of lidocaine and quinidine on action potential duration in rabbit cardiac Purkinje fibers. An effect on steady state sodium currents? *Circ. Res.* **50**: 17-27

CRIJINS HJGM, GOLITAYA SR, RUDA MY, et. al. (1996): Superiority of ibutilide fumarate over dl-sotalol in termination of atrial fibrillation and flutter: Results of a multi-national trial. *Eur Heart J.* 1996;17:583. Abstract.

DIMARCO JP AND THE IBUTILIDE FOR ATRIAL ARRHYTHMIAS STUDY GROUP (1990): Cardioversion of atrial flutter by intravenous ibutilide, a new class III antiarrhythmic agent. *J. Am. Coll. Cardiol.* **17**: 324A

DI FRANCESCO D, NOBLE D (1985): A Model of the Cardiac Electrical Activity Incorporating Ionic Pumps and Concentration Changes - Simulations of Ionic Currents and Concentration Changes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **307**: 353 - 398

EHARA T, INAZAWA M (1980): Calcium dependent slow action potentials in potassium-depolarized guinea-pig ventricular myocardium enhanced by barium ions. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **315**: 47-54

ELLENBOGEN KA, STAMBLER BS, WOOD MA, et. al. (1996): Efficacy of intravenous ibutilide for rapid termination of atrial fibrillation and atrial flutter: a dose-response study. *J. Am. Coll. Cardiol.* **28**: 130-136

EVANS JR GT, SCHEINMANN MM, ZIPES DP, BENDITT D, BREITHARDT G, CAMM AJ, EL-SHERIF N, FISHER J, FONTAINE G, LEVY S, PRYSTOWSLY E, JOSEPHSON M, MORADY F, RUSKIN J (1988): The percutaneous cardiac mapping and ablation registry: Final summary of results. *PACE* **11**: 1621-1626

FRIEDRICHS GS, CHI L, BLACK SC, MANLEY PJ, OH JY, LUCCHESI BR (1993): Antifibrillatory effects of ibutilide in the rabbit isolated heart: mediation via ATP-dependent potassium channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **266**: 1348-1354

GINTANT GA, HOFFMANN BF (1984): Use-dependent block of cardiac sodium channels by quarternary derivatives of lidocaine. *Pflügers Arch.* **400**: 121-129

HAFNER D, BERGER F, BORCHARD U, KULLMANN A, SCHERLITZ A (1988): Electrophysiological characterization of the class III activity of sotalol and its enantiomers. *Arzneim.-Forsch./ Drug Res.* **38** (I), 2: 231-236

HANCOX JC, PATEL KCR, JONES JV (2000) : Antiarrhythmics-from cell to clinic : past, present, and future. *Heart* **84**: 14-24

HARRIS L (1983): Unwanted effects of long-term amiodarone treatment. In: *Breithardt G, Loogen F. New aspects in the medical treatment of tachyarrhythmias. Role of amiodarone.* Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore. pp. 266-270

HILL JL, GETTES LS (1980): Effect of acute coronary artery occlusion on local myocardial extracellular K⁺ activity in swine. *Circ.* **61**: 768-778

HOLT DW, STOREY GCA (1983): Amiodarone pharmacokinetics. In: *Breithardt G, Loogen F. New aspects in the medical treatment of tachyarrhythmias. Role of amiodarone.* Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore. pp. 69-72

HONDEGHEM LM (1978): Validity of V_{max} as a measure of the sodium current in cardiac and nervous tissues. *Biophys. J.* **23**: 147-152

HONDEGHEM LM, SNYDERS DJ (1990): Class III antiarrhythmic agents have a lot of potential but a long way to go. Reduced effectiveness and dangers of reverse use-dependence. *Circ.* **81**: 686-690

IBUTILIDE PACKAGE INSERT (1996) : *Pharmacia & Upjohn, Kalamazoo, MI, USA*

JANUARY CT, RIDDLE JM (1989): Early afterdepolarizations: mechanism of induction and block. A role for L-type Ca^{2+} current. *Circ. Res.* **64**: 977-990

JOHNSON EA, MC KINNON MG(1957): The differential effect of Quinidine and Pyrilamine on the myocardial action potential at various rates of stimulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **120**: 460-468

JURKIEWICZ NK, SANGUETTI MC (1991): Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agent. *Circ. Res.* **72**: 75-83

KALUSCHE D (1989): Plötzlicher Herztod, Prävention und Therapie. In: Roskamm H, Reindell H (Herausg.) *Herzkrankheiten. 3. Auflage, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong.* pp. 718-724

