

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Benedikt Pannen

**Einfluss von Omecamtiv Mecarbil auf kardiale Ischämie- und
Reperfusionsschäden
- Studie am isoliert perfundierten Rattenherz -**

Dissertation

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

vorgelegt von
Simon Meierkord

2025

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. Dr. med. Ragnar Huhn-Wientgen

Zweitgutachter: Prof. Dr. Dr. med. André Heinen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Stroethoff M, Behmenburg F, Meierkord S, Bunte S, Mayer F, Mathes A, Heinen A, Hollmann MW, Huhn R. Cardioprotective Properties of Omecamtiv Mecarbil against Ischemia and Reperfusion Injury. J Clin Med. 2019 Mar 18;8(3):375. doi: 10.3390/jcm8030375. PMID: 30889854; PMCID: PMC6463149.

Zusammenfassung

Die koronare Herzkrankheit ist eine der führenden Todesursachen in Deutschland und weltweit. Im Rahmen einer myokardialen Ischämie kann es bei der Reperfusion zu einem zusätzlichen Reperfusionsschaden des Herzmuskels (I/R-Schaden) kommen, welcher sich durch eine ischämische oder pharmakologische Prä- und Postkonditionierung verringern lässt. Omecamtiv Mecarbil (OM) ist ein neuartiger Myosinmodulator, der in der Therapie der Herzinsuffizienz eingesetzt werden soll. Ob OM einen Einfluss auf kardiale I/R-Schäden hat, wurde bislang nicht untersucht.

Ziel dieser Arbeit war es, die Effekte einer Prä- und Postkonditionierung mit OM auf den I/R-Schaden am isolierten Rattenherz an der Langendorff-Anlage zu untersuchen. Hierzu wurde OM in den Konzentrationen von 1, 3, 10 und 30 μM vor einer globalen Ischämie verabreicht sowie direkt nach der Ischämie in den Konzentrationen von 3 und 10 μM OM appliziert. Die Infarktgrößen wurden planimetrisch bestimmt.

Die Ergebnisse zeigten, dass OM in Konzentrationen von 1 und 3 μM keinen signifikanten Einfluss auf das Ausmaß des I/R-Schadens hatte. Ab einer Konzentration von 10 μM OM ließ sich jedoch eine pharmakologische Prä- und Postkonditionierung mit signifikanter Reduktion der Infarktgrößen nachweisen. Die präischämische Gabe von 10 μM OM führte zu einer Reduktion der Infarktgröße von $60 \pm 10\%$ bei der Kontrollgruppe auf $33 \pm 8\%$ ($p < 0,05$), die postischämische Gabe zu einer Reduktion von $59 \pm 12\%$ bei der Kontrollgruppe auf $31 \pm 6\%$ ($p < 0,05$). Eine höhere Konzentration von 30 μM OM bewirkte keine zusätzliche Reduktion der Infarktgröße.

Diese Ergebnisse liefern erstmals Hinweise auf eine kardioprotektive Wirkung von OM im Kontext der Ischämie/Reperfusions-Schädigung. Dieser Nachweis und die weitere Untersuchung der kardioprotektiven Potenz von OM könnten weitere Erkenntnisse zur pharmakologischen Kardioprotektion allgemein schaffen. Die Modulation des kardialen Myosins könnte einen neuartigen kardioprotektiven Mechanismus darstellen.

Summary

Coronary heart disease is one of the leading causes of mortality in Germany and worldwide. During myocardial ischemia, reperfusion of the heart tissue may cause additional injury to the myocardium, referred to as ischemia/reperfusion (I/R) injury, which can be attenuated through ischemic or pharmacological preconditioning and postconditioning strategies. Omecamtiv mecarbil (OM) is a novel myosin modulator designed for the treatment of heart failure. To date, its potential effects on cardiac I/R injury have not been investigated.

The aim of this study was to evaluate the effects of OM in preconditioning and postconditioning of the heart against I/R injury in the isolated rat heart using the Langendorff perfusion system. OM was administered at concentrations 1, 3, 10 and 30 μM prior to global ischemia, and at 3 and 10 μM immediately following ischemia. Infarct size was determined planimetrically.

The results demonstrated that OM at concentrations of 1 and 3 μM did not significantly affect the extent of I/R injury. However, starting at a concentration of 10 μM , OM elicited a pharmacological pre- and postconditioning effect with a significant reduction in infarct size. Pre-ischemic administration of 10 μM OM reduced infarct size from $60 \pm 10\%$ in the control group to $33 \pm 8\%$ ($p < 0.05$), while post-ischemic administration reduced infarct size from $59 \pm 12\%$ in the control group to $31 \pm 6\%$ ($p < 0.05$). A higher concentration of 30 μM OM did not result in any further reduction in infarct size.

These findings provide the first evidence of a cardioprotective effect of OM in the context of I/R injury. This evidence, along with further investigation into OM's cardioprotective potential, may contribute to a broader understanding of pharmacological cardioprotection. The modulation of cardiac myosin may represent a novel cardioprotective mechanism.

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
μM	mikromolar
A. / Aa.	<i>Arteria / Arteriae</i>
AAR	<i>area at risk</i>
AHA	<i>American Heart Association</i>
ANOVA	<i>analysis of variance</i> , Varianzanalyse
ATP	Adenosintriphosphat
bpm	<i>beats per minute</i> , Schläge pro Minute
Con	Kontrollgruppe
DMSO	Dimethylsulfoxid
$dP/dt_{\max}$	größte positive Änderung des Drucks pro Zeit
$dP/dt_{\min}$	größte negative Änderung des Drucks pro Zeit
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
g	Gramm
HFmrEF	Herzinsuffizienz mit mittelgradig reduzierter Ejektionsfraktion
HFpEF	Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion
HFrEF	Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion
I/R	Ischämie und Reperfusion
I/R-Schaden	Ischämie- und Reperfusionsschaden
IE	Internationale Einheiten
$I_{Na(L)}$	späte Komponente des Natriumeinstroms
$I_{Na(T)}$	frühe/transiente Komponente des Natriumeinstroms
iNOS	Induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase
IPC	Ischämische Präkonditionierung
IPostC	Ischämische Postkonditionierung
kg	Kilogramm
KHK	koronare Herzkrankheit
KHP	Krebs-Henseleit-Puffer
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
LVDP	<i>left ventricular developed pressure</i> , linksventrikulär entwickelte Druckamplitude
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVESP	linksventrikulärer endsystolischer Druck
LVP	<i>left ventricular pressure</i> , linksventrikulärer Druck

M	molar
mg	Milligramm
MI	Myokardinfarkt
min	Minute
ml	Milliliter
mM	millimolar
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mPTP	mitochondriale Permeabilitäts-Transmissions-Pore
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
NADH / NAD ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH / NADP ⁺	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NHE	Na ⁺ /H ⁺ -Austauscher, Natrium-Wasserstoffionen-Austauscher
NO	Stickstoffmonoxid
NSTEMI	Nicht-ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
OM	Omecamtiv Mecarbil
OM1 – OM30	Gruppen mit Gabe von 1- bis 30-mikromolarem Omecamtiv mecarbil über 10 Minuten vor oder nach der Ischämie
OMI	okklusiver Myokardinfarkt
oxLDL	oxidiertes LDL
PC	preconditioning, Präkonditionierung
PCI	Perkutane Koronarintervention
PKC	Proteinkinase C
PoC	<i>postconditioning</i> , Postkonditionierung
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
<i>RIPC</i>	Ischämische Fernpräkonditionierung
RIPostC	Ischämische Fernpostkonditionierung
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RyR (-2)	Ryanodin-Rezeptor (2)
SD	<i>standard deviation</i> , Standardabweichung
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
STEMI	ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt
V. / Vv.	<i>Vena / Venae</i>
VCI	<i>Vena cava inferior</i>
vs.	<i>versus</i> , gegenüber

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
1.1 Atherosklerose und Myokardinfarkt.....	2
1.2 Ischämie- und Reperfusionsschäden	5
1.3 Konditionierung	6
1.4 Herzinsuffizienz.....	10
1.5 Omecamtiv Mecarbil	13
1.6 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit.....	19
2 Methoden	20
2.1 Materialien und Chemikalien	20
2.2 Software und Geräte	23
2.3 Versuchstiere	25
2.4 Langendorff-Anlage.....	25
2.5 Krebs-Henseleit-Puffer	27
2.6 Versuchssubstanz Omecamtiv Mecarbil	29
2.7 Versuchsprotokoll.....	30
2.8 Versuchsbeginn, Präparation	32
2.9 Messung hämodynamischer Parameter und des Koronarflusses	33
2.10 Messung der Tiercharakteristika	34
2.11 Färbung der Herzen	35
2.12 Bestimmung der Infarktgröße	36
2.13 Statistische Auswertung	37
3 Ergebnisse	38
3.1 Präkonditionierung mit OM.....	39
3.1.1 Infarktgrößen	39
3.1.2 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck	41
3.1.3 Linksventrikuläre Druckamplitude	43
3.1.4 Linksventrikulärer endsystolischer Druck	45
3.1.5 Herzfrequenz.....	46
3.1.6 Positive Druckänderungsmaxima ($dP/dt_{\max}$).....	47
3.1.7 Negative Druckänderungsmaxima ($dP/dt_{\min}$).....	49
3.1.8 Koronarfluss	51
3.1.9 Tiercharakteristika	52
3.2 Postkonditionierung mit OM	53
3.2.1 Infarktgrößen	53
3.2.2 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck	54

3.2.3 Linksventrikuläre Druckamplitude	56
3.2.4 Linksventrikulärer endsystolischer Druck	58
3.2.5 Herzfrequenz.....	59
3.2.6 Positive Druckänderungsmaxima ($dP/dt_{\max}$).....	59
3.2.7 Negative Druckänderungsmaxima ($dP/dt_{\min}$).....	60
3.2.8 Koronarfluss	61
3.2.9 Tiercharakteristika	61
4 Diskussion	62
4.1 Kardioprotektive Potenz von OM.....	62
4.2 Linksventrikuläre Druckmessungen.....	62
4.3 Koronarfluss	64
4.4 Mögliche Mechanismen der Kardioprotektion durch OM.....	65
4.4.1 Ischämische Konditionierung	65
4.4.2 Calciumkonzentration und Interaktion mit Ryanodin-Rezeptoren.....	66
4.4.3 Wirkung von OM an Na ⁺ -Kanälen.....	67
4.4.4 Erhöhte ROS-Produktion durch OM	68
4.4.5 Stickstoffmonoxid-Synthese	69
4.4.6 Anti-apoptotische Proteinexpression	69
4.4.7 Glutathionperoxidase	70
4.4.8 Veränderter Energiebedarf.....	70
4.4.9 Allosterische Inhibition der Kontraktionsgeschwindigkeit	71
4.4.10 Verhinderung der Rigorkontraktur	71
4.4.11 Fazit	72
4.5 Methodenkritik.....	73
4.5.1 Calcium-Menge des Krebs-Henseleit-Puffers	73
4.5.2 Proteinbindung	74
4.5.3 Tiermodell	74
4.5.4 I/R-Schaden am isolierten Herz	76
4.5.5 Bildauswertungsmethodik	76
4.5.6 Mehrfache Verblindung	77
4.6 Ausblick.....	79
4.7 Schlussfolgerung.....	83
Abbildungsverzeichnis.....	84
Tabellenverzeichnis.....	84
Literaturverzeichnis	85

1 Einleitung

Die ischämische Herzerkrankung (auch: koronare Herzkrankheit, KHK) ist in Deutschland und weltweit die häufigste Todesursache.^{1,2} In Deutschland war im Jahr 2021 bei Männern und Frauen die chronische KHK die häufigste Todesursache, während die Herzinsuffizienz und akute Myokardinfarkte in beiden Gruppen unter den zehn häufigsten Todesursachen waren.¹ Im Jahr 2022 starben in Deutschland 46 608 Personen an einem Herzinfarkt.³ Die zunehmende Inzidenz und Prävalenz der kardiovaskulären Erkrankungen insgesamt⁴ ist mit einer weltweiten Zunahme der durchschnittlichen Lebenserwartung und damit einer alternden Bevölkerung vergesellschaftet, sowie mit den weltweiten Auswirkungen der Industriegesellschaft auf die Verbreitung der Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen und des Myokardinfarkts. Dazu gehören als klassische Risikofaktoren unter anderem die arterielle Hypertonie, ein Mangel an körperlicher Aktivität, Adipositas, Fehlernährung, Hyperlipidämie und Dyslipoproteinämie, männliches Geschlecht, genetische Risiken und familiäre Assoziation, Diabetes mellitus sowie Nikotinabusus.^{2,5,6} Auch Feinstaubbelastung⁷, längeres Sitzen⁸, soziale Isolation⁹, chronischer Stress, Depressionen, Drogenkonsum sowie lange Arbeitszeiten¹⁰ sind mit einem höheren Risiko assoziiert. Chronische sowie akute Entzündungsreaktionen im Körper erhöhen das Risiko für die Entwicklung einer KHK und das Auftreten von Myokardinfarkten, beispielsweise bei viralen oder bakteriellen Infektionen¹¹, dementsprechend gibt es bei Infektionen mit dem SARS-CoV-2 eine Assoziation mit akuten kardiovaskulären Ereignissen während^{12,13} und bis mehrere Jahre nach der Infektion^{14,15}. Auch die steigende Aufnahme von Mikroplastik wird mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko verbunden^{16,17}, bestehende Assoziationen kardiovaskulärer Erkrankungen mit ultraprozessierter Nahrung müssen noch auf Kausalität überprüft werden¹⁸. Zunehmend sind auch jüngere Personen von akuten Myokardinfarkten betroffen.¹⁹ Infolge des Klimawandels ist ebenfalls mit einer Zunahme der Inzidenz und Prävalenz kardiovaskulärer Akutereignisse und Erkrankungen zu rechnen, beispielsweise durch Extremwetter und zunehmende Luftverschmutzung.²⁰

1.1 Atherosklerose und Myokardinfarkt

Ursache der KHK ist die Atherosklerose.²¹ Diese ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Gefäße. Die Erkrankung schreitet mit zunehmendem Lebensalter sowie abhängig von der Ausprägtheit der oben genannten Risikofaktoren voran. Dabei kommt es ausgehend von Hypertonie und Hyperlipidämie zu einer Plaquebildung in der Gefäßintima mit Ausbildung von Stenosen an Prädilektionsstellen mit verstärktem Scherstress oder einer Störung des laminaren Blutflusses, beispielsweise an Bifurkationen. Es kommt zu einer endothelialen Dysfunktion, in der Intima können sich Lipide, Kohlenhydrate, Blutbestandteile, Bindegewebsbestandteile und Kalziumablagerungen ansammeln und Schaumzellen bilden. Es kommt am aktivierten Endothel zu einer Entzündungsreaktion mit durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) oxidiertem LDL (oxLDL), Ausschüttung von Zytokinen und Einwanderung weiterer Immunzellen, wodurch es zu einem entzündlichen Gewebeumbau und zur Bildung von Plaques kommt. Durch die Entzündungsreaktion wird die fibröse Schicht über den Plaques zunehmend erodiert und kann durch mechanischen Stress rupturieren. Bei Ruptur der Plaques in das Gefäßlumen hinein kommt es durch den thrombogenen Inhalt zu einer starken Gerinnungsaktivierung und daraufhin zur akuten koronararteriellen Thrombose.²¹

Bei einem Herzinfarkt kommt es durch eine prolongierte Sauerstoffunterversorgung der Kardiomyozyten zu einer Zellschädigung und Nekrose. Die häufigste Ursache eines akuten Herzinfarkts ist die Ausbildung eines Thrombus in einer Koronararterie bei Ruptur einer instabilen koronararteriellen Plaque mit Thrombozytenaggregation und vollständiger oder subtotaler Gefäßokklusion (Typ-1-Myokardinfarkt, okklusiver Myokardinfarkt). Zusätzlich gibt es die Möglichkeit, dass es zu einem relativen Sauerstoffmangel bei einem Ungleichgewicht zwischen Angebot und Verbrauch ohne Gefäßverschluss mit Untergang von Myokard kommt (Typ-2-Myokardinfarkt), beispielsweise aufgrund einer Stenose, Embolie, Tachykardie, Arrhythmie oder insgesamt erhöhtem Sauerstoffverbrauch im Organismus, zum Beispiel bei Anstrengung oder anderen kardialen und systemischen Erkrankungen. Weitere Infarkttypen beschreiben Infarkte während und nach Koronarinterventionen oder koronaren Bypassoperationen sowie den plötzlichen Herztod aufgrund eines Herzinfarktes.²²

Die Diagnose des Myokardinfarkts ist definiert²² als Anstieg eines der kardialen Troponine im Blut über die 99. Perzentile der Troponinlevel in der Normalbevölkerung sowie dem Bestehen eines der folgenden Kriterien: dem gleichzeitigen Neuauftreten von ischämischen EKG-Veränderungen, einer Entwicklung pathologischer Q-Zacken, Symptomen myokardialer Ischämie, neuen Wandbewegungsstörungen in der Echokardiographie, anderer Bildgebungsevidenz untergegangenen Myokards oder Nachweis eines Thrombus in der Koronarangiographie oder per Autopsie. Nach EKG-Kriterien wird beim Verdacht auf einen Myokardinfarkt in ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt (STEMI) und Nicht-ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt (NSTEMI) unterschieden.

Die Prognose nach einem okklusiven Myokardinfarkt (OMI) hat sich durch die Einführung von Reperfusionstherapien deutlich verbessert. Die Therapie besteht aktuell in der schnellstmöglich²³ durchgeführten perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) zur mechanischen Wiedereröffnung des Koronargefäßes mit gegebenenfalls Stentimplantation über einen mit einem Draht vorgeschobenen Ballon, alternativ in der chirurgischen Wiederherstellung der Perfusion distal der Okklusion über einen aortokoronararteriellen Bypass. Bei fehlendem Vorhandensein von entsprechender Infrastruktur oder Ressourcen kann alternativ beim Vorliegen eines STEMI nach den Guidelines der *American Heart Association* (AHA) auch eine systemische Fibrinolyse mit rekombinantem gewebespezifischem Plasminogenaktivator (rt-PA) vorgenommen werden, wenn ansonsten eine Reperusionszeit von über zwei Stunden seit Symptombeginn verstreichen würde. Die Entscheidung über die Dringlichkeit der diagnostischen Koronarangiographie und somit der möglichen Reperfusionstherapie bei Verdacht auf einen MI hauptsächlich anhand der elektrokardiographischen Unterscheidung in STEMI vs. NSTEMI wird seit einigen Jahren zunehmend kritisch gesehen, da mittlerweile weitere EKG-Kriterien sowie klinische Zeichen eines OMI als allein die ST-Hebung bekannt sind^{24–26}. Es wird angenommen, dass bis zu 40 % aller akut reperfusionsbedürftigen MI durch die STEMI/NSTEMI-Klassifikation nicht erkannt werden und somit einer verzögerten Therapie zukommen²⁷, wobei die Mortalität dieser Patienten deutlich erhöht ist im Vergleich zu den durch die STEMI-Kriterien erkannten und akut behandelten OMI.²⁸

Ein akuter Myokardinfarkt kann sowohl Folge einer bestehenden, eventuell unerkannten KHK sein, als auch selbst eine akute und chronische Herzinsuffizienz durch Untergang von Myokard zur Folge haben.²⁹ Die Prognose nach akutem MI wird

unter anderem durch das Ausmaß der Zellschädigung und somit durch die Menge an dauerhaft verloren gegangenen funktionellen Myokard und der dadurch beeinflussten Wahrscheinlichkeit der Entwicklung einer chronischen Herzinsuffizienz bestimmt. Eine Herzinsuffizienz kann akut während des Infarkts auftreten und zum plötzlichen Herztod oder kardiogenen Schock führen. Eine weitere häufige Ursache für einen plötzlichen Herztod während des MI und in den ersten Tagen danach ist das gehäufte Auftreten lebensbedrohlicher Arrhythmien³⁰. Kammerflimmern kann aus *Reentry*-Kreisläufen entstehen, die sich am Ventrikel um abgestorbenes Myokard herum entwickeln. Bei einem erhöhten Risiko für frühe und späte Nachdepolarisationen im geschädigten Myokard kann ein Aktionspotential einer Extrasystole in der vulnerablen Phase der Repolarisation entstehen, in der ein Teil des Ventrikelmyokards noch refraktär für neue Erregung ist, auf bereits wieder erregbares Myokard treffen und dadurch einen solchen Kreislauf beginnen.³¹

1.2 Ischämie- und Reperfusionsschäden

Das Ausmaß des Gewebeuntergangs beim OMI wird maßgeblich durch die Zeit bis zur Reperfusion mitbestimmt³². Kurzzeitige Ischämien von 30 bis 60 Minuten bis zur Wiedereröffnung können beim Menschen mit minimalem dauerhaftem Schaden assoziiert sein. Längere Zeiten führen zu irreversiblen Gewebeschäden, auch über 12 Stunden nach Beginn eines Herzinfarktes lässt sich jedoch möglicherweise durch die mechanische Reperfusion noch funktionelles Myokard retten.³³

Paradoxerweise schädigt nach einer prolongierten Ischämie auch die Reperfusion das Gewebe nochmals erheblich, man spricht kombiniert vom Ischämie- und Reperfusionsschaden (I/R-Schaden).

Durch eine schnelle Reperfusionstherapie kann der Ischämieschaden stark verringert werden, sodass eine möglichst vollständige Herzfunktion erhalten bleibt. Nach der Einführung der notfallmäßigen perkutanen Koronarintervention (PCI) als Standardtherapie beim OMI sank die Mortalität im Vergleich zur früher durchgeführten Lysetherapie zwischen 1985 und 2010 in sechs europäischen Bevölkerungsregistern durchschnittlich um 5,5 % bei Frauen und 5,7 % bei Männern.³⁴ Im letzten Jahrzehnt stagnierte die Mortalität nach Myokardinfarkten in manchen europäischen Bevölkerungsregistern^{35,36}. Eine verbesserte Integration der bestehenden Guidelines könnte das *Outcome* nach Myokardinfarkten verbessern.³⁷ Wie in 1.1.2.3 bereits erwähnt, könnte die Stagnation ebenfalls an einer gleichbleibend häufigen Entscheidung zur verzögerten PCI liegen, sodass möglicherweise die Modifikation der Guidelines zur Therapie des Myokardinfarkts in Zukunft zu einer Verbesserung der Prognose führen könnte. Ein weiterer Faktor ist der Einfluss des bisher im klinischen Alltag nicht spezifisch therapierten Reperfusionsschadens. Durch eine Attenuierung des Reperfusionsschadens könnte die Prognose nach Myokardinfarkten ebenfalls weiter verbessert werden.²¹

1.3 Konditionierung

Erstmals 1986 beschrieben Murry et. al, dass kurze ischämische Phasen an Herzen von Hunden vor einer folgenden länger andauernden Ischämie die Größe des Infarkts verringern³⁸. Dieser ischämische Präkonditionierung (IPC) genannte Effekt wurde seitdem in unterschiedlichen Modellen bei verschiedenen Spezies bestätigt und weiter untersucht. Zunächst nahm man an, dass die kurz andauernde Ischämie bei einem Teil des Myokards durch sogenanntes „*Stunning*“, also vorübergehenden kontraktilen Funktionsverlust, nach der ersten Reperfusion einen verringerten Sauerstoffverbrauch eines Teils des Myokards während und nach der längeren Ischämie verursachen könnte und sich dadurch die geringere Infarktgröße erklären ließe. Dies stellte sich jedoch als falsch heraus.³⁹ Das Herz scheint daher endogene Mechanismen zu haben, die es bei vorherigen relativen oder kurz andauernden Ischämien vor länger andauernden Ischämien schützen kann. Seitdem wurden verschiedene Mechanismen erforscht, die an dem Phänomen der Konditionierung beteiligt sind.²¹

Zhao et. al publizierten 2003 erstmals, dass kurze Phasen der Ischämie nach einer langen Ischämiephase ebenfalls die Infarktgröße reduzieren können, dieser Effekt wurde ischämische Postkonditionierung (englisch „ischemic postconditioning“, IPostC) genannt.⁴⁰

Während der Ischämie und der damit schnell eintretenden Hypoxie im Gewebe fallen durch anaerobe Glykolyse, die nur vergleichsweise wenig Energie liefern kann, zunächst saure Stoffwechselprodukte durch Bildung von Laktat an. Durch die pH-Änderungen funktionieren manche Enzyme nicht mehr, DNA in Form von Chromatin verklumpt und Zellfunktionen fallen teilweise aus. Bei aufgebrauchten intrazellulären Energiespeichern kommt es zu Störungen im Elektrolythaushalt und Änderungen des Membranpotenzials durch eine Dysfunktion der Natrium-Kalium-ATPase in Abwesenheit des Substrats ATP.⁴¹ Es kommt zur Retention von Natrium im Zytosol, dadurch ebenfalls zum Einstrom von Calcium über den Natrium-Calcium-Antiporter sowie zur Verstärkung der Azidose durch Einstrom von Wasserstoffionen über den Natrium-Hydrogen-Antiporter.⁴² Die ATP-abhängigen Calciumpumpen des sarkoplasmatischen Retikulums funktionieren ebenfalls nicht mehr, wodurch mehr Calcium im Zytosol verbleibt. Es kommt osmotisch zur Zellschwellung mit

Dysfunktion des Zellskeletts sowie Schädigung der Mitochondrien und anderer Organellen. Bei längerer Dauer und Ruptur von Membranen der Zelle und der Organellen kommt es zum Zelluntergang und zur Ausbildung von Nekrosen in einem Teil des Myokards.