KAY GN, PLUMB VJ, DAILEY SM, EPSTEIN AE (1990): Current role of the automatic implantable cardioverter-defibrillator in the treatment of life-threatening ventricular arrhythmias. *Am. J. Med.* **88** suppl.: 25N-34N

KODIROV S (1998): Patch-Clamp-Untersuchungen zur Wirkungsweise von Ibutilide auf Ionenkanäle von Herzmuskelzellen des Meerschweinchens. *Heidelberg, Univ., Diss., Signatur H 1998 B 4568*

KREBS HA, HENSELEIT K (1932): Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe-Seyler's Z physiol. Chem.* **210**: 33-66

LEE KS (1992): Ibutilide, a new compound with potent class III antiarrhythmic activity, activates a slow inward Na^+ current in guinea pig ventricular cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **262**: 99-108

LEE KS, TSAI TD, LEE EW (1993): Membrane activity of class III antiarrhythmic compounds; a comparison between Ibutilide, d-sotalol, E-4031, sematilide and dofetilide. *Eur. J. Pharmacol.* **234** : 43-53

LEE KS, LEE EW (1998): Ionic mechanism of ibutilide in human atrium: evidence for a drug-induced Na^+ current through a nifedipine inhibited inward channel. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **286(1)**: 9-22

LYNCH JJ, BASKIN EP, NUTT EM, GUINOSSO PJ, HAMILL T, SALATA JJ, WOODS CM (1995): Comparison of binding to rapidly activating delayed rectifier K^+ channel, I_{Kr} , and effects on myocardial refractoriness for class III antiarrhythmic agents. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **25**: 336-340

MAKIELSKI JC, JANUARY CT (1998): Proarrhythmia related to prolongation of repolarization: mechanisms, monitoring, prevention and management. *Cardiac Electrophysiol. Rev.* **2**: 132-135

MALECOT CO, TRAUTWEIN W (1987): On the relationship between V max of slow responses and Ca-current availability in whole-cell clamped guinea pig heart cells. *Pflugers Arch.* **410**: 15-22

NADEMANEE K, FELD G, HENDRICHSON JA, SINGH PN (1985): Electrophysiologic and antiarrhythmic effects of sotalol in patients with life-threatening ventricular tachyarrhythmias. *Circ.* **72**: 555-564

OSTERMEYER J (1981): Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen zur Elektrophysiologie des Herzens während kardiochirurgischer Eingriffe. Habilitationsschrift, Düsseldorf

PERRY M, DE GROOT MJ, HELLIWELL R, LEISHMAN D, TRISTANI-FIROUZI M, SANGUETTI MC, MITCHESON J (2004): Structural determinants of HERG channel block by clofilium and ibutilide. *Mol. Pharmacol.* **66**: 240-249

RODEN DM, BENNETT PB, SNYDERS DJ et. al. (1988): Quinidine delays I_k activation in guinea-pig ventricular myocytes. *Circ. Res.* **62**: 1055-1058

RUDER MA, ELLIS T, LEBSACK C, MEAD RH, SMITH Na, WINKLE RA (1989): Clinical experience with sotalol in patients with drug-refractory ventricular arrhythmias. *J. Am. Coll. Cardiol.* **13**: 145-152

SANGUETTI MC, JIANG C, CURRAN ME et. al. (1995): A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the I_{Kr} potassium channel. *Cell* **81**: 299-307

SCHMITT C, BRACHMANN J, WALDECKER B, RIZOS I, SENGES J, KÜBLER W (1987): Amiodarone in patients with recurrent sustained ventricular tachyarrhythmias: results of programmed electrical stimulation and long-term clinical outcome in chronic treatment. *Am. Heart. J.* **114**: 279-283

SENGES J, LENGFELDER W, JAUERING R, CZYGAN E, BRACHMANN J, RIZOS I, COBBE S, KÜBLER W (1984): Electrophysiologic testing in assessment of therapy with sotalol for sustained ventricular tachycardia. *Circ.* **69**: 577-584

STAMBLER BS, WOOD MA, ELLENBOGEN KA et. al. , AND THE IBUTILIDE REPEAT DOSE STUDY INVESTIGATORS (1996): Efficacy and safety of repeated intravenous doses of ibutilide for rapid conversion of atrial flutter or fibrillation. *Circ.* **94**: 1613-1621

STATISTISCHES BUNDESAMT DEUTSCHLAND (2004): Sterbefälle nach den 10 häufigsten Todesursachen insgesamt und nach Geschlecht 2004. Quelle: <http://www.destatis.de/basis/d/gesu/gesutab20.php>; Stand: 03.2006