Bei der Reperfusion des Gewebes kommt es zu einer Wiederherstellung der Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff und daraufhin über verschiedene Mechanismen zu einer weiteren Schädigung der Kardiomyozyten mit Untergang eines Teils des Herzmuskels, dem sogenannten Reperfusionsschaden. Das Ausmaß der Zellschädigung hängt von der Dauer der ischämischen Schädigung sowie den intrazellulären Bedingungen vor der Ischämie sowie nach der Reperfusion ab. Der Reperfusionsschaden läuft in mehreren Phasen ab.

In den ersten Minuten der Reperfusion kommt es bei einem Teil der Zellen zu einer Nekrose. Dabei zerstört eine inhomogene Hyperkontraktur innerhalb der Myozyten das Myokard in der typischen Form einer sogenannten Kontraktionsbandnekrose.⁴² Ursächlich dafür scheinen zwei verschiedene Mechanismen zu sein. Einerseits kann eine Hyperkontraktur durch Calciumüberladung, die von der schnellen Bereitstellung von Energie durch viele weiterhin strukturell integre und somit durch Anwesenheit von Sauerstoff erneut funktionsfähige Mitochondrien abhängt, ausgelöst werden. Ein weiterer Austausch von intrazellulärem Wasserstoff gegen extrazelluläres Natrium zur pH-Normalisierung führt durch Austausch zur weiteren Überladung mit Calcium⁴³. Alternativ kann bei niedrigen intrazellulären Energiemengen und wenigen funktionellen Mitochondrien eine relativ von Calcium unabhängige Rigorkontraktur ausgelöst werden.⁴⁴

Zusätzlich kommt es in den Minuten bis Stunden danach zu Reperfusionsschäden durch weitere Mechanismen. Es können verschiedene gesteuerte ATP-abhängige Zelluntergangskaskaden ausgelöst werden. Die unterschiedlichen Formen des Zelltods scheinen dabei auf komplexe Weisen zusammenzuhängen und möglicherweise verschiedene Teile eines einzigen Zelltodsystems zu sein, wobei auch eine Nekrose kontrolliert ausgelöst werden kann im Sinne einer Nekroptose.⁴⁵ Andere Formen des programmierten Zelltods sind beispielsweise die Apoptose und die Mitoptose. Bei den möglichen Formen des programmierten Zelltods spielen multiple intrazelluläre Signalwege und Stoffwechselvorgänge verschiedene Rollen. Den Mitochondrien kommt bei diesen Mechanismen eine besondere Rolle zu. Wichtige Mechanismen beim Reperfusionsschaden und dadurch ausgelösten Formen des

Zelltods sind unter anderem die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), die intrazelluläre Kalziumüberladung sowie die Ausschüttung von Zelltodsignalen aus den Mitochondrien⁴¹, beispielsweise über die mitochondriale Permeabilitäts-Transmissions-Pore (mPTP), deren Öffnung auch von einem Überangebot von Calcium und ROS abhängt⁴⁶. Eine Permeabilisierung der Mitochondrien führt zum Zelltod über verschiedene Mechanismen.

ROS entstehen auch unter physiologischen Bedingungen als Signalmoleküle, hauptsächlich in den Mitochondrien⁴⁷ bei der Bildung von ATP über die Atmungskette. Sie werden jedoch nach der Reperfusion durch verschiedene Enzyme vermehrt gebildet⁴⁸ und führen dann unter anderem zu einer Dysfunktion von Membranen durch die Membranlipidperoxygenation mit Störung der Integrität der Membranen, von Membranproteinen sowie der Funktion der Mitochondrien. Über die Lipidperoxygenation kann durch ROS ein weiterer programmierter Zelltodmechanismus, die Ferroptose, bei Überschreitung der antioxidativen Mechanismen und damit Akkumulation von Lipidhydroxyperoxiden ausgelöst werden.⁴⁹ ROS verstärken nach der Reperfusion ebenfalls den späten Natriumeinstrom, der im Austausch die Calciumüberladung aggraviert.⁵⁰ Allerdings können ROS ebenfalls Signalmoleküle des Zellüberlebens sein und sind beispielsweise Teil des Mechanismus der ischämischen und pharmakologischen Prä- und Postkonditionierung.⁵¹ ROS können somit konzentrationsabhängig physiologische oder protektive Zellsignale darstellen, während eine Überlastung der mitochondrialen und zellulären Redox-Kapazität zum Zellschaden führt.⁵²

Zusätzlich kommt es zu einem verzögerten Reperfusionsschaden durch eine immunologische Reaktion im Gewebe. Das Endothel wird durchlässig, wodurch es zu einem Gewebsödem kommt. Stickstoffmonoxid wird durch das geschädigte Endothel vermindert ausgeschüttet. ROS führen zu einer Ausschüttung von proinflammatorischen Mediatoren⁴³ und Zellen exprimieren Adhäsionsmoleküle für Immunzellen, die dadurch anheften und Zytokine ausschütten. Die folgende Entzündungsreaktion kann das Gewebe weiter schädigen, beispielsweise durch eine weitere Ausschüttung von ROS und Proteasen sowie durch Pyroptose. Es kommt zu einer Verstopfung von kleinen Kapillaren unter anderem durch Erythrozyten, Thrombozyten, neutrophile Granulozyten und Monozyten und dadurch möglicherweise zu einer nicht oder verzögert erfolgenden Reperfusion in einem Teil des Gewebes (No-Reflow-Phänomen).^{21,42}

Im Zuge der Erforschung der Mechanismen der ischämischen Prä-, Post- sowie Fernkonditionierung sowie des I/R-Schadens wurden immer wieder auch pharmakologische Beeinflussungsmöglichkeiten der entdeckten zellulären Signalwege miterkannt. Verschiedene Medikamente wurden experimentell auf ihre Wirkung zur Prä- und Postkonditionierung untersucht. Für viele Pharmaka wurden im experimentellen Setting an unterschiedlichen Spezies konditionierende Effekte bei Gabe vor oder nach einer Ischämie nachgewiesen.⁵³

Klinische Ergebnisse der pharmakologischen Konditionierung waren bisher sehr heterogen.⁵³ Dafür gibt es mehrere potenzielle Gründe. Durch die Veränderung der Standardtherapie der KHK und der Herzinsuffizienz stehen viele Menschen zum Zeitpunkt eines Ischämie-Reperfusionsschadens bereits unter dem Einfluss von kardioprotektiven Medikamenten, ein Beispiel sind Betablocker. Dadurch könnte in klinischen Studien der Einfluss einer weiteren Intervention auf den I/R-Schaden geringer ausfallen und nicht signifikant sein, da sich die Interventionen möglicherweise in ihrem Effekt nicht addieren.⁵⁴ Die Mortalität nach Myokardinfarkten ist in den letzten Jahrzehnten bereits gesunken (siehe Abschnitt 1.2), woran eventuell nicht nur die schnelle Reperfusionstherapie, sondern auch bereits diese kardioprotektiven Medikamente einen Anteil hatten. Andere Vorerkrankungen der Patienten und manche Medikamente zur Behandlung dieser Vorerkrankungen sind wiederum mit einer Verhinderung kardioprotektiver Mechanismen assoziiert, beispielsweise bei Diabetes mellitus.⁵³

1.4 Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz ist nach der *American Heart Association* (AHA) definiert als ein komplexes Syndrom, das die Fähigkeit der kardialen Ventrikel verringert, sich mit Blut zu füllen oder dieses auszuwerfen, welches durch eine strukturelle und funktionelle Herzerkrankung hervorgerufen werden kann.⁵⁵ Eine andere Definition der Herzinsuffizienz ist die verringerte Fähigkeit des Herzens, die zur Arbeit des Organismus und Versorgung von Organen (bei Belastung oder in Ruhe) notwendige Sauerstoffmenge durch Blutzirkulation zur Verfügung zu stellen.⁵⁶

Die Herzinsuffizienz kann nach AHA in verschiedene Formen eingeteilt werden. Bei der systolischen Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion (HFrEF) ist die Füllung des Ventrikels in der Diastole gewährleistet, aber die Kontraktion in der Systole ist nicht stark genug, um mehr als 40 % des im Ventrikel befindlichen Bluts auszustoßen. Bei der diastolischen Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (HFpEF) ist die Füllung des Ventrikels in der Diastole verringert, wodurch auch bei Auswurf eines großen Anteils dieses linksventrikulären enddiastolischen Füllungsvolumens (LVEDV) ein verringertes Schlagvolumen resultiert. Die HFrEF kann nach der EF weiter in verschiedene Stadien eingeteilt werden. Eine EF zwischen 30 und 40 % gilt als hochgradig eingeschränkte Pumpfunktion, eine EF unter 30 % als höchstgradig eingeschränkte Pumpfunktion. Zusätzlich kann die Herzinsuffizienz nach klinischer Belastungsfähigkeit in vier Stadien nach der *New York Heart Association* (NYHA) eingeteilt werden. Die Entstehung einer Herzinsuffizienz kann je nach Form verschiedene Ätiologien haben. Die ischämische Kardiomyopathie (KHK) und abgelaufene Herzinfarkte befinden sich unter den Hauptursachen der Herzinsuffizienz.⁵⁷ Die Erkrankung verläuft chronisch mit einer Verschlechterung über die Zeit, wobei akute Exazerbationen möglich sind, eine Herzinsuffizienz kann jedoch auch beispielsweise bei einem Myokardinfarkt erstmalig akut auftreten.⁵⁷

Bei der chronischen Herzinsuffizienz kommt es durch den verringerten Auswurf des Herzens zu einer Aktivierung neuraler und humoraler Systeme wie des sympathischen Nervensystems und des RAAS⁵⁸, zu einer Vasokonstriktion und einer inflammatorischen Aktivierung. Dadurch entsteht eine Belastung des Herzens mit erhöhtem Sauerstoffverbrauch sowie über die Zeit ein negatives *Remodeling* des

Herzmuskels mit multiplen Veränderungen des Gewebes und der Zellen. Dieses kann sowohl durch eine chronische Druckbelastung, beispielsweise bei arterieller Hypertonie, als auch nach einem abgelaufenem MI entstehen.⁵⁹ Beim negativen *Remodeling* kommt es, je nach Ursache, unter anderem zu einem Umbau des Gewebes mit Untergang eines Teils der Zellen sowie zur Fibrose mit Versteifung des Gewebes. In den Kardiomyozyten kommt es unter anderem zu einer diastolischen Calciumakkumulation und einem verringerten systolischen Calciumanstieg, wodurch sich eine verringerte systolische Kontraktilität mechanistisch erklären lässt.⁵⁸

Bei der chronischen Herzinsuffizienz besteht die Therapie deswegen in einer Reduktion der kardialen Belastung und der Inhibition pathophysiologischer Kaskaden und damit einer Verlangsamung eines negativen *Remodelings*. Verwendet werden unter anderem RAAS-Inhibitoren, Aldosteron-Antagonisten, Diuretika sowie β -Blocker. So entsteht eine Verringerung des systemischen Widerstands und der sympathischen Aktivierung und damit eine Verringerung der Herzfrequenz und des Calciums in den Kardiomyozyten durch die negative Calcitropie.⁶⁰ Der Einfluss von Komorbiditäten spielt ebenfalls eine große Rolle, durch eine optimale Einstellung beispielsweise bei Diabetes, Hyperlipidämie und chronischer Niereninsuffizienz kann ein gemeinsamer Erkrankungsprogress verzögert werden.⁵⁷

Eine andere Überlegung, wie die Aktivierung dieser pathophysiologischen Kaskaden verhindert werden kann, ist die medikamentöse Steigerung der Auswurfleistung des Herzens. Versuche der Nutzung und Entwicklung positiv inotroper und damit positiv calcitroper⁶⁰ Medikamente zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz, die die Auswurfleistung des Herzens verbessern, zeigten in der Vergangenheit erhöhte Mortalitätsraten^{60–62} und werden deswegen in der Therapie der chronischen Herzinsuffizienz nicht mehr verwendet. Eine Ausnahme stellen Antiarrhythmika wie die Glykoside Digitoxin und Digoxin dar, die bei gleichzeitigem Vorhofflimmern zur Frequenzkontrolle verwendet werden können und positiv inotrop wirken. Positiv inotrope Substanzen erhöhen auch den myokardialen Sauerstoffverbrauch und die Wahrscheinlichkeit von Arrhythmien. Die Herzglykoside verringern im Gegensatz zu den anderen Inotropika allerdings die Herzfrequenz und sind daher manchmal zur Einstellung einer Tachyarrhythmie indiziert. Ihr Gesamtnutzen in der Therapie der Herzinsuffizienz hat allerdings einen niedrigen Evidenzgrad⁵⁷, in manchen Studien zeigte sich die Gesamtmortalität bei Einnahme von Digoxin bei systolischer Herzinsuffizienz erhöht.⁶³

Bei einem beginnenden kardiogenen Schock kommt es zu einem Circulus vitiosus. Häufig muss das Herz mit positiv inotropen Substanzen unterstützt werden, um ein akutes kardiales Pumpversagen zu verhindern.^{57,64} Dabei werden α - und β -sympathomimetische Katecholamine wie Noradrenalin und Dobutamin sowie seltener Adrenalin genutzt, die den systemischen Widerstand und die Inotropie des Herzmuskels erhöhen und somit den Blutdruck und die Zirkulation aufrechterhalten. Zusätzlich gibt es die Medikamentengruppe der Inodilatoren mit den Untergruppen der Calcium-Sensitizer wie Levosimendan sowie der Phosphodiesterase-3(PDE-3)-Inhibitoren wie Milrinon oder Enoximon, die im schweren katecholaminrefraktären kardiogenen Schock eingesetzt werden können. PDE-3-Inhibitoren und Katecholamine bewirken intrazellulär eine Erhöhung der Calcium-Konzentration, wodurch sich eine erhöhte Kontraktilität, aber auch eine erhöhte Rate an Tachykardien und Arrhythmien erklären lässt.^{65–67} Auch der Sauerstoffverbrauch wird bei erhöhter Calciummenge oder Sensitisierung von Troponin C gegenüber Calcium und so verstärkter Kontraktion erhöht. Somit muss das Herz bei Nutzung dieser Substanzen ebenfalls eine größere Arbeit aufbringen, es ist allerdings zur Abwendung des akuten Kreislaufversagens häufig notwendig, sie anzuwenden. Wie mittlerweile bekannt ist, ist Levosimendan ebenfalls kein purer Calcium-Sensitizer, sondern führt auch zu einer relevanten PDE-3-Hemmung und damit zur Erhöhung der intrazellulären Calciummenge.⁶⁸

1.5 Omecamtiv Mecarbil

Omecamtiv Mecarbil (OM), zuvor bezeichnet als CK-1827452 und AMG-423, ist ein Modulator des kardialen Myosins, der als neuartiges Myotropikum untersucht worden ist und als Medikament in der Therapie der *HFrEF* eingesetzt werden soll, um eine Steigerung der EF und des Schlagvolumens zu bewirken. OM wurde zunächst als Aktivator des Myosins beschrieben und sollte das Schlagvolumen steigern, ohne einen erhöhten Sauerstoffverbrauch oder eine Änderung in der Calcium-Konzentration zu bewirken.⁶⁹

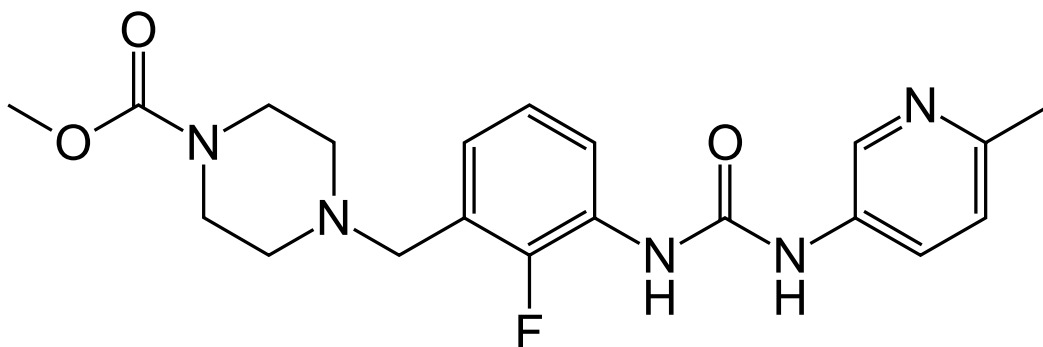


Abb. 1: Chemische Struktur von Omecamtiv Mecarbil

*Public Domain.*⁷⁰

OM ist ein kleines Molekül mit einer Masse von 401,43 Gramm pro Mol. Es ist schlecht wasserlöslich, wird nach intravenöser Gabe in Ratten zu 79,6 % von Plasmaproteinen gebunden⁷¹ und liegt nach oraler Applikation bei Menschen ebenfalls zu etwa 80 % proteingebunden vor.⁶⁹

OM bewirkt durch eine allosterische Modulation des kardialen β -Myosins eine Zunahme der aktiven Querbrückenzyklen, der Dauer der Systole sowie der Ejektionsfraktion (EF). Myosine sind eine Gruppe von Motorproteinen, die gemeinsam mit Aktinen in mehreren Formen Zelltransporte sowie Zellkonformationsänderungen durch Wirkung am Zytoskelett durchführen und in den Kardiomyozyten die systolische Kontraktion und diastolische Relaxation bewirken. Myosine durchlaufen im Querbrückenzyklus, einer sich zyklisch wiederholenden Abfolge von Reaktionen, unter Verbrauch von ATP mehrere Konformationsänderungen und verschieben sich dadurch gegenüber den Aktinfilamenten, wodurch die Zelle kontrahiert (s. Abb. 2).⁷²

Querbrückenzyklus

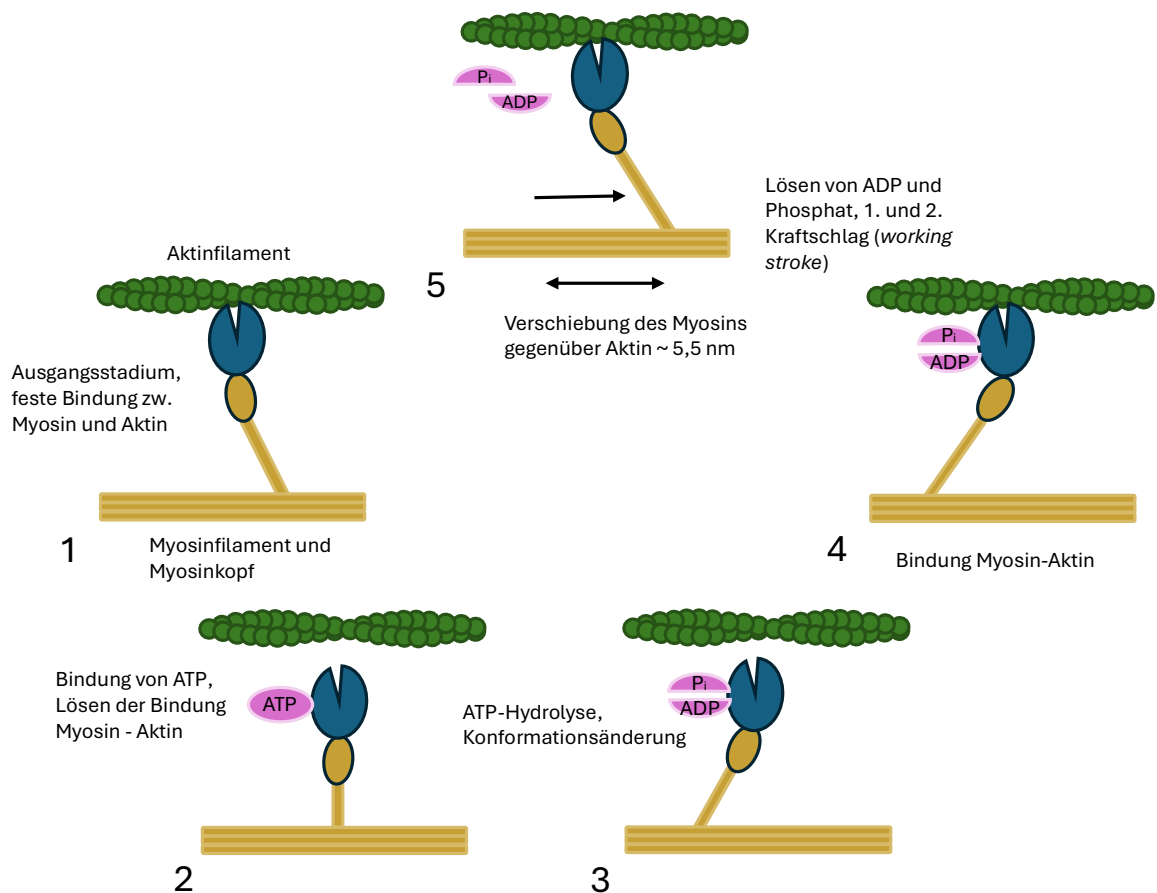


Abb. 2: Querbrückenzyklus

Schematische Darstellung der zyklisch verlaufenden Interaktion von Myosin und Aktin im Querbrückenzyklus. Nicht dargestellt sind unterschiedliche Stadien der nieder- und hochaffinen Bindung zwischen Aktin und Myosin sowie das Stadium zwischen dem 1. und 2. Kraftschlag. Eigene Grafik nach ⁷²⁻⁷⁵.

OM bindet dabei an der katalytischen S1-Untereinheit an den Myosinköpfen, in einer Tasche zwischen den Bindungsstellen für ATP und Aktin, und bewirkt reversible allosterische Konformationsänderungen.⁷⁶ OM verringert dadurch die Myosin-ATPase-Aktivität⁷⁷, bei Bindung von Aktin auch Aktomyosin-ATPase genannt, durch allosterische Bindung und eine dadurch verursachte Konformationsänderung. OM verringert die Reaktionsrate des Kraftschlags, indem es den Prä-Kraftschlag stabilisiert, und verursacht dadurch eine durchschnittlich verlängerte Bindung von Myosin und Aktin und verlängert die Dauer der Systole. Die Strecke, die Myosin gegenüber Aktin unter Verbrauch eines ATP zurücklegt, wird durch die Anwesenheit von OM verringert.⁷³ Diese Wirkungen sind in Abb. 3 dargestellt.

Querbrückenzyklus in Anwesenheit von OM

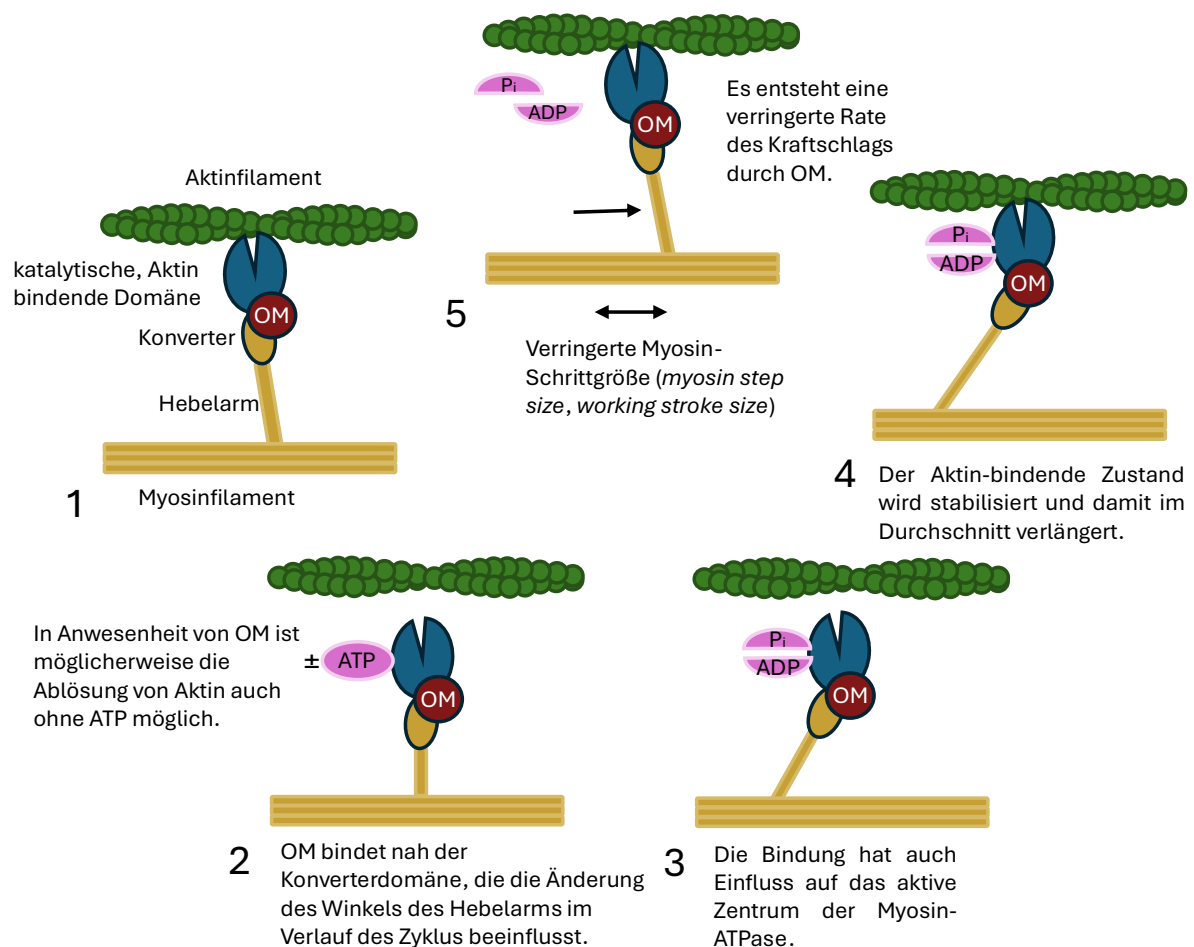


Abb. 3: Querbrückenzyklus in Anwesenheit von OM

Dargestellt wird der Querbrückenzyklus bei Bindung von OM an die Myosinköpfe. Durch die Bindung werden allosterische Änderungen verursacht. Der gebundene Zustand vor den Kraftschlägen wird stabilisiert, die Rate des Kraftschlags dadurch verringert, die Myosinschrittgröße wird verringert. Eigene Grafik nach ⁷²⁻⁷⁵.

Die Menge an aktiven Myosinmolekülen wird gleichzeitig vermehrt, indem ein inaktiver *OFF*-Status mit zurückgefalteten Myosinköpfchen (*interacting heads motif*) allosterisch instabilisiert wird, sodass mehr Myosinköpfe im *ON*-Status für die Aktin-Myosin-Interaktion zur Verfügung stehen (dargestellt in Abb. 4).^{75,78} Unter normalen Bedingungen stehen nur 10 bis 30 Prozent der Myosinköpfe für die Interaktion mit Aktin zur Verfügung.⁷⁹

Es entsteht insgesamt eine konzentrationsabhängig verlangsamte, aber stärkere Kontraktion vermutlich durch die Rekrutierung vorher inaktiver Myosinmoleküle.^{73,78} Bei einer Konzentration von 0,5 μM verursachte OM eine maximale Zunahme der Kontraktilität isolierter menschlicher ventrikulärer Myofibrillen um 40 %.⁸⁰ Der

Wirkmechanismus von OM ist noch nicht vollständig erforscht und somit Gegenstand weiterer Untersuchungen.⁵⁶

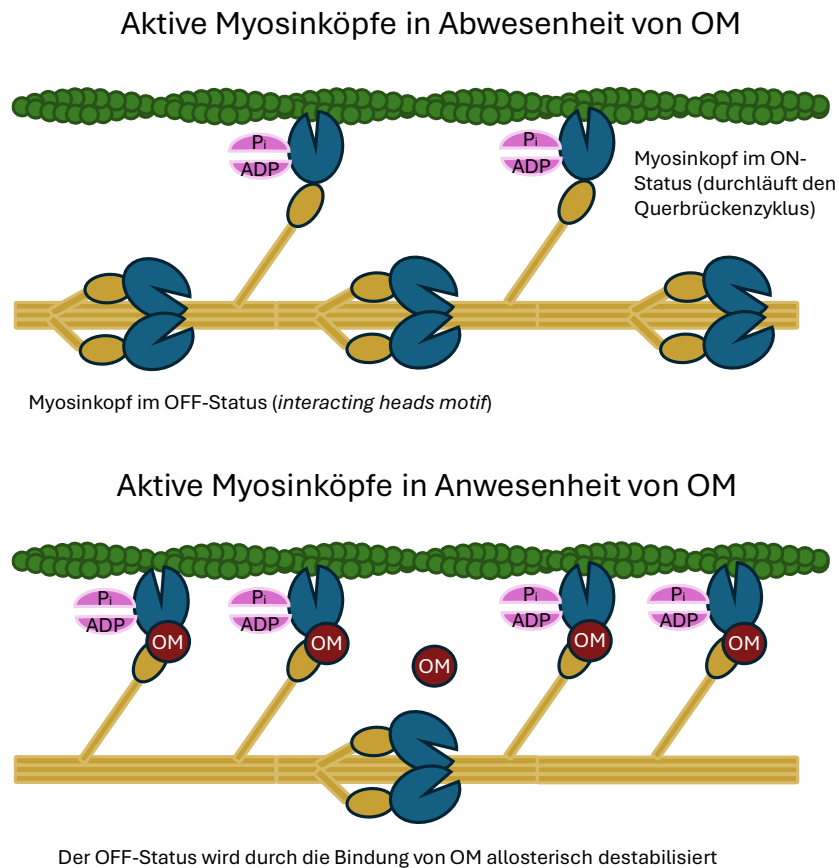


Abb. 4: Destabilisierung des inaktiven Status der Myosinköpfchen

Dargestellt ist schematisch die Verringerung der Wahrscheinlichkeit eines inaktiven (*OFF*-) Status der Myosinköpfe im *interacting heads motif* unter Anwesenheit von OM, wodurch mehr Myosinköpfchen für den Querbrückenzyklus und eine Kraftentwicklung zur Verfügung stehen. In grüner Farbe dargestellt sind die Aktinfilamente sowie ocker- und blaufarbig Myosin. Eigene Grafik nach^{74,75,78}.

Neuere Studien zeigten unter der Gabe von OM einen erhöhten Sauerstoffverbrauch. Ursächlich dafür könnte die erhöhte ATPase-Aktivität bei verlängerter Systole sowie erhöhter Menge aktiver Myosin-Aktin-Interaktionen sein. OM bindet auch an kardiales α -Myosin.⁸¹ α -Myosin ist weniger empfindlich gegenüber OM. Dabei hat OM an α -Myosin enthaltenden isolierten Myofibrillen aus menschlichem Vorhofgewebe ab 5 μ M einen negativen Effekt auf die Kontraktilität.⁸⁰ Kardiales β -Myosin wird auch in langsamen Skelettmuskelfasern exprimiert, an Ratten zeigte sich eine vermehrte Kontraktilität des Zwerchfells. Ein relevanter Effekt an der Skelettmuskulatur war in klinischen Studien nicht nachzuweisen, ist aber in höheren Dosierungen nicht auszuschließen.^{56,82}

OM erhöhte in klinischen Studien die linksventrikuläre Ejektionsfraktion, die fraktionelle Verkürzung sowie die systolische Auswurfzeit.⁸³ Die positive Wirkung auf die EF scheint dabei aufgrund einer Verlängerung der Dauer der Systole hauptsächlich bei einer ausreichend langsamen Herzfrequenz vorhanden zu sein. OM beeinflusste die Herzfrequenz in klinischen Studien nicht.

Der therapeutische Bereich von OM wurde als eine Plasmakonzentration zwischen 200 bis 800 ng/ml beschrieben, entsprechend etwa 0,48 bis 2 µM.⁸⁴ Bei einer Blutkonzentration von über 3 und über 4 µM OM ergaben sich in einer Phase-2-Studie bei zwei Patienten nach einer prolongierten Infusion über 70 Stunden Symptome einer myokardialen Ischämie.⁸⁵ Dies könnte daran liegen, dass die Dauer der Diastole durch die Verlängerung der Systole anteilig verringert wird und somit die diastolische Perfusion der Koronarien vermindert werden könnte. Auch die Füllung des linken Ventrikels kann bei verkürzter Diastolendauer verringert werden, sodass die das Schlagvolumen vergrößernde Wirkung von OM bei supratherapeutischen Konzentrationen aufgrund einer diastolischen Dysfunktion wieder abnehmen oder sogar ins Gegenteil umschlagen könnte.⁸⁶

In der Phase-3-Studie GALACTIC-HF zeigte sich für OM in einer Post-hoc-Analyse der Patientensubgruppe mit einer höchstgradig reduzierten Ejektionsfraktion von weniger als 30 % eine signifikante Abnahme eines kombinierten primären Endpunktes aus Mortalität oder klinisch verschlechterter Herzinsuffizienz mit Hospitalisation.⁸⁷ Eine Subanalyse der Patienten mit einem systolischen Blutdruck von weniger als 100 mmHg zeigte eine signifikante Abnahme des kombinierten primären Endpunkts gegenüber der Gruppe mit einem systolischen Blutdruck über 100 mmHg.⁸⁸ Bei der Anwendung bei Patienten mit akuter Herzinsuffizienz erbrachte OM potentiell in der Anwendungsgruppe mit der höchsten Dosierung einen Vorteil in der Reduktion einer Atemnot.⁸⁹ In einer ersten Metaanalyse aller bisherigen randomisiert-kontrollierten Studien ergab sich kein signifikanter Überlebensvorteil durch OM.⁹⁰ Dies ist in der Therapie der Herzinsuffizienz nicht ungewöhnlich, auch SGLT2-Inhibitoren zeigen in großen Kohortenstudien zwar eine Besserung der Herzinsuffizienz-Symptomatik und damit eine signifikante Abnahme eines kombinierten Endpunkts aus Mortalität und notwendiger Hospitalisation, nicht jedoch der Mortalität alleine.⁹¹ Für Schleifendiuretika existiert ebenfalls keine aktuelle Evidenz für eine Besserung der Mortalität.⁹²

Zusätzlich zur Wirkung am kardialen Myosin zeigte sich auch eine Interaktion zwischen dem Ryanodin-Rezeptor 2 (RyR-2) und OM.⁹³ RyR-2 sind im sarkoplasmatischen Retikulum (SR) der Kardiomyozyten für den Einstrom von Calcium aus dem SR ins Zytosol während der Systole zuständig. Für den RyR-2 wurde zuvor eine Beteiligung in der Kardioprotektion durch pharmakologische Präkonditionierung und Postkonditionierung⁹⁴ beschrieben.

OM aktiviert den RyR-2. Dabei erhöht sich die Offenwahrscheinlichkeit des RyR-2 dosisabhängig in Anwesenheit von OM, wodurch die intrazelluläre Calciumkonzentration zunimmt. Über diesen Mechanismus könnte eine Aktivierung des RyR-2 die Öffnungswahrscheinlichkeit der mPTP beeinflussen und somit den I/R-Schaden beeinflussen.⁹⁴

1.6 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Bei Menschen mit einer akuten oder chronischen Herzinsuffizienz besteht als Ursache der Herzinsuffizienz häufig eine koronare Herzerkrankung oder ein akuter oder vergangener Myokardinfarkt.⁵⁷ Diese Menschen stehen gleichzeitig ebenfalls unter einem erhöhten Risiko, einen erneuten MI oder eine vorübergehende kardiale Ischämie anderer Ursache zu erleiden, beispielsweise bei einer Operation am Herzen aufgrund einer KHK. In Zukunft könnten sie zum Zeitpunkt einer kardialen Ischämie und Reperfusion mit einer Dauertherapie mit OM bei bestehender HFrEF versorgt sein oder infolge eines Myokardinfarktes eine neue akute HFrEF entwickeln, die in Zukunft möglicherweise mit OM therapiert werden könnte. Dementsprechend ist es sinnvoll, die Auswirkungen vom OM auf einen kardialen I/R-Schaden zu untersuchen. OM interagiert in Herzmuskelzellen ebenfalls mit dem RyR-2, der ein mögliches Ziel kardioprotektiver Interventionen ist.⁹⁴ Die Hypothese der Versuche war, dass OM eine kardioprotektive Wirkung hat und somit die Infarktgröße am isoliert perfundierten Herz bei Gabe vor und nach einer Ischämie durch Prä- und Postkonditionierung verringert. Die Auswirkung von OM auf hämodynamische Variablen am isoliert perfundierten Rattenherz vor und nach einer Ischämie sollte in verschiedenen Konzentrationen untersucht werden.

2 Methoden

2.1 Materialien und Chemikalien

Tabelle 1: **Materialien**

Produkt	Daten
Spritzen 1 ml	Omnifix ® F Solo 1 ml, Firma ALMO-Erzeugnisse Erwin Busch GmbH, Bad Alsen, Deutschland, Vertrieb über: Braun Medical Inc., Bethlehem, PA, USA
Spritzen 3 ml	Omnifix ® Luer Lock Solo 3 ml, Firma B. Braun Medical AG, Escholzmat, Schweiz
Perfusorspritzen	Omnifix ® 5/10/20 ml Luerlock; Original Perfusor Syringe ® 50 ml Luerlock, Firma B. Braun Medical AG, Escholzmat, Schweiz
Perfusorschläuche	ProSet Verbindungsleitung, 1,0 x 2,0 mm, PE, 15 cm, Firma Braun Medical AG, Escholzmat, Schweiz
Laborflaschen	2000/5000 ml Schott Duran ® protect Original GL Laborflaschen, Firma Schott AG, Mainz, Deutschland
Luer-Adapter	Luer to Tube Connector Kits, Catalog No. 7214-07, Firma Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts, USA
Polyesterfaden	Veterinärmedizinischer chirurgischer Faden, Stärke 4 - 0, Firma Resorba, Nürnberg, Deutschland
Pumpenschlauch (flexibel)	Pumpenschlauch, 2-Stopp, Tygon LMT-55, Innendurchmesser 3,17 mm, Ref: 070534-25i-ND SC0222T, Firma VWR International GmbH, Hannover, Deutschland
Silikonschlauch	Schlauch, Silikon, Innendurchmesser 5 mm, Silicone Tubing 5x8, European Catalog Nr. VWRI 228-0714, Firma VWR International GmbH, Hannover, Deutschland
Schlauch dick	Schlauch Tygon SI3 E-3603, Innendurchmesser 6 mm, Firma Tygon SAINT-GOBAIN Performance Plastics France, Site de Charny, Frankreich, über: VWR International GmbH, Hannover, Deutschland
Schlauch dünn	Schlauch Tygon SI3 E-3603, Innendurchmesser 3,2 mm, Firma Tygon SAINT-GOBAIN Performance Plastics France, Site de Charny, Frankreich, über: VWR International GmbH, Hannover, Deutschland
PVC-Schlauch	Gilson Pvc-Tubing 3.16mm ID, F117949, Gilson Inc., Middleton, Wisconsin, USA
Aufziehkanülen	BD™ Blunt Fill Needle 1,2 x 40 mm, Firma Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, <u>USA</u>
Injektionskanülen	Sterican ® 0,6 x 30 mm & Sterican ® 0,9 x 40 mm, Firma Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

Dreiwegehähne	B.Braun Discofix ® C Dreiwegehähne, Firma Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Messzylinder	Hirschmann Messzylinder, Kl. A, blau graduiert, ISO 4788, Firma Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG, Eberstadt, Deutschland
Pipettenspitzen	Eppendorf epTIPS Standard-Pipettenspitzen, Firma Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland

Tabelle 2: **Chemikalien**

Chemikalie	Molekulargewicht (g/mol)	Produktdaten
Calciumchlorid (CaCl ₂)	110,99	CAS: 10043-52-4, Reinheit ≥ 93%, Firma Acros Organics, Geel, Belgien
D-Glucose	180,16	CAS: 50-99-7, Firma Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Dimethylsulfoxid (DMSO)	78,13	CAS: 67-68-5, Reinheit ≥ 99,9%, Firma Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, USA
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	292,2	CAS: 60-00-4, Reinheit ≥ 99%, Firma Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Formaldehyd 37% mit 10% Methanol		CAS: 50-00-0, Reinheit 36,5-38%, Firma Merck, Darmstadt, Deutschland
Heparin-Natrium		CAS: 9041-08-1, 5000 IE/ml 5 ml Durchstechampulle, Firma Braun SE, Melsungen, Deutschland
Isotonische Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) 250 ml		Firma Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Deutschland
Kaliumchlorid (KCl)	74,55	CAS: 7447-40-7, Reinheit ≥ 99,5%, Firma Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland

Kaliumdihydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄)	136,09	CAS: 7778-77-0, Reinheit ≥ 99%, Firma Merck, Darmstadt, Deutschland
L(+)-Natriumlaktat	112,1	CAS: 867-56-1, Reinheit ≥ 99%, Firma Applichem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Magnesiumsulfat-Heptahydrat (MgSO ₄ + 7 H ₂ O)	246,48	CAS: 10034-99-8, Reinheit ≥ 99,5%, Firma Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl)	58,44	CAS: 7647-14-5, Reinheit >99,9%, Firma VWR Chemicals International, Leuven, Belgien
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃)	84,01	CAS: 144-55-8, Reinheit ≥ 99%, Firma Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Omecamtiv mecarbil (CK-1827452)	401,43	CAS: 873697-71-3, Reinheit ≥ 98%, Cat.-Nr, A8349 – 10 mg, Batch Number: 1, Firma ApexBio Technology LLC, Houston, Texas, USA
Pentobarbital-Natrium-Lösung		Narcoren ® 16 g/100 ml, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland
Salzsäure 37% (HCl +H ₂ O)		CAS: 7647-01-0, Reinheit ≥ 37%, Firma Carl Roth + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumhydroxidlauge (KOH)	56,11	
Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)	334,79	CAS: 298-96-4, Reinheit ≥ 99%, Firma Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Tris-hydroxymethylaminomethan	121,14	CAS: 77-86-1, Reinheit ≥ 99,9%, Tris Pufferan ®, Firma Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland

Tabelle 3: **Gase**

Produkt	Daten
Carbogen (95% O ₂ , 5% CO ₂)	CAS: 124-38-9 bzw. 7782-44-7, Firma Linde AG, Pullach, Deutschland
Stickstoff 5.0 (N ₂)	CAS: 7727-37-9, Reinheit $\geq$ 99,999%, Firma Linde AG, Pullach, Deutschland

2.2 Software und Geräte

Tabelle 4: **Software**

Funktion	Software
Datenerfassung und -verrechnung	Microsoft Excel Version 2311, Firma Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA
Planimetrie	Sigma-Scan Pro 5™ (SPSS Science Software, Chicago, Illinois, USA)
Präsentation von Daten und Erstellung von Vektorgrafiken	Microsoft PowerPoint Version 2311, Firma Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA
Statistik-Software	R: Statistical Computing 4.3.2, The R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich
Statistik-Software	GraphPad StatMate™ Version 1.0.1, Firma GraphPad Software, San Diego, CA, USA
Statistik-Software	RStudio © Version 2023.091, Build 494, Firma Posit Software PBC, Boston, Massachusetts, USA
Versuchsaufzeichnung	LabChart © for Windows 5, Firma AD Instruments, Oxford, England
Visualisierung	ggplot2 (Paket für R), Version 3.4.4, H. Wickham, W. Chang, L. Henry, T. L. Pedersen, K. Takahashi, C. Wilke, K. Woo, H. Yutani, D. Dunnington, Posit Software PBC, Boston, Massachusetts, USA
Rastergrafikbearbeitung	Photoshop Version 25.3.1, Adobe Inc., San José, Kalifornien, USA

Tabelle 5: **Geräte**

Gerätetyp	Daten
Blutgasanalysegerät	ABL800 Flex BGA Gerät, Firma Radiometer GmbH, Krefeld, Deutschland
Datenaufnehmer-/Wandler	PowerLab 8/35, Firma AD Instruments, Oxford, England
Digitalthermometer 1	Temperaturmessgerät GTH 1150 C, Firma Greisinger, Regenstauf, Deutschland

Digitalthermometer 2	Temperaturmessgerät GTH 1160, Firma Greisinger, Regenstauf, Deutschland
Druckeichgerät	HSE Druckeichgerät Typ 367, Firma Hugo Sachs Elektronik Harvard Apparatus GmbH, March, Deutschland
Einhängethermostat	Julabo EC Heating Circulator Model EC, Firma Julabo GmbH, Seelbach, Deutschland
Guillotine	Kleintierdekapiator, Modell 7950, Firma Ugo Basile, Comero, Italien
Laborwaage	Portable Waagen-Serie Scout® Pro, Typ SPU202, Firma OHAUS Corporation, Pine Brook, New Jersey, USA
Magnetrührer mit Heizplatte 1	IKA® RH Basic 2, Firma IKA-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland
Magnetrührer mit Heizplatte 2	MR Hei-Tec, Firma Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland
Peristaltische Pumpe	Minipuls 3, Modell 312, Firma Gilson Incorporated, Middleton, Wisconsin, USA
pH-Meter	Knick Digital-pH-Meter 646, Firma Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland
Präzisionslaborwaage	Secura BP1200, Firma Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
Scanner	CanoScan LIDE 700F, Firma Canon, Amsterdam, Niederlande
Schüttler	Vortex-Genie 1 Touch Mixer, Scientific Industries Inc., Bohemia, NY, USA
Signalverstärker	Bridge Amp FE221, Firma AD Instruments, Oxford, England
Spritzenpumpe	B. Braun Perfusor® Space, Firma Braun SE, Melsungen, Deutschland
Tierwaage	Kern Präzisionswaage 440-45N, Firma KERN & SOHN GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland
Wärmebad	Julabo MW-4, Firma Julabo GmbH, Seelbach, Deutschland
Wasserbad	GFL Typ 1001, Firma Gesellschaft für Labortechnik mbH & Co., Hannover, Deutschland
Pipetten	Eppendorf research® plus – mechanische Pipette, Firma Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Druckaufnehmer	P23XL, Firma Gould Electronics, Bilthoven, Niederlande

2.3 Versuchstiere

Die benötigten Versuchstiere für die Organentnahmen stammten aus der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) der Universitätsklinik Düsseldorf. Unter dem Aktenzeichen O27/12 liegt eine Genehmigung zur Organentnahme vor. Es wurden männliche Wistar-Ratten genutzt, die ein Gewicht zwischen 232 und 350 g hatten und im Durchschnitt 3,5 Monate alt waren. Die Tierhaltung erfolgte in der ZETT in Gruppenkäfigen mit 2-4 Tieren unter kontrollierten, keimarmen Haltungsbedingungen, die Raumtemperatur betrug 22 °C ($\pm$ 2°C), die Luftfeuchtigkeit 50%, die Beleuchtung simulierte einen 12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus, die Raumlufte wurde 15–20-mal pro Stunde komplett ausgetauscht. Die Ratten bekamen *ad libitum* spezielles Futtermittel für Kleinnager sowie entkeimtes und angesäuertes Trinkwasser. Vor den Versuchen waren die Ratten jeweils mindestens 7 Tage in der ZETT akklimatisiert. Die Versuche wurden nach den Richtlinien für Tierversuche des *National Institute of Health* („*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*“, 8. Edition 2011) durchgeführt.⁹⁵