SURAWICZ B (1989): Electrophysiologic substrate of torsades de pointes: Dispersion of repolarization or early afterdepolarizations? *J. Am. Coll. Cardiol.* **14**: 172-184

THE CARDIAC ARRHYTHMIA SUPPRESSION TRIAL (CAST I) INVESTIGATORS (1989): Preliminary report: effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmias suppression after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* **321**: 406-412

THE CARDIAC ARRHYTHMIA SUPPRESSION TRIAL II (CAST II) INVESTIGATORS (1992): Effect of the antiarrhythmic agent moricizine on survival after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* **327**: 227-233

VAUGHAN EM, WILLIAMS DM (1975): Classification of antidysrhythmic drugs. *Pharmacol. Ther.* **B 1**: 115-138

VOLGMAN AS, STAMBLER BS, KAPPOGODA C, et. al. (1996): Comparison of intravenous ibutilide versus procainamide for the rapid termination of atrial fibrillation of flutter. *Pacing Clin Electrophysiol.* **19**: 608. Abstract

WALDO, AL, CAMM, AJ, DERUYTER, H, FRIEDMAN, PL, MACNEIL, DJ, PAULS, JF, PITT, B, PRATT, CM, SCHWARTZ, PJ, VELTRI, EP (1996): Effect of d-sotalol on mortality in patients with left ventricular dysfunction after recent and remote myocardial infarction. The SWORD Investigators. Survival With Oral d-Sotalol. *Lancet* **348**: 7-12

WESLEY RC, FARKHANI F, MORGAN D, ZIMMERMAN D (1993): Ibutilide: enhanced defibrillation via plateau sodium current activation. *Am. J. Physiol.* **264**: H1269-H1274

WINKLE RA, MEAD RH, RUDER MA, GAUDIANI VA, SMITH NA, BUCH WS, SCHMIDT P, SHIPMAN T (1989): Long-term outcome with the automatic implantable cardioverter-defibrillator. *J. Am. Coll. Cardiol.* **13**: 1353-1361

WOOD MA, GILLIGAN DM, BROWN-MAHONY C, NEMATZADEH F, STAMBLER BS, ELLENBOGEN KA (2001): Clinical and electrophysiologic effects of calcium channel blockers in patients receiving ibutilide. *Am. Heart. J.* **143**: 176-180

YANG T, SNYDERS DJ, RODEN DM (1995): Ibutilide, a methanesulfonanilide antiarrhythmic, is a potent blocker of the rapidly activating delayed rectifier K⁺ current (I_{Kr}) in AT-1 cells. *Circ.* **91**: 1799-1806

ZHU J, HAINES DE, LERMAN BB, DIMARCO JP (1987) : Predictors of efficacy of amiodarone and characteristics of recurrence of arrhythmia in patients with sustained ventricular tachycardia and coronary heart disease. *Circ.* **76**: 802-809

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. U. Borchard für die Überlassung des Themas und die umfassende und unkomplizierte Betreuung bei der Durchführung und Fertigstellung meiner Arbeit.

Weiterhin möchte ich allen Mitarbeitern/-innen des Pharmakologischen Instituts der Heinrich-Heine-Universität danken, insbesondere Frau Stöcker und Frau Gelhaar für die Betreuung bei der praktischen Durchführung und Herrn Dr. Hafner für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung der Versuchsdaten.

Ich danke zudem meiner Familie und meinem Freund Michael Ridder für die moralische Unterstützung.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name:	Koudmani
Vorname:	Dima Christine
Geburtsdatum/-ort:	30.04.1980, Dinslaken
Anschrift:	Raiffeisenstr. 46 46535 Dinslaken
Familienstand:	ledig
Konfession:	evangelisch
Staatsangehörigkeit::	deutsch
Eltern:	Dr. med. Nimir Koudmani, Arzt Salam Koudmani, Hausfrau

Schulbildung:

08/1986 - 06/1990	Grundschule in Dinslaken
08/1990 - 06/1999	Otto-Hahn-Gymnasium, Dinslaken
Abschluss:	Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung:

04/2000 - 05/2006	Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
04/2002	Ärztliche Vorprüfung
03/2003	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2005	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2005 - 03/2006	Praktisches Jahr: Evangelisches Krankenhaus, Düsseldorf
05/2006	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Promotion:

03/2003 - 04/2006	Erstellung der vorliegenden Arbeit am Institut für Pharmakologie der Heinrich-Heine- Universität Düsseldorf
-------------------	---

Berufliche Tätigkeit:

Seit 08/2006	Facharztausbildung in der Augenklinik des evang. Krankenhauses Essen Werden
--------------	--

Düsseldorf, den 11.12.2006