2.4 Langendorff-Anlage

Bereits im Jahr 1866 etablierten Carl Ludwig und Elias Cyon an der Universität Leipzig eine Methode zur isolierten Perfusion eines Froschherzens.⁹⁶ Froschherzen stellen als Kaltblüterherzen relativ geringe Ansprüche an die Kontinuität ihrer Umgebungsbedingungen und werden aus den Herzhöhlen heraus zur eigenen Energieversorgung mit Blut versorgt. Von verschiedenen Forschern in Europa wurde im Anschluss ebenfalls die isolierte Perfusion der Koronargefäße von Säugetierherzen untersucht, im Jahre 1895 stellte Oskar Langendorff erstmals seinen Untersuchungsaufbau dazu vor.⁹⁷ Das Funktionsprinzip ist eine retrograde Perfusion der Koronararterien über eine Kanülierung der *Aorta ascendens*. Dabei verschließt sich die Aortenklappe durch den retrograden Fluss, weshalb das gesamte Perfusat die Koronarien durchströmt und über den *Sinus coronarius* in den rechten Vorhof sowie von dort über die *Vena cava inferior* (VCI) und gegebenenfalls über die durchtrennten Pulmonalarterien abfließt. Dieser Aufbau wurde seitdem Langendorff-Präparation genannt und für verschiedene Versuche immer wieder modifiziert. Damit wurden im letzten Jahrhundert viele grundlegende Erkenntnisse im Bereich der Herzphysiologie und -pathologie gewonnen.⁹⁸ Aktuell ist die isolierte Herzperfusion an der Langendorff-

Anlage immer noch eine der am häufigsten genutzten Methoden, um experimentelle Erkenntnisse zu physiologischen und pharmakologischen Fragestellungen am Herzen, zu I/R-Schäden sowie zur Präservierung von Spenderherzen zur Herztransplantation zu gewinnen.⁹⁹

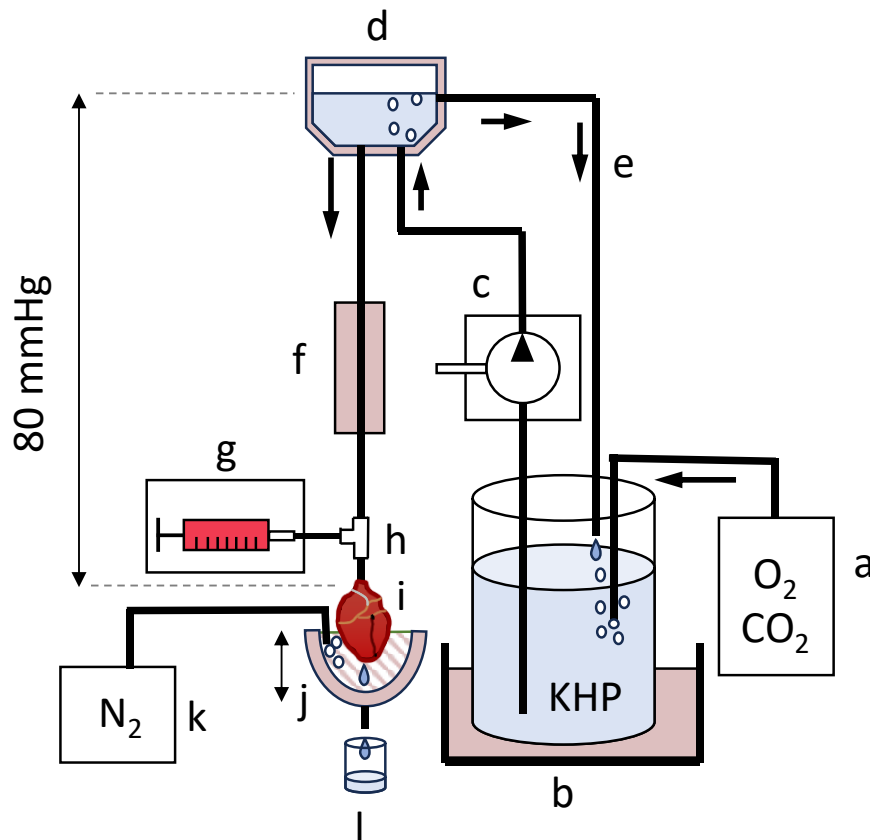


Abb. 5: vereinfachte schematische Langendorff-Anlage

a) Carbogen (95 % O₂ + 5 % CO₂); b) begaster Puffer im Wärmebad (KHP = Krebs-Henseleit-Puffer); c) Rollerpumpe; d) Luftfalle mit Wärmehülle aus Glas; e) freier Abfluss von Puffer bei 80 mmHg Höhe der Wassersäule über dem Herz; f) Wärmespirale aus Glas; g) Spritzenpumpe mit Spritze mit OM oder Puffer; h) Dreiwegehahn; i) Herz, an aortaler Kanüle aufgehängt; j) halboffene Wärmekammer = Ischämiegefäß um das Herz, höhenverstellbar und mit warmem Puffer befüllbar, mit Abfluss; k) Stickstoff zum Verdrängen des Sauerstoffs aus dem wärmenden Puffer während der Ischämie; l) Abfluss mit Messzylinder zur Koronarflussbestimmung. Pfeile mit einer Spitze: Flussrichtung von Puffer/Gas. Pfeil mit 2 Spitzen: Bewegung von j) zur warmen Ischämie. Puffer ist blassblau dargestellt.

Gewärmte Elemente sind blassrot dargestellt. Nicht dargestellt sind die Wärmeanlage und Verbindungsschläuche dieser zu den Glaselementen sowie der linksventrikulär eingebrachte Ballon, die Druckleitung sowie die Aufzeichnungsgeräte.

Die Langendorff-Anlage (dargestellt in Abb. 5) beinhaltete für diese Versuche ein Gefäß für den Puffer, von dem aus eine peristaltische Pumpe diesen über PVC-Schläuche durch eine Luftfalle und eine Wärmespirale aus Glas zur aortalen Kanüle leitete. Durch einen freien Ablauf des Puffers oberhalb der Luftfalle konnte durch die Einstellung der Höhe der Anlage eine druckkonstante Perfusion mit einem arteriellen Mitteldruck von 80 mmHg auf Höhe der Koronarien erfolgen, der Wasserspiegel des freien Ablaufs (Rezirkulation ins Puffergefäß) war dabei 108,8 cm über der Spitze der aortalen Kanüle. Das Pufferbehältnis stand dabei in einem 42°C warmen Wärmebad, die Luftfalle und eine Wärmespirale waren in ihrer doppelten Glaswand ebenfalls von 42°C warmem Wasser umspült. Um das Herz war zur Wärmeisolierung von der 27°C warmen Raumluft ein mit 42°C warmem Wasser in der Wand durchspültes Glasgefäß als halboffene Wärmekammer angebracht, die keinen direkten Kontakt zu dem Herz hatte, aber während der Perfusionsphasen seine Umgebungsluft anwärmte. Dieses Glasgefäß konnte in seiner Höhe verstellt werden und während der Ischämie mit deoxygeniertem, nitrogenisiertem Puffer gefüllt werden, um eine warme Ischämie trotz nicht mehr vorhandener Perfusion durch externe Wärmung des Herzens zu erreichen. Ebenso konnte darüber der Abfluss aus der VCI eingefangen und über einen darunter angebrachten Dreiwegehahn so der Koronarfluss durch Auffangen in einem Messbecher gemessen werden. Die Temperatur wurde vor und nach den Versuchen mit einem Digitalthermometer (GTH 1160, Firma Greisinger) an der aortalen Kanüle gemessen und betrug $37,5 \pm 0,2$ °C, was eine normale Temperatur für junge Ratten ist, deren Körpertemperatur $38,0 \pm 0,1$ °C nachts und $36,2 \pm 0,1$ °C tagsüber beträgt.¹⁰⁰ Vor dem Versuchsbeginn wurde die Langendorff-Anlage einige Minuten mit warmem Perfusat durchgespült und im Anschluss sehr genau auf verbliebene Luftblasen im Bereich des Zulaufs zum Herzen, bestehend aus der Wärmespirale und dem Dreiwegehahn darunter, überprüft sowie diese gegebenenfalls manuell mit einer Spritze entfernt.

2.5 Krebs-Henseleit-Puffer

Während ursprünglich hauptsächlich das entnommene Blut anderer Tiere zur Perfusion der Koronarien der Versuchstiere an der Langendorff-Anlage verwendet wurde, etablierte sich später die Nutzung des von der Ringer-Lösung abgeleiteten Krebs-Henseleit-Puffers (KHP).¹⁰¹ Dieser Bikarbonatpuffer hat aufgrund der Abwesenheit von korpuskulären Sauerstoffträgern eine geringe

Sauerstofftransportkapazität, die durch das Begasen mit 95 % Sauerstoff sowie 5 % Kohlenstoffdioxid (Carbogen) auszugleichen versucht wird, wodurch ein hoher Sauerstoffpartialdruck erreicht wird. Durch die Abwesenheit von Kolloiden (Albumin schäumt in purer kristalloider Lösung) ergibt sich auch ein sehr geringer onkotischer Druck mit über die Zeit erfolgender Ödembildung im Gewebe, weshalb sich der Puffer für längere Versuche weniger gut eignet und mit Erythrozyten zusätzlich supplementiert werden müsste, um eine längere Stabilität des Modells und die Möglichkeit der Zugabe von Kolloiden zu erreichen. Dies gilt ebenfalls für die Hinzunahme von freien Fettsäuren zur Abbildung einer physiologischen Energiegewinnung des Herzmuskels.¹⁰¹ Da die Versuche in dieser Arbeit eine relativ kurze Zeitdauer haben konnten, wurde sich bei dem gewählten Puffer auf einen reinen Kristalloidpuffer beschränkt.

Die gewählte Zusammensetzung für die Versuche war ein modifizierter KHP mit 118 mmol Natriumchlorid (NaCl), 4,7 mmol Kaliumchlorid (KCl), 1,2 mmol Magnesiumsulfat-Heptahydrat ($\text{MgSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$), 1,17 mmol Kaliumhydrogenphosphat (KH_2PO_4), 24,9 mmol Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3), 2,52 mmol Calciumchlorid (CaCl_2), 0,5 mmol Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), 11 mmol Glucose und 1 mmol Laktat pro Liter Millipore-Reinstwasser. Der Puffer enthält aufgrund der Abwesenheit von Proteinen mehr ionisiertes Calcium, als unter physiologischen Bedingungen der Fall wäre (etwa 1,25 mmol pro Liter). Er wurde unter dauerhaftem Rühren auf einer Magnetplatte mit Magnetschwimmer hergestellt, die genutzten Mengen wurden mit einer direkt vor der Pufferherstellung kalibrierten Feinwaage (Secura BP1200, Firma Sartorius AG) bis auf eine Genauigkeit eines Hundertstels eines Gramms exakt abgewogen. Der Puffer wurde entweder direkt oder maximal nach 16 Stunden nach Lagerung in einem Kühlschrank bei 4°C und erneuter Erwärmung auf einer Magnetplatte unter Rühren mit einem Magnetschwimmer verwendet. Vor Versuchsbeginn wurde der Puffer erwärmt sowie in ein Wärmebad zur kontinuierlichen Wärmung auf 42°C eingestellt, nach Beginn der Begasung mit 200 ml/min Carbogen (95 % Sauerstoff und 5 % Kohlenstoffdioxid) wurde vor Versuchsbeginn sowie regelmäßig währenddessen eine Messung der Elektrolyte, des pH, des pCO_2 und pO_2 , der Glucose und des Laktats bei einer Temperatur von 37,5°C per Blutgasanalysegerät durchgeführt, der pH betrug unter Begasung mit Kohlenstoffdioxid $7,4 \pm 0,5$.

2.6 Versuchssubstanz Omecamtiv Mecarbil

Omecamtiv Mecarbil (OM) wurde von der Firma Apex Biotechnology LLC aus Houston, Texas, USA bezogen und lag in einer Reinheit von über 98 Prozent als Pulver in Ampullen mit jeweils 10 mg Trockensubstanz vor. Zur Schaffung einer 100-millimolaren Grundlösung wurden die 10 mg Trockensubstanz einer Ampulle in 0,249 Millilitern Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst. Diese Grundlösung wurde für die Versuche in Spritzen mit Krebs-Henseleit-Puffer pipettiert und dadurch weiter verdünnt. Zusätzlich wurden die fertigen, verschlossenen Spritzen mit einem Schüttelgerät mit Vibration (Vortex-Genie 1 Touch Mixer, Scientific Industries Inc., Bohemia, NY, USA) geschüttelt, um eine maximale Lösung sowie einheitliche Durchmischung im KHP zu erreichen.

Für eine Perfusion der Koronarien mit einer Konzentration von 1 bis 10 μM OM wurde die Grundlösung entsprechend mit KHP verdünnt, sodass eine Applikation mit einer Infusionsrate von einem Prozent des zuvor gemessen Koronarflusses erfolgen konnte.

Bei der Verdünnung für eine Perfusion mit 30 μM OM wurde versucht, eine Konzentration von 3 mM OM in der Spritze zu erreichen, dabei kam es allerdings reproduzierbar zur Ausfällung des OM im KHP, vermutlich aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in Wasser. Auch bei zunächst versuchter Applikation von kleineren Mengen der Grundlösung und intermittierendem Schütteln der Spritze mit dem Vortex-Genie 1 vor weiterer Applikation gelang es nicht, eine stabile Lösung mit 3 mM OM in KHP zu schaffen. Für eine Perfusion der Koronarien mit 30 μM OM wurde deswegen eine Mischung mit 1 mM OM in KHP abweichend von den restlichen Versuchsreihen mit drei Prozent statt einem Prozent des Koronarflusses infundiert. Der KHP in den Spritzen wurde weder begast noch auf 37°C erwärmt, wodurch eine minimal kältere und alkalischere Perfusion resultiert.

Die Kontrollherzen erhielten die gleiche Menge an nicht begastem, kälterem KHP von einem Prozent des Koronarflusses ohne OM.

2.7 Versuchsprotokoll

Die Versuche erfolgten nach einem zuvor festgelegten Protokoll, welches sich zwischen den Versuchen mit Gabe von OM vor der Ischämie und nach der Ischämie gering unterschied. Abb. 6 bildet dieses Protokoll schematisch ab.

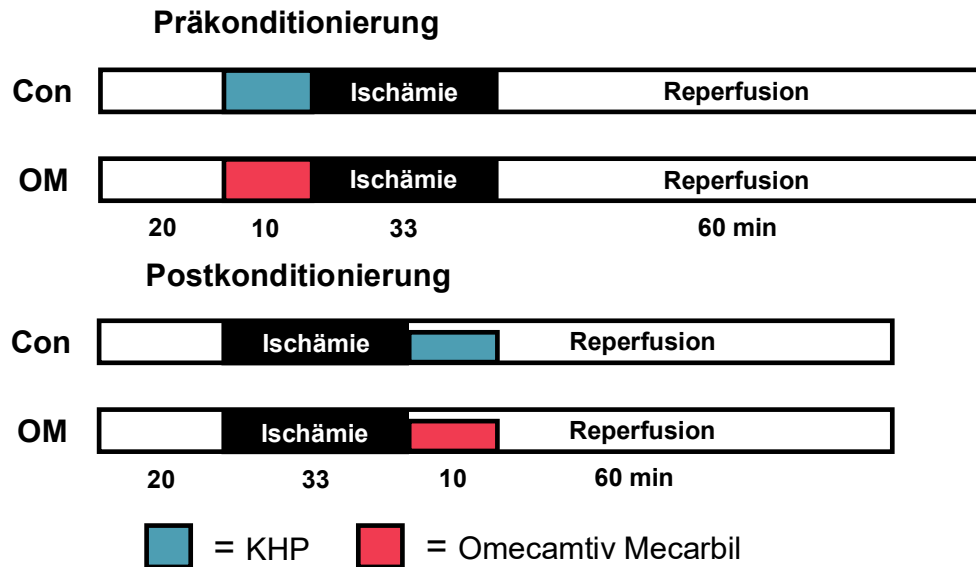


Abb. 6: Versuchsprotokoll der Versuche zur Prä- und Postkonditionierung

Dargestellt sind die Zeitabläufe der Versuche zur Prä- und Postkonditionierung mit OM in Minuten. Die Gabe der Versuchssubstanzen erfolgte während der farblich markierten Zeiträume. Bei den Versuchen zur Postkonditionierung erfolgte die Ischämie direkt im Anschluss an die Eingewöhnungsphase, aufgrund der Gabe von OM während der Reperfusion waren die Versuche im Vergleich 10 Minuten kürzer. Zwischen den verschiedenen getesteten Konzentrationen von OM gab es keine Unterschiede im Versuchsablauf. OM = Omecamtiv Mecarbil. Con = Kontrollgruppe. KHP = Krebs-Henseleit-Puffer. Eigene Grafik modifiziert nach ¹⁰².

Es erfolgte zunächst eine Dosisfindungsstudie zur Bestimmung der niedrigsten präkonditionierenden Dosis. Dafür wurden die Konzentrationen von 1 und 3 μM OM korrelierend zu üblichen und maximal vertragenen Konzentrationen^{83,85} in klinischen Studien ausgewählt sowie eine höhere Konzentration von 10 μM . Nach den Ergebnissen dazu erfolgte zusätzlich eine Erprobung der Wirkung einer höheren Konzentration von 30 μM . Die Gruppengröße war $n=8$ für 1, 3 und 10 μM sowie $n=6$ für 30 μM . Die Kontrollgruppe (ebenfalls $n=8$) erhielt während der Präkonditionierung eine gleiche Menge an KHP mit der Menge DMSO der Versuchsgruppe mit 3 μM OM, entsprechend 0,003 % DMSO.

Sowohl in den Versuchen zur Präkonditionierung als auch denen der Postkonditionierung erfolgte zunächst eine 20-minütige Eingewöhnungsphase (*Baseline*-Phase) und eine Überprüfung der Herzfunktion an der Langendorff-Anlage.

Danach erfolgte in den Gruppen der Präkonditionierung über 10 min vor der Ischämie eine koronare Perfusion mit OM.

Die globale Ischämie dauerte 33 Minuten und wurde durch das Abdrehen des Perfusatflusses an der aortalen Kanüle erreicht. Während der Ischämie wurden die Herzen in einem gewärmten Krebs-Henseleit-Pufferbad mit nitrogenisiertem Puffer warm und absolut hypoxisch gehalten. Die Füllhöhe war dabei bis knapp unter die Höhe der Atrien, damit kein Puffer in den linken Ventrikel einlaufen kann, was die Messung des LVP beeinflussen hätte können. Nach Ablauf der 33 Minuten wurde die Ischämie ebenfalls abrupt beendet durch erneute volle Perfusion der Koronarien nach Öffnung des Zulaufs an der aortalen Kanüle.

Die Herzen wurden über 60 min nach Reperfusion nachbeobachtet, was einer Studie zufolge der optimale Zeitraum zur Nachbeobachtung ist, nach welchem keine Änderung der Infarktgröße gegenüber einer längeren Versuchsdauer mehr zu erwarten ist. Lediglich die hämodynamischen Variablen der Herzen verschlechtern sich danach weiter, eventuell bedingt durch die unphysiologischen Bedingungen des Versuchs mit Entwicklung eines intrazellulären Ödems bei Nutzung von KHP.¹⁰³

Die Durchführung der Versuche für die Postkonditionierung erfolgte nach den Versuchen und Auswertungen der Versuche der Präkonditionierung. Die Dosierungen von 3 und 10 μM OM wurden nach den Ergebnissen der Präkonditionierung ausgewählt. Die Gruppengröße betrug dabei für alle Gruppen $n = 8$.

Es erfolgte nach einer 20-minütigen Eingewöhnungsphase eine 33-minütige warme Ischämie (wie in 2.7.1 beschrieben) und direkt daran anschließend mit Beginn der Reperfusion zur Postkonditionierung über 10 Minuten die Applikation von 3 und 10 μM OM. Die Reperfusion und Nachbeobachtung dauerte einschließlich der 10-minütigen Postkonditionierungsphase mit Gabe von OM oder KHP insgesamt 60 Minuten. Die Versuche waren damit insgesamt 10 Minuten kürzer als die Versuche zur Präkonditionierung.

2.8 Versuchsbeginn, Präparation

Die Ratten wurden mit 80 mg/kg Pentobarbital sowie 1000 internationalen Einheiten (IE) Heparin (etwa 3000 IE/kg) in einer Mischspritze mit einer Subkutankanüle intraperitoneal anästhesiert und antikoaguliert. Nach Erreichen einer ausreichenden Anästhesie nach 3 bis 5 Minuten, die durch die Überprüfung der abwesenden Reaktion auf Schmerzreize und Reflexe gesichert wurde, erfolgte die Dekapitation der Tiere, ein querer Schnitt im Oberbauch und eine links parasternale Thorakotomie. Bei mit einem Spreizer mittig offengehaltenem Thorax konnte eine Eröffnung des Perikards erfolgen, das Herz mit drei Fingern an den Ventrikeln gehalten und an seiner Basis über ein Durchtrennen der *Aorta ascendens* vor dem ersten Gefäßabgang sowie der *Vv. cavae* sowie *Aa.* und *Vv. pulmonales* gelöst werden. Zur Vermeidung großer Luftembolien wurde das Herz in einem mit NaCl gefüllten Messbecher zur Langendorff-Anlage transportiert und dort mit einer kleinen Bulldog-Klemme an die aortale Kanüle befestigt, unter bereits leichtem Fluss des Puffers, ebenfalls zur Vermeidung von Luftembolien. Ein voller Perfusionsdruck zu diesem Zeitpunkt würde allerdings ein Herunterfallen des Herzens bedeuten. Deshalb wurde ein veterinärmedizinischer Faden der Stärke 4-0 mit einem vorbereiteten Knoten um die *Aorta ascendens* in einer Einkerbung der aortalen Kanüle festgezogen und um 2 weitere gegenläufige Knoten ergänzt. Dadurch war das Herz voll befestigt, die Bulldog-Klemme wurde entfernt und der hydrostatische Perfusionsdruck von 80 mmHg wurde komplett freigegeben. Um eine ischämische Präkonditionierung durch eine ungleich lange Hypoperfusion in dieser Phase zu vermeiden, wurde ein Zeitlimit von drei Minuten von der Dekapitation bis zur vollen Perfusion für den Start des Versuchs festgelegt. Anschließend wurde ein flüssigkeitsgefüllter Ballon über einen Schnitt im linken Herzhorn über die Mitralklappe in den linken Ventrikel eingeführt. Dies musste wiederum innerhalb von zwei Minuten erfolgt sein. Nach Platzierung des Ballons begann damit der eigentliche Versuch, die Zeitmessung entsprechend dem Versuchsprotokoll und die Aufzeichnung der hämodynamischen Variablen.

2.9 Messung hämodynamischer Parameter und des Koronarflusses

Zusätzlich zur Infarktgröße kann die Messung hämodynamischer Parameter einen Aufschluss über das funktionelle Ausmaß des I/R-Schadens geben. Für OM ist eine konzentrationsabhängige Beeinflussung hämodynamischer Parameter aus vorherigen Studien ebenfalls anzunehmen (siehe Abschnitt 1.5) und wurde zuvor noch nicht am isolierten Rattenherz untersucht.

Messungen hämodynamischer Parameter und des Koronarflusses wurden zu definierten Zeitpunkten durchgeführt bzw. aus LabChart® extrahiert und in Microsoft Excel erfasst. Bei den Versuchen der Präkonditionierung wurden sie nach 15 Minuten sowie bei den Versuchen der Postkonditionierung nach 18 Minuten in der Eingewöhnungsphase durchgeführt. Bei allen Versuchen erfolgten sie alle 15 Minuten nach Beginn der Reperfusion (viermal während der 60-minütigen Reperfusion). Während der Präkonditionierung und der Postkonditionierung wurde ebenfalls nach je 7 Minuten eine Messung durchgeführt. Abgeleitete Berechnungen zwischen erfassten Parametern wurden ebenfalls in Microsoft Excel durchgeführt.

Der zu Versuchsbeginn in den linken Ventrikel eingebrachte Ballon war mit vollentsalztem Wasser (Millipore) gefüllt und mit einem P23XL-Druckmesssystem der Firma Gould Electronics auf Herzniveau verbunden, das den intraventrikulären Druck über eine Membran in ein elektronisches, analoges Signal verwandelte. Dieses wurde schließlich über den Analog-Digital-Konverter PowerLab 8/35 der Firma AD Instruments bei einer Abtastrate von 500 Hz in digitale Daten umgewandelt und mit LabChart® aufgezeichnet. Eine Kalibrierung des gesamten Druckmesssystems erfolgte jeweils vor Beginn des Versuchs mit einem Druckeichgerät (Typ 367, Hugo Sachs Elektronik Harvard Apparatus) auf Höhenniveau des Druckwandlers, die Einstellung von zwei Referenzdrücken und somit Definition dieser in der Übertragung nach LabChart®.

Nach Einbringen des Ballons und Starten der Aufzeichnung in LabChart® wurde die Größe des Ballons durch Füllung mit Millipore-Wasser so eingestellt, dass ein linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP) von 5 ± 2 mmHg gemessen wurde.

Der LVEDP sowie der linksventrikuläre endsystolische Druck (LVESP) wurden zu den definierten Messzeitpunkten aus LabChart® extrahiert.

Developed pressure (auch *left ventricular developed pressure*, LVDP) bezeichnet die Amplitude zwischen dem LVESP und dem LVEDP und wurde aus den gemessenen Werten zu jedem der Messzeitpunkte berechnet.

Die maximale positive Druckänderung pro Zeiteinheit (Maximum von dP/dt , $dP/dt_{\max}$) sowie die maximale negative Druckänderung pro Zeiteinheit (Minimum von dP/dt , $dP/dt_{\min}$) im linken Ventrikel während eines Herzzyklus stellen Maße für die systolische Kontraktionsgeschwindigkeit sowie die Geschwindigkeit der diastolischen Relaxierung des Herzens dar. Sie wurden ebenfalls von LabChart® aus den abgeleiteten Druckkurven bestimmt.

Die Herzfrequenz wurde von LabChart® automatisch aus den kontinuierlich abgeleiteten Druckwerten bestimmt und in Schlägen pro Minute (bpm, *beats per minute*) aufgezeichnet.

Der über den Sinus coronarius und schließlich die V. cava abfließende Perfusatpuffer wurde mit einem Becherglas über eine Minute eingefangen und auf einer Waage gemessen. Er wird als Fluss pro Minute in Millilitern angegeben. Aufgrund der geringen Menge an gelösten Teilen wurde ein Gewicht von einem Gramm mit einem Milliliter gleichgesetzt. Ein Fluss von weniger als 10 Millilitern pro Minute als Zeichen eines nicht adaptierten bzw. versagenden Herzens oder von über 20 Millilitern pro Minute als mögliches Zeichen einer undichten Befestigung der Kanüle an der Aorta oder zu tiefer Befestigung durch die Aortenklappe hindurch (mit möglicher koronarer Hypoperfusion) am Ende der Eingewöhnungsphase (*Baselinephase*) waren Ausschlusskriterien.

2.10 Messung der Tiercharakteristika

Es wurde das Gewicht der Ratten sowie zusätzlich das Nass- und Trockengewicht der Herzen gemessen. Das Nassgewicht wurde direkt nach Beendigung des Versuchs gemessen, das Trockengewicht der Herzscheiben nach 7 Tagen Trocknung unter einer Dunstabzugshaube. Das Körpergewicht der Ratten wurde mit einer Waage (Kern Präzisionswaage 440-45N) gemessen. Das Gewicht wurde mit einer Genauigkeit von einem zehntel Gramm erfasst.

Das Herznassgewicht wurde nach Beendigung des Versuchs gemessen und mit einer Genauigkeit von einem hundertstel Gramm erfasst.

Das Herztrockengewicht wurde mit einer Genauigkeit von einem hundertstel Gramm erfasst.

2.11 Färbung der Herzen

Direkt nach Beendigung der 60-minütigen Reperfusionszeit und Messung des Nassgewichts wurden die Herzen in einen Spritzenkonus einer 3 ml fassenden LuerLock-Spritze (Fa. Braun) eingesogen und in einem Gefrierschrank bei -18°C gelagert. Die tiefgefrorenen Herzen wurden in der kurzen Achse vom Apex zu den Atrien mit einem Skalpell in jeweils sieben Scheiben geschnitten. Diese Scheiben wurden in einem Wärmebad bei 37°C für 15 Minuten in einer Lösung aus NaCl 0,9 % mit 0,75% Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) und 115 mM TRIS-Puffer (Tris-hydroxymethylaminomethan) gefärbt. Die Färbelösung wurde direkt vor der Färbung hergestellt und hatte einen pH von 7,42 bei 37°C , welcher mit Salzsäure ($\text{HCl} + \text{H}_2\text{O}$) und Kalilauge ($\text{KOH} + \text{H}_2\text{O}$) mittels eines pH-Meters (Knick Digital-pH-Meter 646) exakt eingestellt werden konnte.

Farbloses TTC (Tetrazoliumrot, 2,3,5-Triphenyl-2H-tetrazoliumchlorid) wird in vitalem Gewebe durch Dehydrogenasen in Anwesenheit der Coenzyme NADH/NAD⁺ und NADPH/NADP⁺ zu rotem Triphenylformazan (1,3,5-Triphenylformazan) reduziert (siehe Abb. 7), was in einer makroskopisch sichtbaren Rotfärbung resultiert¹⁰⁴. Im nekrotischen Gewebe sind die benötigten Enzyme durch die Azidose inaktiviert¹⁰⁵ und/oder die Coenzyme als Reaktanden nicht mehr vorhanden¹⁰⁶, dieses bleibt somit ungefärbt. Die Nekroseareale bei TTC-Färbung sind mit durch Elektronenmikroskopie festgestellten Nekrosearealen vergleichbar und zeigen eine Nekrose zu einem frühen Zeitpunkt an, zu dem histologisch noch keine Änderung zu sehen ist.¹⁰⁷ Nekroseareale werden dabei vom lebendigen Gewebe abgegrenzt, ohne dass im noch lebendigen Gewebe eine Unterscheidung in geschädigtes und komplett gesundes Gewebe ermöglicht wird.¹⁰³

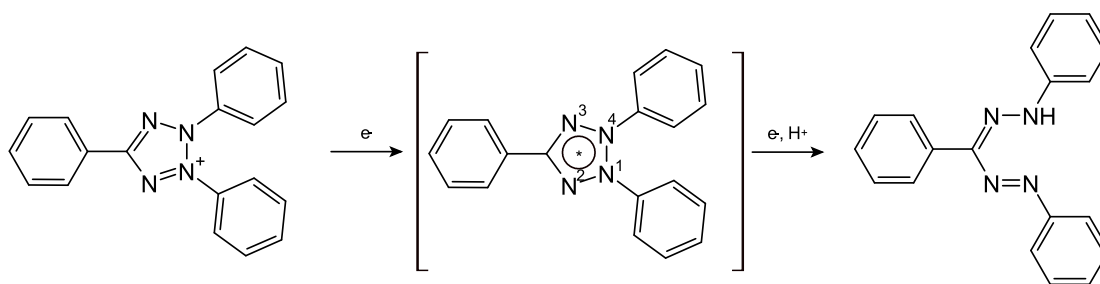


Abb. 7: **Reduktion des Triphenyltetrazoliumchlorid zum Formazan**

*Public Domain.*¹⁰⁸

Nach der Färbung wurden die Herzscheiben in 4% Formaldehyd bei einem pH von 7,4 unter Raumtemperatur 24 Stunden lang fixiert. Danach erfolgte das Einscannen der Herzscheiben und die Bestimmung der Infarktgröße.

2.12 Bestimmung der Infarktgröße

Das Einscannen der Herzscheiben erfolgte mit einem Scanner des Typen CanoScan LIDE 700F der Firma Canon. Die Herzscheiben eines Herzens wurden jeweils bei maximaler Auflösung in einer Bilddatei aufgezeichnet (Beispiel siehe Abb. 8).



Abb. 8: **Scan eines Herzens**

Original-Scan aller Schnitte eines Herzens vor Bearbeitung von Kontrast und Sättigung, mit Zahl zur späteren Zuordnung zu einem Versuch. Links befindet sich der Apex der Ventrikel, rechts ihre Basis.

Zur verblindeten Auswertung durch wissenschaftliche Mitarbeitende unseres Instituts wurden die Scans jedes Herzens jeweils nur mit einer Zahl beschriftet, deren Zuordnung zu einer der Gruppen der auswertenden Person nicht möglich war.

Die Bestimmung der Infarktgrößen wurde planimetrisch als Verhältnis der nekrotischen Fläche zur Gesamtfläche (*area at risk*, *AAR*) vorgenommen. Dazu wurden die entsprechenden Flächen in Sigma-Scan Pro 5™ (SPSS Science Software) eingezeichnet, die Berechnung der nekrotischen Anteile an der Gesamtfläche erfolgte durch Bildung des Mittelwerts der nekrotischen Anteile aller Schnitte eines Herzens in

Microsoft Excel. Somit wurde eine durchschnittliche Nekrose in Voxeln des Herzens analog einer Schichtbildaufnahme erfasst. Der Kontrast sowie die Sättigung wurden zur besseren Unterscheidung von nekrotischem und vitalem Gewebe digital etwas



Abb. 9: **Digital verarbeiteter Scan**

Zu sehen ist ein gescannter Schnitt eines Herzens nach digitaler Bearbeitung von Kontrast und Sättigung (links) in SigmaScan Pro sowie daneben beispielhaft eingezeichnet die binäre Unterscheidung in vitales (rot) und nekrotisches Gewebe (hellgrau). angehoben (je 30% in Sigma-Scan Pro 5, Beispiel siehe Abb. 9).

2.13 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit den Softwareprogrammen GraphPad StatMate™ sowie R 4.3.2 mit Verwendung von R Studio.

Die statistische Auswertung erfolgte für die Infarktgröße, die den primären Endpunkt darstellt, mithilfe einer einfaktoriellen Varianzanalyse (*analysis of variance*, ANOVA) sowie einem nachgeschalteten *Tukey-Post-Hoc-Test* (*Tukey's Honest Significant Difference Test*; TukeyHSD).

Zur Auswertung der hämodynamischen Parameter und Koronarflüsse nach Versuchsgruppe und Messzeitpunkt wurde jeweils eine zweifaktorielle Varianzanalyse (*Two-Way-ANOVA*) mit ebenfalls nachgeschaltetem *Tukey-Post-Hoc-Test* verwendet.

Zur Berechnung der notwendigen Gruppengröße wurde ebenfalls die Software GraphPad StatMate™ verwendet. Bei einem erwarteten durchschnittlichen Unterschied von 25% (siehe Abschnitt 1) der Infarktgröße wurde bei einer Teststärke von 80% und einem akzeptierten α -Fehler von $< 0,05$ eine notwendige Gruppengröße von $n = 8$ errechnet.¹⁰²

Durchschnittliche Unterschiede der Ergebnisse zwischen zwei Gruppen wurden bei Unterschreitung der wie allgemein üblich arbiträr gewählten Wahrscheinlichkeit eines α -Fehlers von 0,05 als signifikant unterschiedlich betrachtet.

3 Ergebnisse

Im folgenden Abschnitt werden relevante Ergebnisse der Arbeit in den Abb. 10 bis 20 grafisch dargestellt. Zur besseren Übersichtlichkeit der Grafiken konnten die dargestellten Messzeitpunkte der Reperfusionsphase auf zwei der erhobenen vier Zeitpunkte beschränkt werden, da in den übrigen Zeitpunkten keine relevanten Unterschiede erkennbar gewesen wären.

Die gemessenen Werte der unterschiedlichen Gruppen sowie Ergebnisse der statistischen Auswertung wurden in *Boxplots* visualisiert, sofern sie relevant für die Fragestellung waren. Mit *Boxplots* ist die Verteilung der Daten jeder Gruppe grob visuell erfassbar. *Boxplots* bilden den Medianwert als horizontale Linie ab, in den Quartilen darüber und darunter werden jeweils 25 % der Datenmenge als Teil eines Rechtecks (*Box*) präsentiert. Die Box bildet somit 50 % der Daten ab, ihre Länge ist der Interquartilsabstand. Die jeweils außerhalb der *Box* liegenden 25 % der Daten werden als *Whisker* (Linie nach oben/unten) dargestellt, die maximal eine Länge des 1,5-fachen Interquartilsabstands abbilden. Werte darüber oder darunter werden als „Ausreißer“ einzeln als Punkte dargestellt.

Zusätzlich zur Darstellung der Daten als *Boxplot* sind Mittelwerte als schwarzes Quadrat eingezeichnet, in den Tabellen 6 bis 21 sind die Daten als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung (MW $\pm$ SD) angegeben.

Sternchen und Rautenzeichen zeigen einen signifikanten Unterschied gegenüber einer anderen Gruppe an, der in der jeweiligen Legende bezeichnet wird.

3.1 Präkonditionierung mit OM

3.1.1 Infarktgrößen

Die Infarktgrößen unterschieden sich bei einer Präkonditionierung mit OM zwischen der Kontrollgruppe und den Gruppen mit Gabe von 10 und 30 μM OM signifikant. Die Gabe von 1 und 3 μM OM zeigte keinen Unterschied zur Kontrollgruppe.

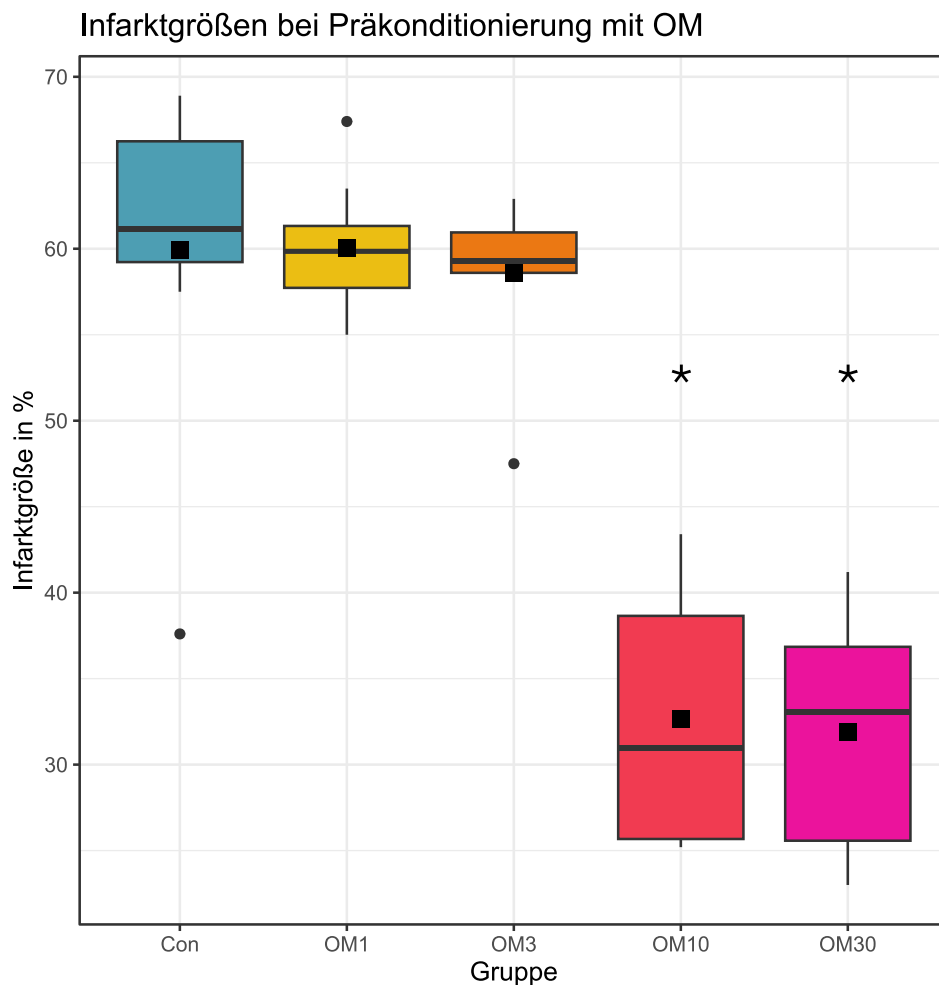


Abb. 10: Infarktgrößen in % der AAR bei Präkonditionierung mit OM

Dargestellt sind die Infarktgrößen in % der *area at risk* (AAR) in Abhängigkeit von der Gruppe. Con = Kontrollgruppe, OM1-30 = OM in den Konzentrationen 1-30 μM ; n = 8, für 30 μM OM n = 6; * = p < 0,05 vs. Con; ■ = MW

Die Infarktgrößen betrugen in der Kontrollgruppe durchschnittlich $60 \pm 10\%$.

Bei 1 μM OM betrug die Infarktgröße $60 \pm 4\%$ (p = 0.99 vs. Con), bei 3 μM OM $59 \pm 5\%$ (p = 0.99 vs. Con). Bei 10 μM OM betrug die Infarktgröße $33 \pm 8\%$ (p < 0,05 vs. Con, Reduktion der Infarktgröße um $27 \pm 10\%$ der AAR), bei 30 μM OM $32 \pm 8\%$ (p < 0,05 vs. Con, Reduktion der Infarktgröße um $28 \pm 11\%$ der AAR).

Auch gegenüber den Gruppen mit Gabe von 1 und 3 μM OM waren die Infarktgrößen bei 10 und 30 μM OM signifikant verringert (jeweils $p < 0,05$).

Die Infarktgrößen der Gruppen mit 10 und 30 μM OM unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

3.1.2 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck

Die Gruppen unterschieden sich mit ihrem LVEDP in der *Baseline*phase nicht signifikant voneinander.

Während der Präkonditionierungsphase stieg der gemessene diastolische Minimaldruck unter Gabe von OM in den Konzentrationen von 3 bis 30 μM signifikant gegenüber der *Baseline*phase an (jeweils $p < 0,05$), bei Gabe von 1 μM OM fand kein signifikanter Anstieg des Drucks statt ($p = 0,99$).

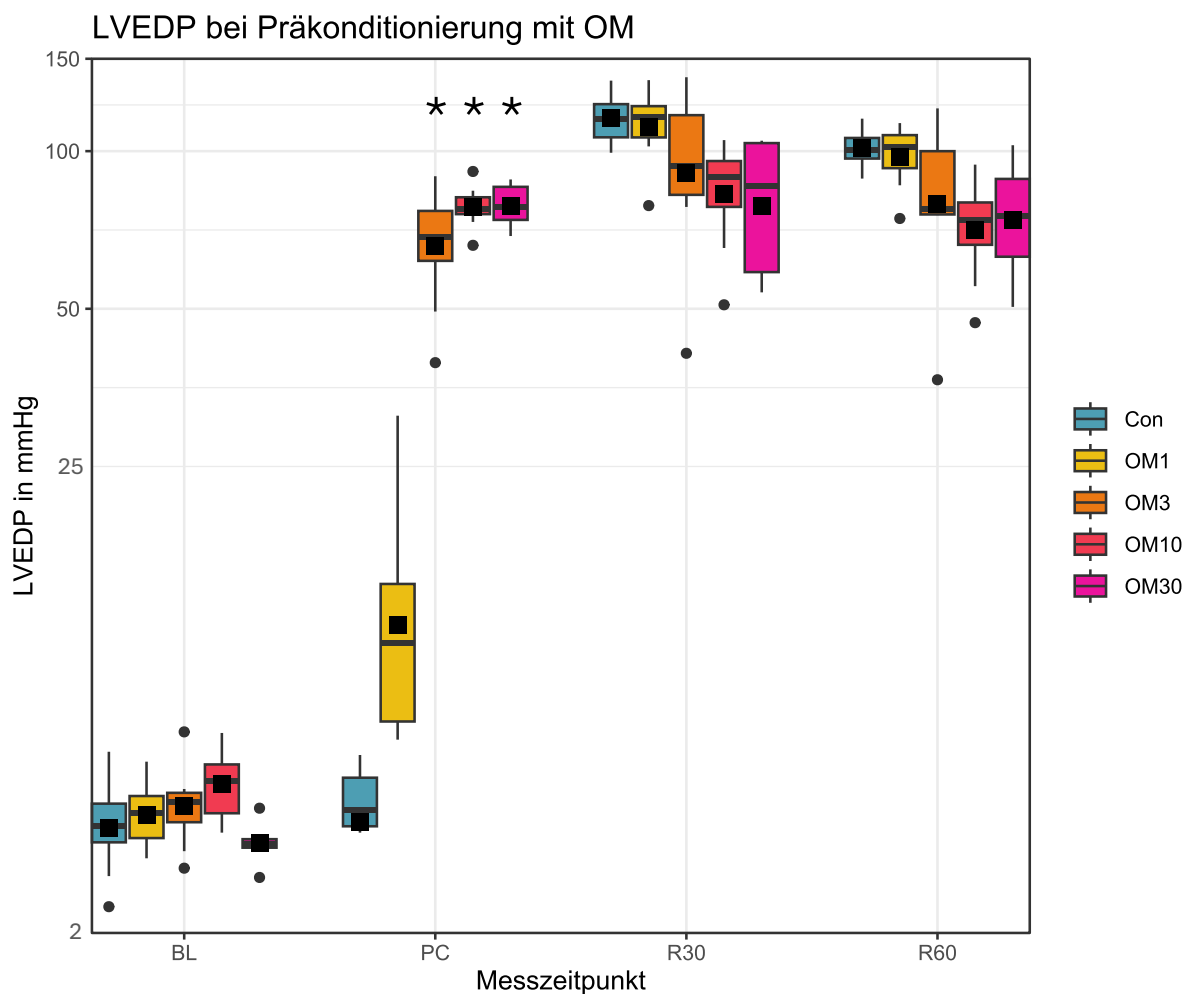


Abb. 11: LVEDP bei Präkonditionierung mit OM

Dargestellt sind die über den linksventrikulären Ballon gemessenen Drücke im linken Ventrikel am Ende der Diastole zu ausgewählten Messzeitpunkten. $n = 8$, für 30 μM OM $n = 6$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM1-30 = OM in den Konzentrationen 1-30 μM). Logarithmische Darstellung zur besseren Sichtbarkeit der Gruppen in der *Baseline*. BL = *Baseline*-Phase; PC = Präkonditionierungsphase; R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperusionszeit. Angaben in mmHg. * = $p < 0,05$ vs. Con; ■ = MW

Zwischen den drei in der Präkonditionierungsphase angestiegenen Gruppen (3 bis 30 μM OM) gab es keine signifikanten Unterschiede.

Während der Reperfusion stieg der LVEDP der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) sowie der Gruppen mit Gabe von 1 μM OM ($p < 0,05$) und 3 μM OM ($p = 0,05$ in der 30. Minute) signifikant gegenüber der Präkonditionierungsphase an.

In den Gruppen mit Gabe von 10 und 30 μM OM unterschied sich der LVEDP nicht signifikant zur Präkonditionierungsphase.

Die Gruppe mit Gabe von 1 μM OM unterschied sich zu keinem Messzeitpunkt von der Kontrollgruppe.

LVEDP in mmHg	Con	OM 1 μM	OM 3 μM	OM 10 μM	OM 30 μM
<i>Baseline</i>	4,4 $\pm$ 1,2	4,7 $\pm$ 0,9	5,0 $\pm$ 1,2	5,6 $\pm$ 1,1	4,0 $\pm$ 0,6
Präkonditionierung	4,7 $\pm$ 1,8	13,8 $\pm$ 8,5	67,9 $\pm$ 17,1	78,5 $\pm$ 7,5	79,0 $\pm$ 7,8
Ischämie 32. Min.	53,8 $\pm$ 12,0	46,4 $\pm$ 9,4	43,9 $\pm$ 12,2	38,0 $\pm$ 7,6	32,1 $\pm$ 7,8
Reperfusion 15. Min.	136,7 $\pm$ 16,7	132,2 $\pm$ 19,4	116,5 $\pm$ 30,1	99,2 $\pm$ 22,4	98,1 $\pm$ 22,9
Reperfusion 30. Min.	116,2 $\pm$ 13,0	112,7 $\pm$ 17,2	95,8 $\pm$ 30,3	85,0 $\pm$ 18,6	81,9 $\pm$ 24,8
Reperfusion 45. Min.	105,7 $\pm$ 8,8	104,2 $\pm$ 13,1	85,5 $\pm$ 30,8	74,0 $\pm$ 17,6	78,9 $\pm$ 18,7
Reperfusion 60. Min.	101,7 $\pm$ 9,0	98,4 $\pm$ 12,8	83,2 $\pm$ 25,1	72,1 $\pm$ 15,0	76,1 $\pm$ 20,0

Tabelle 6: **LVEDP bei Präkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg, als MW $\pm$ SD

3.1.3 Linksventrikuläre Druckamplitude

Die Gruppen unterschieden sich in der *Baseline*phase nicht voneinander ($p = 0,99$ bis $1,0$).

Die Kontrollgruppe und die Gruppe mit Gabe von $1\ \mu\text{M}$ unterschieden sich in der Präkonditionierungsphase nicht signifikant zu ihrer *Baseline*phase oder voneinander.

Die Gruppen mit Gabe von 3 , 10 und $30\ \mu\text{M}$ OM unterschieden sich in der Präkonditionierungsphase zu ihrer jeweiligen Baselinephase (p jeweils $< 0,05$) sowie zur Kontrollgruppe (p jeweils $< 0,05$) und $1\ \mu\text{M}$ OM (p jeweils $< 0,05$).

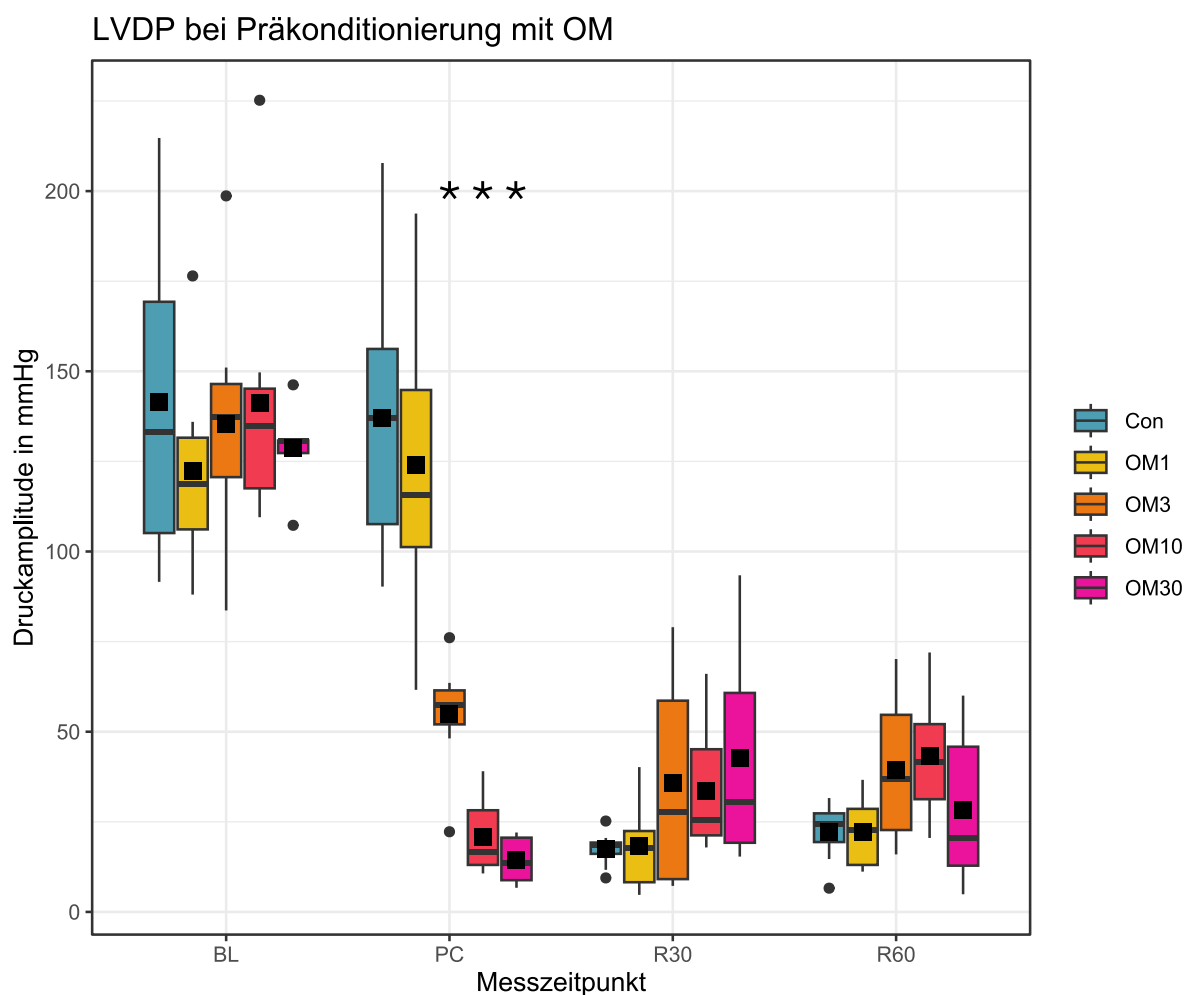


Abb. 12: LVDP bei Präkonditionierung mit OM

Dargestellt werden die gemessenen Druckamplituden zwischen endsystolischem Druck und enddiastolischem Druck zu ausgewählten Messzeitpunkten. $n = 8$, für $30\ \mu\text{M}$ OM $n = 6$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM1-30 = OM in den Konzentrationen 1 - $30\ \mu\text{M}$). BL = *Baseline*-Phase; PC = Präkonditionierungsphase; R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperfusionszeit. Angaben in mmHg. * = $p < 0,05$ vs. Con; ■ = MW

Die Gruppen unterschieden sich zu den Messzeitpunkten in der Reperfusion nicht signifikant voneinander.

Amplitude in mmHg	Con	OM 1 μ M	OM 3 μ M	OM 10 μ M	OM 30 μ M
<i>Baseline</i>	141,4 $\pm$ 44,6	122,2 $\pm$ 26,9	135,4 $\pm$ 34,1	141,1 $\pm$ 37,2	128,6 $\pm$ 12,5
Präkonditionierung	137,1 $\pm$ 40,1	124,0 $\pm$ 42,0	54,9 $\pm$ 15,6	20,8 $\pm$ 10,4	14,3 $\pm$ 6,8
Reperfusion 15 min	10,5 $\pm$ 5,4	10,4 $\pm$ 7,7	23,5 $\pm$ 16,8	37,5 $\pm$ 24,0	45,8 $\pm$ 27,1
Reperfusion 30 min	17,5 $\pm$ 4,9	18,4 $\pm$ 12,1	35,7 $\pm$ 30,6	33,4 $\pm$ 17,3	42,6 $\pm$ 31,7
Reperfusion 45 min	24,4 $\pm$ 8,5	20,9 $\pm$ 11,8	44,6 $\pm$ 34,1	48,3 $\pm$ 22,7	31,1 $\pm$ 24,4
Reperfusion 60 min	22,2 $\pm$ 8,1	22,2 $\pm$ 9,8	39,1 $\pm$ 20,2	43,3 $\pm$ 16,9	28,4 $\pm$ 22,7

Tabelle 7: **LVDP bei Präkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg, als MW $\pm$ SD

3.1.4 Linksventrikulärer endsystolischer Druck

Während der *Baseline*phase gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Während der Präkonditionierung sank der LVESP der mit 10 μ M OM behandelten Gruppe signifikant zur *Baseline*phase ($p < 0,05$) nicht jedoch zur Kontrollgruppe.

Der LVESP der mit 30 μ M OM behandelten Gruppe war während der Präkonditionierung signifikant niedriger als der LVESP der Kontrollgruppe ($p < 0,05$), nicht jedoch gegenüber dem LVESP ihrer eigenen *Baseline*phase.

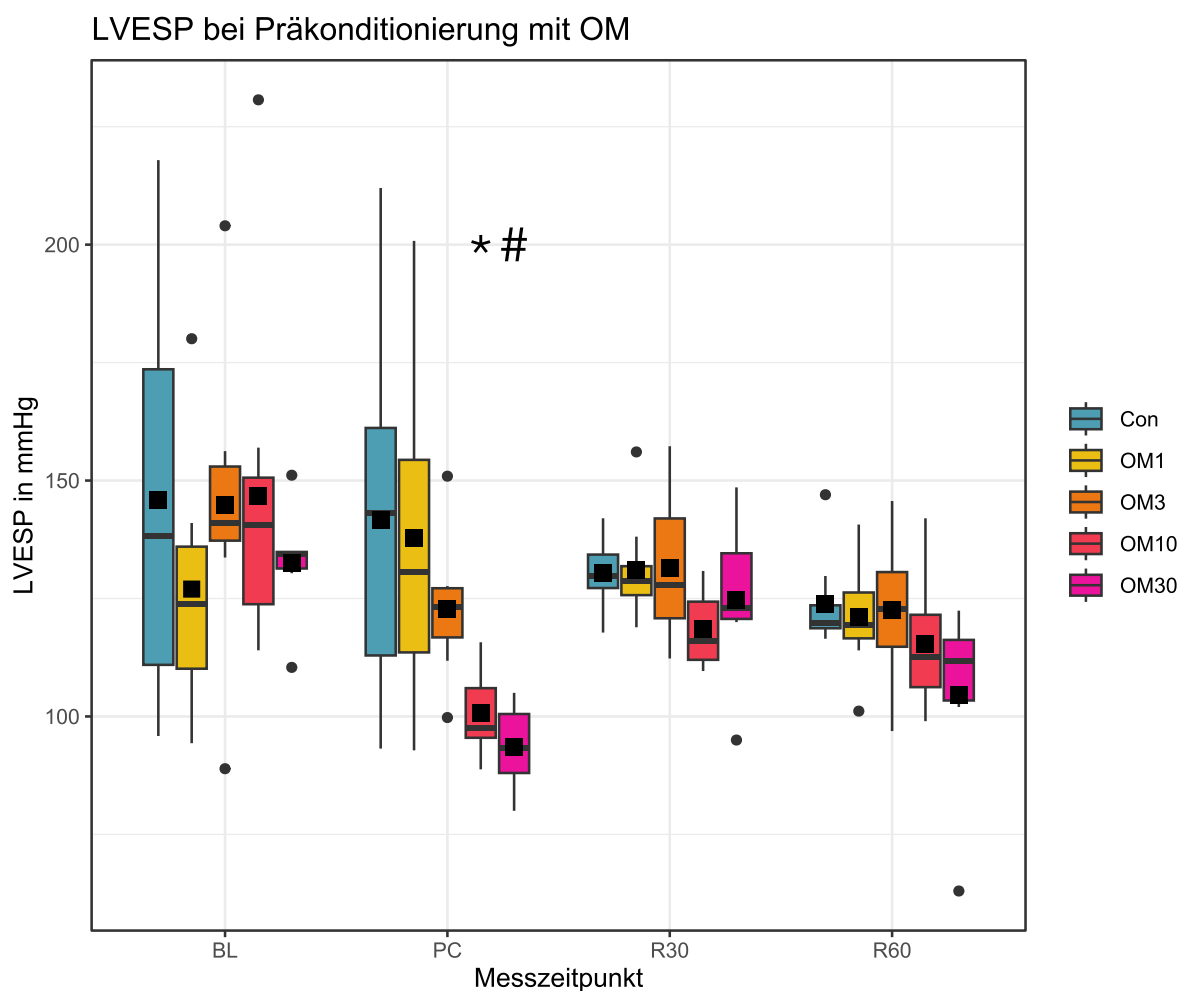


Abb. 13: **LVESP bei Präkonditionierung mit Omecamtiv mecarbil**

Dargestellt werden die gemessenen endsystolischen Maximaldrücke zu ausgewählten Messzeitpunkten. $n = 8$, für 30 μ M OM $n = 6$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM1-30 = OM in den Konzentrationen 1-30 μ M). BL = *Baseline*-Phase; PC = Präkonditionierungsphase; R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperfusionzeit. Angaben in mmHg. * = $p < 0,05$ vs Con; # = $p < 0,05$ vs. BL; ■ = MW

Der LVESP der anderen Gruppen war in der Präkonditionierung nicht signifikant verschieden zu ihrer *Baseline*phase oder anderen Gruppen.

Während der Reperfusion gab es keine signifikanten Unterschiede sowohl zwischen den Gruppen zum gleichen Messzeitpunkt und im Vergleich zu den anderen Messzeitpunkten der gleichen Gruppe.

LVESP in mmHg	Con	Om 1 μ M	OM 3 μ M	OM 10 μ M	OM 30 μ M
<i>Baseline</i>	145,8 $\pm$ 44,4	127,0 $\pm$ 26,3	140,4 $\pm$ 34,1	146,8 $\pm$ 37,4	132,6 $\pm$ 13,0
Präkonditionierung	141,8 $\pm$ 40,4	137,8 $\pm$ 35,4	122,7 $\pm$ 14,7	99,2 $\pm$ 9,5	93,4 $\pm$ 9,4
Ischämie 32. Min.	56,3 $\pm$ 11,7	48,3 $\pm$ 9,3	46,2 $\pm$ 12,3	39,7 $\pm$ 7,5	33,6 $\pm$ 8,2
Reperfusion 15. Min.	147,2 $\pm$ 17,4	142,7 $\pm$ 18,3	140,1 $\pm$ 20,7	136,7 $\pm$ 18,5	143,9 $\pm$ 10,3
Reperfusion 30. Min.	133,7 $\pm$ 11,9	131,1 $\pm$ 11,6	131,5 $\pm$ 16,2	118,5 $\pm$ 8,1	124,6 $\pm$ 18,4
Reperfusion 45. Min.	130,1 $\pm$ 12,4	125,0 $\pm$ 14,7	130,1 $\pm$ 12,5	122,3 $\pm$ 15,0	110,0 $\pm$ 27,8
Reperfusion 60. Min.	123,9 $\pm$ 10,1	120,6 $\pm$ 11,7	122,6 $\pm$ 15,4	115,4 $\pm$ 13,7	104,5 $\pm$ 21,6

Tabelle 8: **LVESP bei Präkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg, als MW $\pm$ SD

3.1.5 Herzfrequenz

Bei Präkonditionierung mit OM in den verschiedenen Konzentrationen ergab sich zu keinem Zeitpunkt der Versuche ein statistisch signifikanter Unterschied in der Herzfrequenz zwischen den verschiedenen Gruppen oder zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten.

Herzfrequenz in bpm	Con	OM 1 μ M	OM 3 μ M	OM 10 μ M	OM 30 μ M
<i>Baseline</i>	309 $\pm$ 40	330 $\pm$ 39	328 $\pm$ 29	332 $\pm$ 45	320 $\pm$ 55
Präkonditionierung	314 $\pm$ 31	314 $\pm$ 55	313 $\pm$ 27	292 $\pm$ 44	295 $\pm$ 62
Reperfusion 15 min	257 $\pm$ 153	570 $\pm$ 871	261 $\pm$ 200	183 $\pm$ 66	220 $\pm$ 55
Reperfusion 30 min	324 $\pm$ 144	287 $\pm$ 61	306 $\pm$ 87	230 $\pm$ 56	222 $\pm$ 92
Reperfusion 45 min	286 $\pm$ 59	268 $\pm$ 49	284 $\pm$ 62	260 $\pm$ 53	268 $\pm$ 133
Reperfusion 60 min	342 $\pm$ 200	261 $\pm$ 54	284 $\pm$ 53	287 $\pm$ 42	275 $\pm$ 66

Tabelle 9: **Herzfrequenz bei Präkonditionierung mit OM**

Angaben in bpm, als MW $\pm$ SD

3.1.6 Positive Druckänderungsmaxima ($dP/dt_{\max}$)

In der *Baseline*phase gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Während der Präkonditionierungsphase unterschieden sich die Maxima der (systolischen) linksventrikulären Drucksteigerung in der Kontrollgruppe und der Gruppe mit Gabe von 1 μM OM nicht gegenüber ihrer jeweiligen *Baseline*phase oder voneinander.

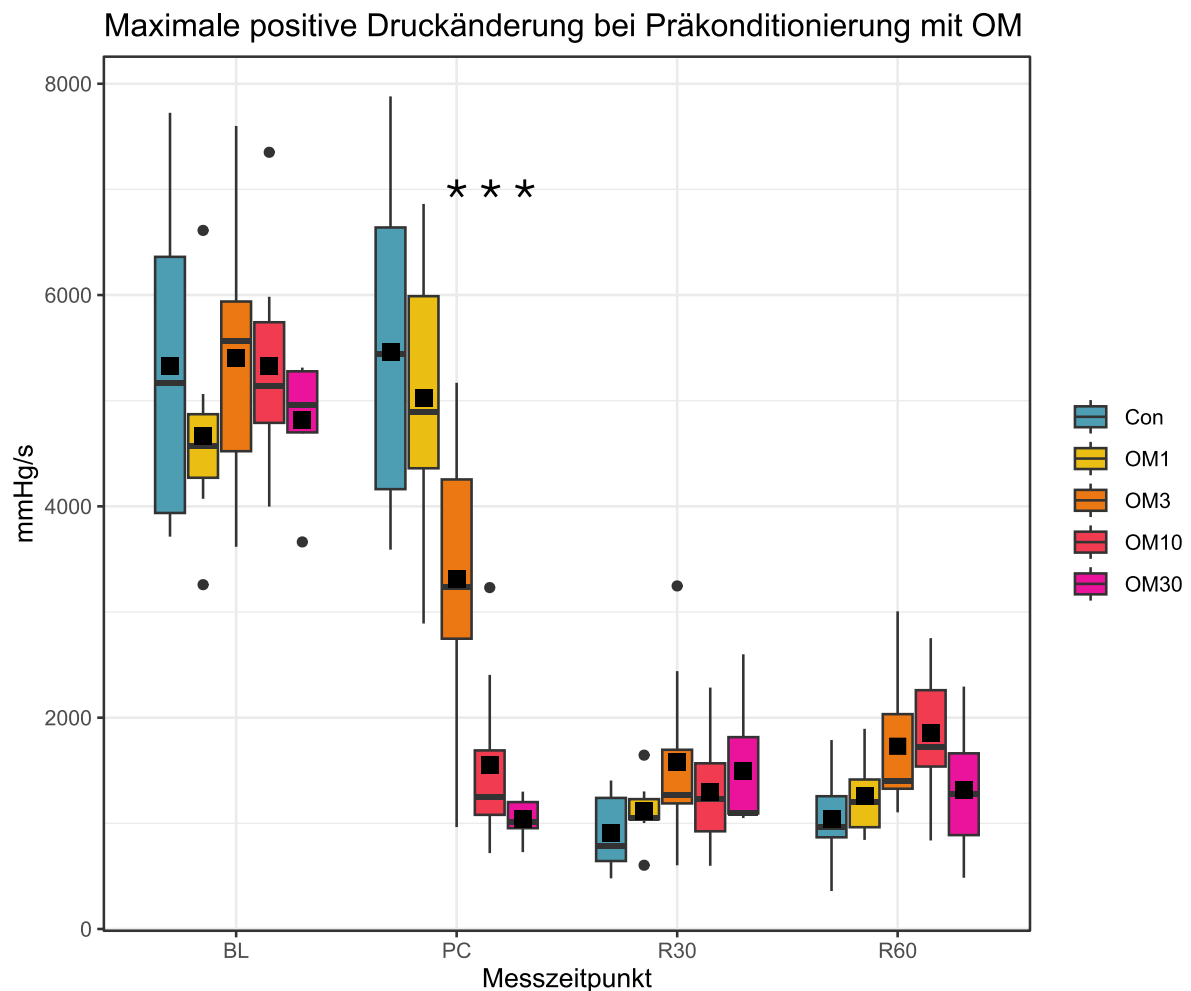


Abb. 14: **Positive Druckänderungsmaxima bei Präkonditionierung mit OM**

Dargestellt sind die Maxima der Ableitung des gemessenen linksventrikulären Drucks über der Zeit ($dP/dt_{\max}$) zu ausgewählten Messzeitpunkten während der Versuche sortiert nach den verschiedenen Versuchsgruppen. $n = 8$, für 30 μM OM $n = 6$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM1-30 = OM in den Konzentrationen 1-30 μM). BL = *Baseline*-Phase; PC = Präkonditionierungsphase; R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperfusionszeit.

Angaben in mmHg/s. * = $p < 0,05$ vs. BL; ■ = MW

In den Gruppen mit Gabe von 3, 10 und 30 μM OM war die maximale systolische Drucksteigerung pro Zeit während der Präkonditionierung deutlich geringer im

Vergleich zu ihrer jeweiligen *Baseline*phase (jeweils $p < 0,05$) sowie zur Kontrollgruppe zum gleichen Zeitpunkt (jeweils $p < 0,05$).

Während der Reperfusion unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant voneinander.

dP/dt _{max} in mmHg/s	Con	OM 1 µM	OM 3 µM	OM 10 µM	OM 30 µM
<i>Baseline</i>	5328 ± 1510	4662 ± 960	5407 ± 1280	5324 ± 1037	4815 ± 632
Präkonditionierung	5457 ± 1571	5030 ± 1249	3309 ± 1302	1554 ± 839	1041 ± 211
Reperfusion 15 min	712 ± 473	918 ± 253	1176 ± 329	1494 ± 785	1826 ± 815
Reperfusion 30 min	906 ± 360	1115 ± 295	1578 ± 847	1292 ± 561	1500 ± 664
Reperfusion 45 min	1365 ± 730	1157 ± 397	1768 ± 952	1739 ± 582	1299 ± 688
Reperfusion 60 min	1045 ± 429	1256 ± 391	1730 ± 652	1851 ± 624	1314 ± 654

Tabelle 10: **dP/dt_{max} bei Präkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg/s, als MW ± SD

3.1.7 Negative Druckänderungsmaxima ($dP/dt_{\min}$)

In der Präkonditionierungsphase war die Kontrollgruppe nicht verändert zur *Baseline*-Phase, die Gruppe mit Gabe von 1 μM OM war ebenfalls nicht signifikant verändert und unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

Die $dP/dt_{\min}$ war bei den Gruppen mit Gabe von 3, 10 und 30 μM OM während der Präkonditionierung signifikant niedriger im Vergleich zu ihrer *Baseline*phase (jeweils $p < 0,05$), zur Kontrollgruppe (jeweils $p < 0,05$) sowie zur Gruppe mit Gabe von 1 μM OM (jeweils $p < 0,05$). Die Gruppen mit Gabe von 3, 10 und 30 μM OM unterschieden sich untereinander nicht signifikant.

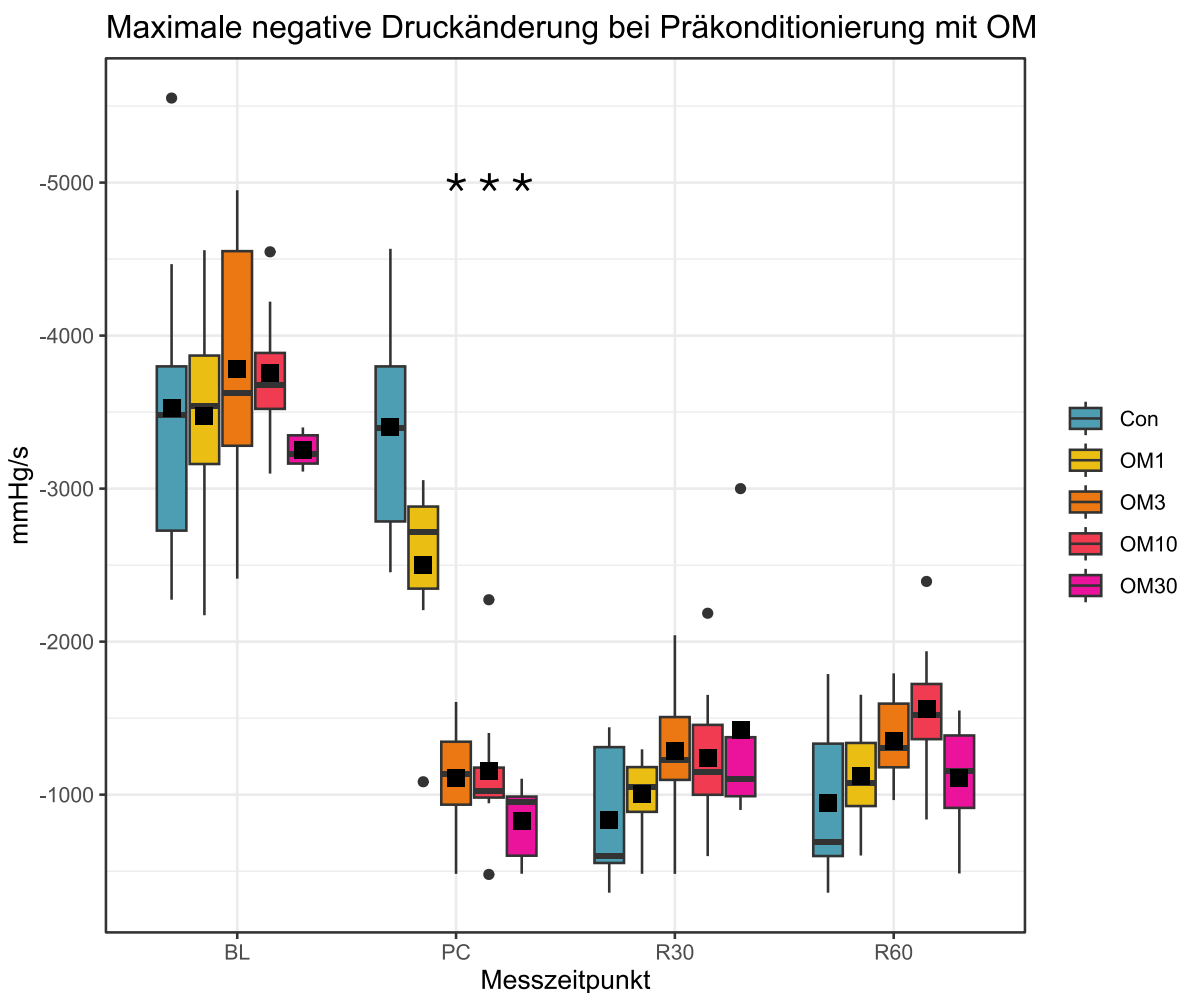


Abb. 15: Negative Druckänderungsmaxima bei Präkonditionierung mit OM

Dargestellt sind die Minima der Ableitung des gemessenen linksventrikulären Drucks über der Zeit ($dP/dt_{\min}$) zu ausgewählten Messzeitpunkten während der Versuche sortiert nach den verschiedenen Versuchsgruppen. $n = 8$, für 30 μM OM $n = 6$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM1-30 = OM in den Konzentrationen 1-30 μM). BL = *Baseline*-Phase; PC = Präkonditionierungsphase; R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperfusionszeit. Angaben in mmHg/s. * = $p < 0,05$ vs. Con; ■ = MW

Während der *Baseline*-Phase gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Während der Reperfusionphase unterschieden sich die Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikant.

dP/dt _{min} in mmHg/s	Con	OM 1 µM	OM 3 µM	OM 10 µM	OM 30 µM
<i>Baseline</i>	-3528 ± 1066	-3474 ± 714	-3779 ± 900	-3753 ± 450	-3249 ± 119
Präkonditionierung	-3405 ± 802	-2499 ± 639	-1107 ± 359	-1154 ± 518	-828 ± 273
Reperfusion 15 min	-786 ± 669	-869 ± 288	-960 ± 254,5	-1323 ± 475	-1211 ± 283
Reperfusion 30 min	-831 ± 446	-1004 ± 264	-1287 ± 460	-1242 ± 508	-1420 ± 797
Reperfusion 45 min	-1285 ± 811	-1033 ± 298	-1476 ± 573	-1423 ± 360	-1078 ± 465
Reperfusion 60 min	-944 ± 522	-1119 ± 338	-1354 ± 310	-1563 ± 462	-1106 ± 394

Tabelle 11: **dP/dt_{min} bei Präkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg/s, als MW ± SD

3.1.8 Koronarfluss

In der *Baseline*phase gab es zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied.

In der Präkonditionierungsphase sank der Koronarfluss in der Gruppe mit Gabe von 10 μM OM signifikant im Vergleich zu ihrer *Baseline*phase ($p < 0,05$) und war signifikant geringer als der Fluss in der Gruppe mit Gabe von 1 μM OM ($p < 0,05$).

Die restlichen Gruppen unterschieden sich zu ihrer *Baseline*phase und den anderen Gruppen während der Präkonditionierungsphase nicht signifikant.

Die Koronarflüsse aller Gruppen waren zu beiden Zeitpunkten der Reperfusion signifikant niedriger als während der *Baseline*phase (jeweils $p < 0,05$).

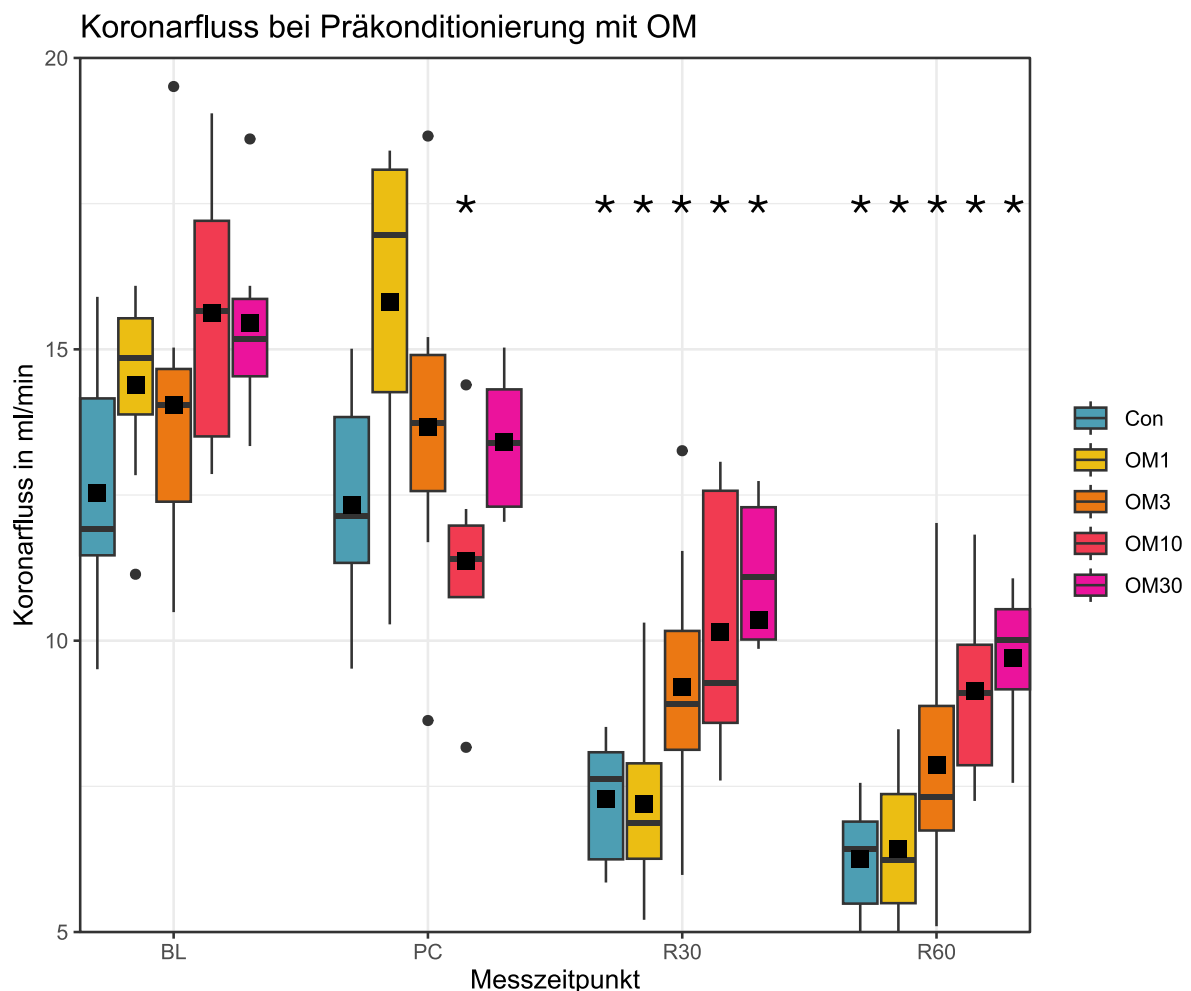


Abb. 16: Koronarfluss bei Präkonditionierung mit OM

Dargestellt sind die Koronarflüsse in ml/min zu ausgewählten Messzeitpunkten während der Versuche sortiert nach den verschiedenen Versuchsgruppen. $n = 8$, für 30 μM OM $n = 6$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM1-30 = OM in den Konzentrationen 1-30 μM). BL = *Baseline*-Phase; PC = Präkonditionierungsphase; R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperfusionszeit. * = $p < 0,05$ vs. BL; ■ = MW

In den Gruppen mit Gabe von 10 und 30 μM OM waren die Flüsse in der Reperfusion gegenüber der Präkonditionierungsphase nicht signifikant verändert.

In den restlichen Gruppen verringerten sich die Koronarflüsse im Vergleich zur Präkonditionierungsphase in der Reperfusion signifikant (jeweils $p < 0,05$).

Die Gruppen untereinander unterschieden sich in der Reperfusion zu keinem Zeitpunkt signifikant voneinander.

Koronarfluss in ml/min	Con	OM 1 μM	OM 3 μM	OM 10 μM	OM 30 μM
<i>Baseline</i>	12,5 $\pm$ 2,1	14,4 $\pm$ 1,7	14,1 $\pm$ 2,7	15,6 $\pm$ 2,3	15,5 $\pm$ 1,8
Präkonditionierung	12,3 $\pm$ 2,1	15,8 $\pm$ 2,9	13,7 $\pm$ 2,9	11,4 $\pm$ 1,7	13,4 $\pm$ 1,2
Reperfusion 15 min	8,1 $\pm$ 1,2	8,1 $\pm$ 1,6	10,2 $\pm$ 2,8	11,6 $\pm$ 2,0	13,2 $\pm$ 1,7
Reperfusion 30 min	7,3 $\pm$ 1,1	7,2 $\pm$ 1,7	9,2 $\pm$ 2,4	10,2 $\pm$ 2,2	10,4 $\pm$ 2,9
Reperfusion 45 min	6,5 $\pm$ 1,1	7,0 $\pm$ 1,4	8,4 $\pm$ 2,0	9,8 $\pm$ 1,6	10,4 $\pm$ 1,0
Reperfusion 60 min	6,2 $\pm$ 1,1	6,4 $\pm$ 1,4	7,9 $\pm$ 2,2	9,1 $\pm$ 1,6	9,7 $\pm$ 1,3

Tabelle 12: **Koronarfluss bei Präkonditionierung mit OM**

Angaben in ml/min, als MW $\pm$ SD

3.1.9 Tiercharakteristika

Das Gewicht der Versuchstiere sowie der Herzen unterschied sich zwischen den Gruppen nicht signifikant (jeweils $p < 0,05$).

	n	Körpergewicht (g)	Herztrockengewicht (g)	Herznassgewicht (g)
Con	8	280 $\pm$ 23	0.11 $\pm$ 0.01	1.25 $\pm$ 0.12
OM 1 μM	8	273 $\pm$ 33	0.11 $\pm$ 0.01	1.22 $\pm$ 0.13
OM 3 μM	8	302 $\pm$ 31	0.12 $\pm$ 0.01	1.33 $\pm$ 0.18
OM 10 μM	8	302 $\pm$ 34	0.11 $\pm$ 0.02	1.32 $\pm$ 0.11
OM 30 μM	6	317 $\pm$ 34	0.13 $\pm$ 0.01	1.34 $\pm$ 0.13

Tabelle 13: **Tiercharakteristika der Versuchsgruppen zur Präkonditionierung**

Angaben in Gramm, als MW $\pm$ SD

3.2 Postkonditionierung mit OM

3.2.1 Infarktgrößen

Die Infarktgrößen unterschieden sich bei einer Gabe von OM nach der Ischämie zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe mit Gabe von 10 μM OM signifikant. Bei einer Konzentration von 3 μM OM zeigte sich kein Unterschied zur Kontrollgruppe. Die Infarktgrößen betrugen in der Kontrollgruppe durchschnittlich $59 \pm 12\%$, bei 3 μM OM $58 \pm 15\%$ ($p = 0.97$ vs. Con) sowie bei 10 μM OM $31 \pm 6\%$ ($p < 0,05$ vs. Con, Reduktion der Infarktgrößen um $27 \pm 14\%$ der AAR und ebenfalls $p < 0,05$ vs. 3 μM OM).

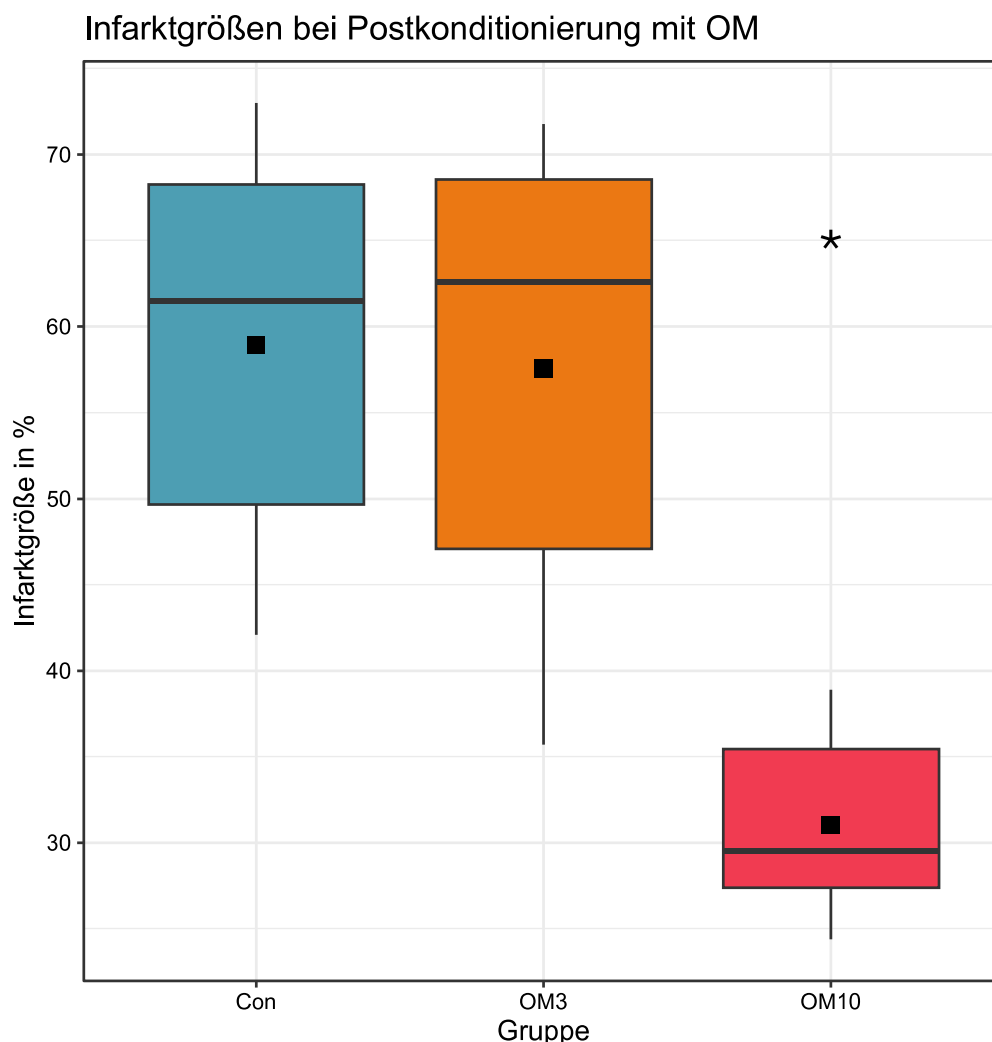


Abb. 17: Infarktgrößen in % der AAR bei Postkonditionierung mit OM

Dargestellt sind die Infarktgrößen in % der AAR in Abhängigkeit von der Gruppe. $n = 8$; Con = Kontrollgruppe, OM3 und OM10 = OM in den Konzentrationen 3 und 10 μM ; * = $p < 0,05$ vs. Con; ■ = MW

3.2.2 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck

Die über den Ballon aufgenommenen diastolischen Minimaldrücke stiegen innerhalb jeder Gruppe während der Ischämie sowie zu Beginn der Postkonditionierungsphase signifikant im Vergleich zu den vorherigen Messzeitpunkten an (p jeweils $< 0,05$).

Die verschiedenen Gruppen unterschieden sich zu gleichen Messzeitpunkten nicht signifikant voneinander.

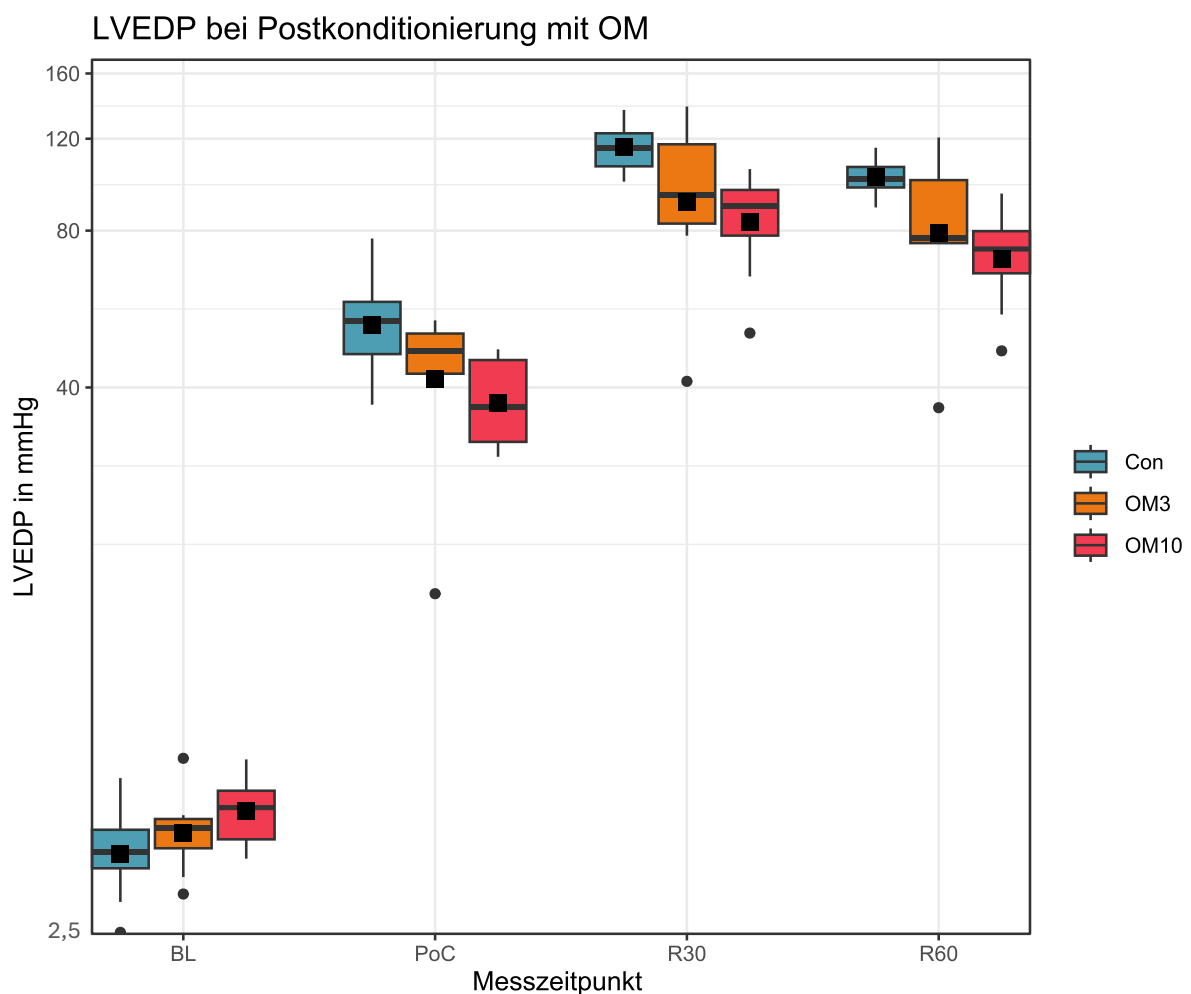


Abb. 18: LVEDP bei Postkonditionierung mit Omecamtiv mecarbil

Dargestellt sind die über den linksventrikulären Ballon gemessenen Drücke im linken Ventrikel am Ende der Diastole nach Messzeitpunkt in mmHg. $n = 8$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM3+10 = 3 und 10 μM OM). Logarithmische Darstellung zur besseren Sichtbarkeit der Gruppen in der *Baseline*. BL = *Baseline*-Phase, PoC = Postkonditionierungsphase, R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperfusionszeit. ■ = MW

LVEDP in mmHg	Con	OM 3 μ M	OM 10 μ M
<i>Baseline</i>	4,0 $\pm$ 0,6	5,3 $\pm$ 1,5	4,7 $\pm$ 1,4
Ischämie 32. Min.	46,8 $\pm$ 9,5	44, 2 $\pm$ 12,5	43,0 $\pm$ 14,0
Postkonditionierung	123,0 $\pm$ 34,5	125,9 $\pm$ 28,2	130,4 $\pm$ 15,3
Reperfusion 15. Min.	106,0 $\pm$ 28,4	92, 3 $\pm$ 32,2	102,9 $\pm$ 25,5
Reperfusion 30. Min.	89,9 $\pm$ 22,5	81,0 $\pm$ 27,4	91,5 $\pm$ 17,8
Reperfusion 45. Min.	82,3 $\pm$ 19,3	77,8 $\pm$ 22,7	85,5 $\pm$ 17,3
Reperfusion 60. Min.	81,0 $\pm$ 18,8	75,0 $\pm$ 22	82,8 $\pm$ 14,0

Tabelle 14: **LVEDP bei Postkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg, als MW $\pm$ SD

3.2.3 Linksventrikuläre Druckamplitude

Die Gruppen waren zu keinem Messzeitpunkt signifikant verschieden in ihrer entwickelten Druckamplitude.

Zum Zeitpunkt der Postkonditionierung waren die Druckamplituden in allen Gruppen niedriger als während der *Baseline*phase (jeweils $p < 0,05$).

Eine signifikante Änderung zur Postkonditionierungsphase ergab sich im weiteren Versuchsablauf nicht mehr.

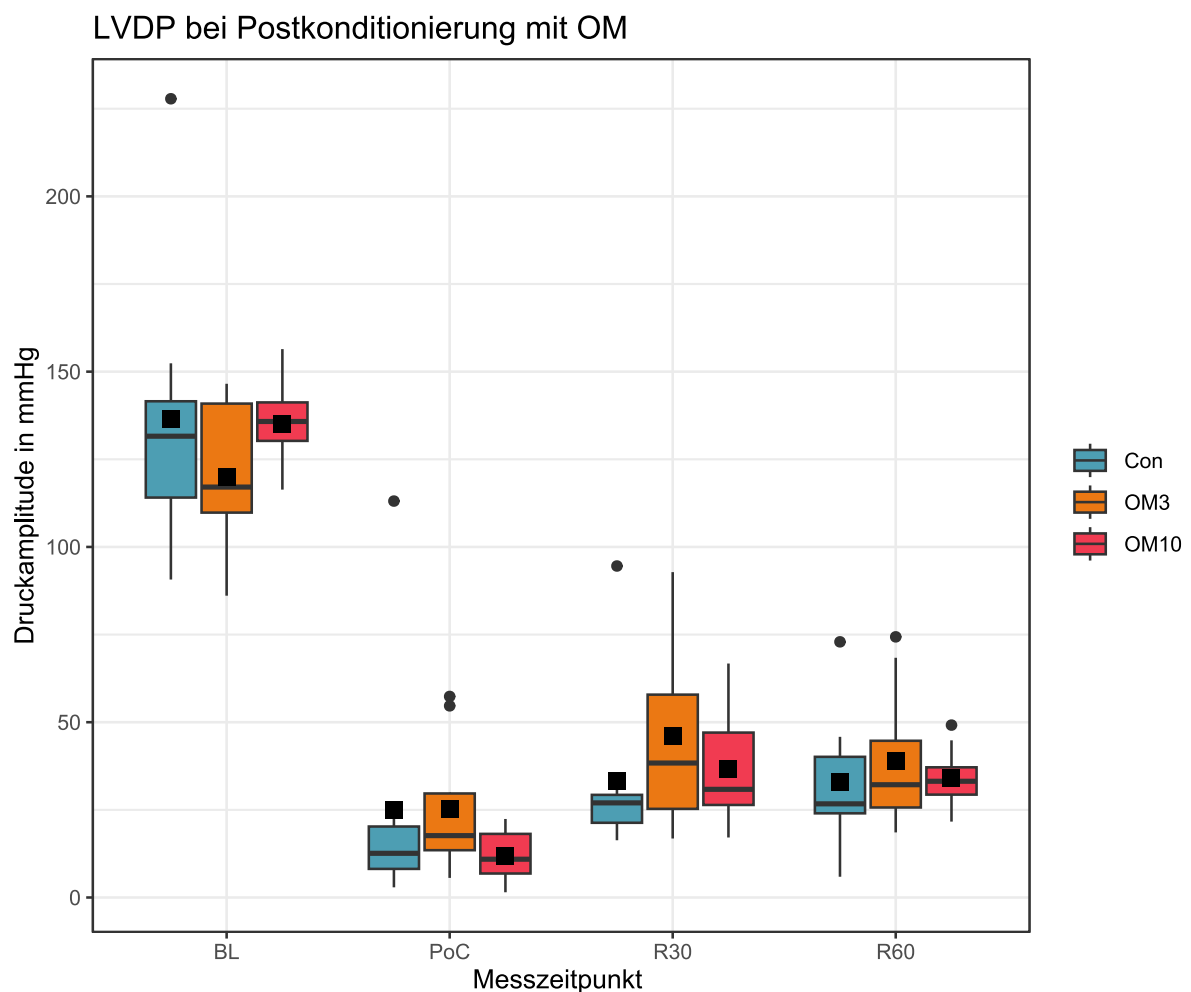


Abb. 19: LVDP bei Postkonditionierung mit OM

Dargestellt werden die gemessenen Druckamplituden zwischen endsystolischem Druck und enddiastolischem Druck nach Messzeitpunkt in mmHg. $n = 8$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM3+10 = 3 und 10 μM OM). BL = *Baseline*-Phase; PoC = Postkonditionierungsphase; R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperfusionszeit. ■ = MW

Amplitude in mmHg	Con	OM 3 μ M	OM 10 μ M
<i>Baseline</i>	136,5 $\pm$ 41,9	120 $\pm$ 21,9	135,2 $\pm$ 12,6
Postkonditionierung	24,9 $\pm$ 36,4	25,1 $\pm$ 19,6	11,8 $\pm$ 7,8
Reperfusion 15 min	27,9 $\pm$ 34,7	46,2 $\pm$ 31,4	37,5 $\pm$ 27,6
Reperfusion 30 min	33,3 $\pm$ 25,5	46,0 $\pm$ 29,4	36,7 $\pm$ 17,2
Reperfusion 45 min	37,2 $\pm$ 19,1	39,1 $\pm$ 26,7	38,5 $\pm$ 16,1
Reperfusion 60 min	32,8 $\pm$ 20	39,0 $\pm$ 20,9	34,2 $\pm$ 9,0

Tabelle 15: **LVDP bei Postkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg, als MW $\pm$ SD

3.2.4 Linksventrikulärer endsystolischer Druck

Der linksventrikuläre endsystolische Druck unterschied sich zwischen den Gruppen zu keinem der Messzeitpunkte signifikant zwischen den verschiedenen Gruppen.

In der Reperfusion ließ sich eine Tendenz der Abnahme des systolischen Drucks mit voranschreitender Versuchszeit in allen Gruppen beobachten. Nach 60 Minuten Reperfusion war dies in allen Gruppen signifikant gegenüber der Postkonditionierungsphase (jeweils $p < 0,05$).

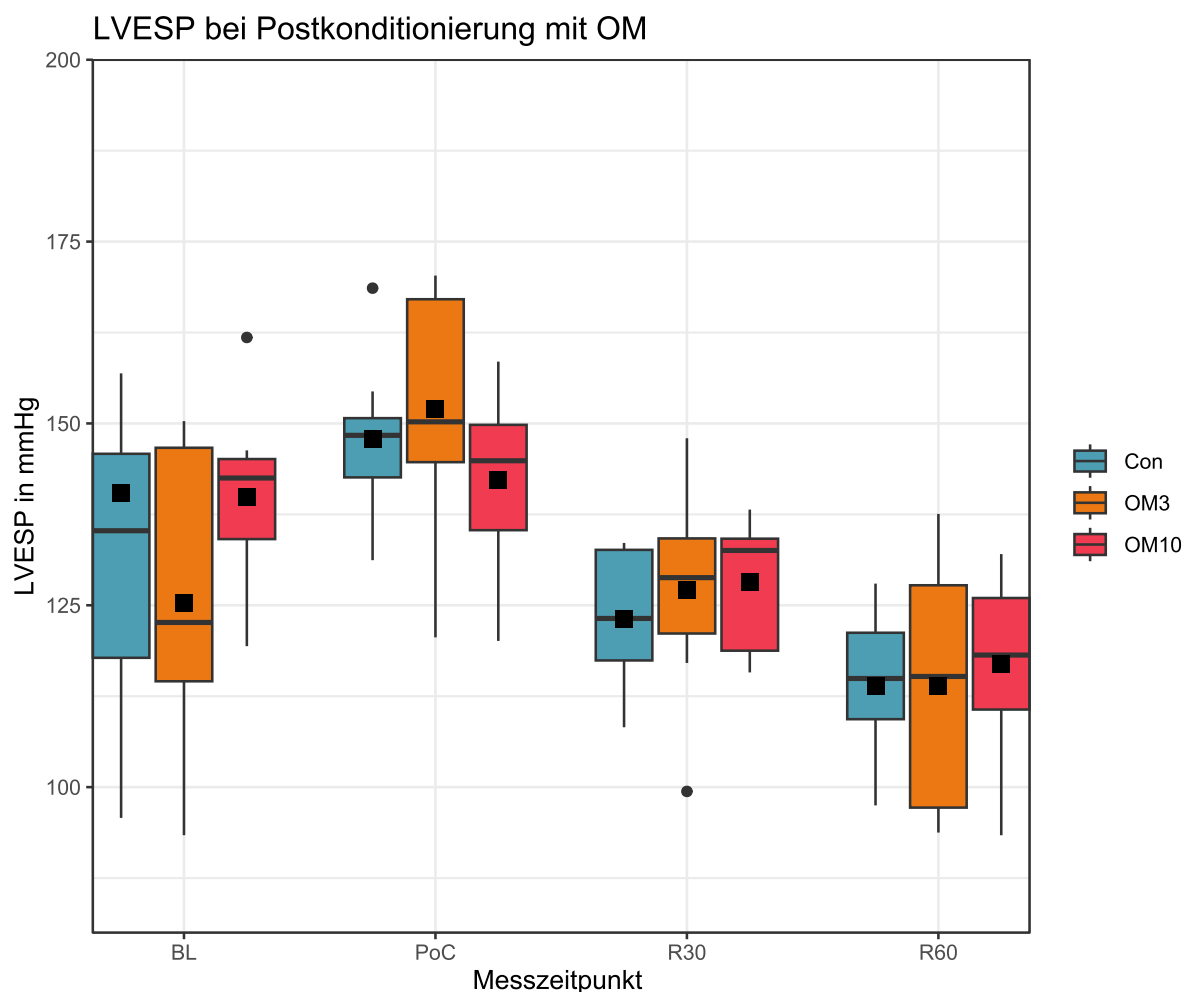


Abb. 20: LVESP bei Postkonditionierung mit Omecamtiv mecarbil

Dargestellt sind die über den linksventrikulären Ballon gemessenen Drücke im linken Ventrikel am Ende der Systole nach Messzeitpunkt in mmHg. $n = 8$; Gruppen sind farblich markiert (siehe Legende rechts, Con = Kontrollgruppe, OM3+10 = 3 und 10 μM OM). BL = *Baseline*-Phase; PoC = Postkonditionierung; R30 und R60 = Messung in Minute 30 und 60 der Reperfusionszeit. ■ = MW

LVESP in mmHg	Con	OM 3 μ M	OM 10 μ M
<i>Baseline</i>	140,5 $\pm$ 41,5	125,3 $\pm$ 21,6	139,9 $\pm$ 13,2
Postkonditionierung	147,9 $\pm$ 11,0	152,0 $\pm$ 12,6	142,2 $\pm$ 12,1
Reperfusion 15 min	134,0 $\pm$ 13,2	138,4 $\pm$ 12,0	140,4 $\pm$ 13,7
Reperfusion 30 min	123,2 $\pm$ 9,8	127,0 $\pm$ 14,7	128,2 $\pm$ 9,0
Reperfusion 45 min	119,5 $\pm$ 9,0	116,9 $\pm$ 18,0	124,0 $\pm$ 7,4
Reperfusion 60 min	113,9 $\pm$ 10,6	113,9 $\pm$ 17,5	117 $\pm$ 12,4

Tabelle 16: **LVESP bei Postkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg, als MW $\pm$ SD

3.2.5 Herzfrequenz

Bei Postkonditionierung mit OM in den Konzentrationen von 3 μ M und 10 μ M ergab sich zu keinem Zeitpunkt der Versuche ein statistisch signifikanter Unterschied in der Herzfrequenz zwischen den verschiedenen Gruppen oder innerhalb einer Gruppe zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten.

Herzfrequenz in <i>bpm</i>	Con	OM 3 μ M	OM 10 μ M
<i>Baseline</i>	140,5 $\pm$ 41,5	125,3 $\pm$ 21,6	139,9 $\pm$ 13,2
Postkonditionierung	147,9 $\pm$ 11,0	152,0 $\pm$ 12,6	142,2 $\pm$ 12,1
Reperfusion 15 min	134,0 $\pm$ 13,2	138,4 $\pm$ 12,0	140,4 $\pm$ 13,7
Reperfusion 30 min	123,2 $\pm$ 9,8	127,0 $\pm$ 14,7	128,2 $\pm$ 9,0
Reperfusion 45 min	119,5 $\pm$ 9,0	116,9 $\pm$ 18,0	124,0 $\pm$ 7,4
Reperfusion 60 min	113,9 $\pm$ 10,6	113,9 $\pm$ 17,5	117 $\pm$ 12,4

Tabelle 17: **Herzfrequenz bei Postkonditionierung mit OM**

Angaben in bpm, als MW $\pm$ SD

3.2.6 Positive Druckänderungsmaxima (dP/dt_{max})

Die Gruppen unterschieden sich während der *Baseline*phase nicht signifikant voneinander.

Während der Postkonditionierung sowie im weiteren Verlauf der Reperusionsphase waren die positiven Druckänderungsmaxima signifikant niedriger im Vergleich zur *Baseline*phase ($p < 0,05$).

Im weiteren Verlauf der Reperfusionsphase ergaben sich keine signifikanten Veränderungen zwischen den Messzeitpunkten einer Gruppe.

Während der Reperfusionsphase gab es ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen.

dP/dt _{max} in mmHg/s	Con	OM 3 µM	OM 10 µM
<i>Baseline</i>	5912 ± 2688	4309 ± 978	4874 ± 609
Postkonditionierung	1533 ± 1179	1056 ± 464	825 ± 266
Reperfusion 15 min	1360 ± 1225	1817 ± 1024	1729 ± 955
Reperfusion 30 min	1489 ± 1048	1831 ± 1077	1315 ± 311
Reperfusion 45 min	1624 ± 916	1694 ± 1027	1469 ± 406
Reperfusion 60 min	1817 ± 1414	1682 ± 885	1420 ± 413

Tabelle 18: **dP/dt_{max} bei Postkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg/s, als MW ± SD

3.2.7 Negative Druckänderungsmaxima (dP/dt_{min})

Die dP/dt_{min} unterschieden sich zu keinem Messzeitpunkt signifikant voneinander.

Alle Gruppen hatten zum Beginn der Reperfusionszeit in der Postkonditionierungsphase eine im Vergleich zur *Baseline*phase verringerte maximale negative Druckänderungsgeschwindigkeit (jeweils p < 0,05).

Im weiteren Verlauf der Reperfusionszeit ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten oder zwischen den Gruppen.

dP/dt _{min} in mmHg/s	Con	OM 3 µM	OM 10 µM
<i>Baseline</i>	-3551 ± 749	-3044 ± 607	-3364 ± 361
Postkonditionierung	-1251 ± 741	-830,4 ± 241	-754 ± 256
Reperfusion 15 min	-1152 ± 806	-1162 ± 302	-963 ± 173
Reperfusion 30 min	-1196 ± 618	-1426 ± 618	-1080 ± 186
Reperfusion 45 min	-1339 ± 681	-1305 ± 578	-1140 ± 240
Reperfusion 60 min	-1683 ± 1668	-1234 ± 436	-1141 ± 316

Tabelle 19: **dP/dt_{min} bei Postkonditionierung mit OM**

Angaben in mmHg/s, als MW ± SD

3.2.8 Koronarfluss

Der Koronarfluss zeigte sich zu den späteren Messzeitpunkten im Vergleich zur Messung in der *Baseline*phase in allen Versuchsgruppen signifikant vermindert (jeweils $p < 0,05$). Ein Unterschied zwischen den Gruppen jeweils zum gleichen Zeitpunkt war dabei nicht vorhanden.

Koronarfluss in ml/min	Con	OM 3 μ M	OM 10 μ M
<i>Baseline</i>	15,8 $\pm$ 2,1	16,2 $\pm$ 2,1	17,5 $\pm$ 1,5
Postkonditionierung	11,7 $\pm$ 3,5	11,3 $\pm$ 4,2	12,9 $\pm$ 3,1
Reperfusion 15 min	10,9 $\pm$ 2,7	11,9 $\pm$ 4,2	12,0 $\pm$ 2,5
Reperfusion 30 min	9,3 $\pm$ 2,2	10,6 $\pm$ 4,1	10,7 $\pm$ 2,1
Reperfusion 45 min	8,7 $\pm$ 2,0	10,2 $\pm$ 3,8	9,3 $\pm$ 2,1
Reperfusion 60 min	8,2 $\pm$ 2,1	9,1 $\pm$ 4,0	8,6 $\pm$ 1,9

Tabelle 20: **Koronarfluss bei Postkonditionierung mit OM**

Angaben in ml/min, als MW $\pm$ SD

3.2.9 Tiercharakteristika

Die Tiercharakteristika unterschieden sich zwischen den Gruppen in der Postkonditionierung ebenfalls nicht signifikant (p jeweils $> 0,05$).

	Körpergewicht (g)	Herztrockengewicht (g)	Herznassgewicht (g)
Con	316 $\pm$ 17	0.14 $\pm$ 0.02	1.42 $\pm$ 0.12
OM 3	306 $\pm$ 20	0.14 $\pm$ 0.01	1.38 $\pm$ 0.15
OM 10	299 $\pm$ 24	0.13 $\pm$ 0.01	1.29 $\pm$ 0.13

Tabelle 21: **Tiercharakteristika der Versuchsgruppen zur Postkonditionierung**

Angaben in Gramm, als MW $\pm$ SD

4 Diskussion

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der Untersuchung, mögliche Erklärungen dieser sowie daraus abzuleitende Schlussfolgerungen dargestellt. Es erfolgt eine Darstellung und Diskussion möglicher Ursachen der Ergebnisse auf der Grundlage der aktuell bestehenden Literatur. Die mögliche klinische Bedeutung der Ergebnisse wird diskutiert. Ebenfalls wird auf Limitationen der Arbeit und ihrer Methodik sowie auf in der Zukunft zu untersuchende Fragen eingegangen.

4.1 Kardioprotektive Potenz von OM

Omecamtiv mecarbil zeigte sowohl einen kardioprotektiven Effekt gegenüber einem Ischämie- und Reperfusionsschaden bei Gabe vor als auch nach einer Ischämie am isolierten Rattenherz.

Die klinisch übliche Konzentration von OM im Bereich von $1\ \mu\text{M}^{84}$ sowie die Konzentration von $3\ \mu\text{M}$ OM hatten dabei keinen Einfluss auf den I/R-Schaden. Ab einer Konzentration von $10\ \mu\text{M}$ OM zeigte sich die kardioprotektive Wirkung durch eine signifikante Abnahme der Infarktgrößen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Diese war bei weiterer Steigerung der Konzentration auf $30\ \mu\text{M}$ OM nicht verändert.

Somit entstand am isolierten Rattenherz in den Daten dieser Arbeit kein Hinweis darauf, dass OM in klinisch üblichen (unter und um $1\ \mu\text{M}$ OM) und verträglichen (unter $3\ \mu\text{M}$ OM) Konzentrationen einen Effekt auf einen I/R-Schaden hat. Gleichzeitig wurde erstmals ein kardioprotektiver Effekt supratherapeutischer Konzentrationen von OM experimentell nachgewiesen.

4.2 Linksventrikuläre Druckmessungen

In klinisch angewandten Blutkonzentrationen von bis zu $1\ \mu\text{M}$ OM zeigte sich am isoliert perfundierten Rattenherz keine signifikante Veränderung des LVEDP. Auch in der entwickelten Druckamplitude ergab sich bei $1\ \mu\text{M}$ OM kein Unterschied zur Kontrollgruppe.

Der gemessene LVEDP nahm unter Gabe von 3, 10 und 30 μM OM während der Präkonditionierung signifikant zu. Bei den gleichen Konzentrationen nahm die entwickelte Druckamplitude signifikant ab. Der LVESP sank lediglich bei 10 und 30 μM OM signifikant ab.

Der signifikant erhöhte LVEDP ab 3 μM OM könnte an einer verringerten diastolischen Relaxierung mit konsekutiver Abnahme des diastolischen Durchmessers des linken Ventrikels liegen, wie er sich in einer *in vivo* Studie an Ratten unter Gabe von OM zeigte.⁸⁶ An isolierten Hundekardiomyozyten zeigten sich konzentrationsabhängig verringerte diastolische Sarkomerlängen bereits ab 0,3 μM OM, die bei 1 und 3 μM OM deutlich mehr abnahmen.¹⁰⁹ Der durchschnittliche LVEDP stieg in der vorliegenden Untersuchung am ganzen Rattenherz erst ab 3 μM OM signifikant an, was sich eventuell durch die niedrige Teststärke der geringen Gruppengröße von jeweils 8 Herzen erklären lässt, wodurch Veränderungen der hämodynamischen Variablen erst ab einem größeren durchschnittlichen Unterschied signifikant werden.

In der genannten *in vivo* Studie an Ratten zeigte sich der LVEDP nach Gabe von OM auch dosisabhängig erhöht. Die EF nahm dabei dosisabhängig zu. Das endsystolische Volumen nahm dosisabhängig ab, während das enddiastolische Volumen bei Dosierungen von 200 $\mu\text{g/kg}$ leicht abnahm und dann mit steigender Dosis zunahm. Insgesamt zeigte sich eine diastolische Dysfunktion. Bei einer Dosis von 1200 $\mu\text{g/kg}$ OM zeigte sich eine systolische wie diastolische Hypotonie.⁸⁶ Bei Menschen ergab die Infusion von 1000 μg OM pro Kilogramm Körpergewicht als Bolus mit anschließender niedrigdosierter Erhaltungsinfusion nach einer Stunde eine Blutkonzentration von etwa 1 bis 2,25 μM .⁸⁵

Der LVEDP nahm in der *in vivo* Studie an Ratten unter Gabe von 1200 $\mu\text{g/kg}$ OM im Durchschnitt von 8,6 auf 24,2 mmHg zu, was sich zwischen den LVEDPs von durchschnittlich 13,8 mmHg bei 1 μM OM und 67,8 mmHg bei 3 μM OM in den vorliegenden Daten befindet und somit mit den im Menschen entstehenden Blutkonzentrationen vereinbar ist. Messungen der Blutkonzentration von OM zum genaueren Vergleich liegen aus der *in vivo Studie* allerdings nicht vor.⁸⁶ Auch der in den vorliegenden Daten bei 10 und 30 μM OM gesunkene LVESP ist mit der dort aufgetretenen systolischen Hypotonie vereinbar.

Diese Veränderungen der linksventrikulären Drücke könnten durch eine Verlängerung der Systole und Verkürzung der Diastole mit nicht vollständiger Relaxation des

Herzmuskels in der Diastole zustande kommen bzw. damit einhergehen. Dafür sprechen die bei 3, 10 und 30 μM OM signifikant reduzierten systolischen und diastolischen Druckveränderungsmaxima, die auf eine verlangsamte systolische Kontraktion sowie verlangsamte diastolische Relaxation schließen lassen könnten. Dafür sprechen ebenfalls die in klinischen Studien beobachteten Veränderungen der Dauer von Systole und Diastole.⁸³ Ebenfalls passen die gemessenen Veränderungen von dP/dt_{max} und dP/dt_{min} zu der an isolierten Hundekardiomyozyten gemessenen längeren Zeitdauer der Verkürzung und Verlängerung der Sarkomere.¹⁰⁹ *In vivo* zeigte sich an Ratten ebenfalls eine Abnahme von dP/dt_{min} im linken Ventrikel.⁸⁶

Aufgrund der in verschiedenen Untersuchungen zu beobachtenden Verkürzung der Dauer der Diastole mit Zunahme der Konzentration von OM könnte eine diastolische Dysfunktion mit verringertem Auswurf sowie eine verkürzte diastolische Koronarperfusionsdauer als Ursache der in klinischen Studien vereinzelt aufgetretenen Ischämiesymptome⁸⁵ bei Blutkonzentrationen ab 3 μM OM in Frage kommen. Auch die vorliegenden Daten lassen auf eine verkürzte Diastole ab 3 μM OM schließen.

Insgesamt sind die hier entstandenen Daten somit mit anderen experimentellen Untersuchungen der Wirkung von OM auf hämodynamische Variablen zu vereinbaren.

4.3 Koronarfluss

OM hat in klinisch angewendeten Konzentrationen keinen Einfluss auf den Koronarfluss im isoliert kristalloidperfundierten Rattenherz. Bei Anwendung von 10 μM OM vor der Ischämie ergab sich ein signifikant verringerter Koronarfluss während der Präkonditionierungsphase im Vergleich zur gruppeneigenen *Baseline*phase, nicht jedoch zur Kontrollgruppe.

Die Gabe von OM nach der Ischämie zeigte in allen Konzentrationen keinen Einfluss auf den Koronarfluss.

Welcher Mechanismus den Koronarfluss einzig in der Gruppe mit 10 μM OM verringert haben könnte, ist unklar.

4.4 Mögliche Mechanismen der Kardioprotektion durch OM

Mögliche Mechanismen der Verringerung des I/R-Schadens am isolierten Rattenherz durch OM werden im folgenden Abschnitt diskutiert.

4.4.1 Ischämische Konditionierung

Klinisch sind ab Konzentrationen von 3 bis 4 μM OM am Menschen vereinzelt mit einer Ischämie zu vereinbarende Symptome aufgetreten.⁸⁵ Dabei könnte neben einer verringerten diastolischen Füllung durch eine verkürzte Diastole auch eine Erhöhung des enddiastolischen Drucks mit konsekutiv gesteigertem subendokardialen Druck ursächlich sein.

Durch den erhöhten LVEDP am volumenkonstanten Ballon bei einer Gabe von 3 bis 30 μM OM vor der Ischämie könnte in dem hier verwendeten experimentellen Modell theoretisch eine relative subendokardiale Ischämie durch verringerte Perfusion mit folgender ischämischer Präkonditionierung dieser Bereiche ausgelöst worden sein.

Bei einer Gabe von 3 μM OM trat anders als bei 10 und 30 μM OM keine Veränderung der Infarktgrößen im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Der LVEDP stieg bei einer Gabe von 3 μM OM vor der Ischämie in ähnlichem Maße an wie bei Gabe von 10 und 30 μM OM, die Gruppen unterschieden sich nicht signifikant. Dies spricht gegen einen Zusammenhang von LVEDP und Infarktgröße und somit gegen eine ischämische Konditionierung.

Auch ergaben sich bei der Gabe von OM zur Postkonditionierung bei keiner Konzentration signifikante Unterschiede in den hämodynamischen Variablen, dennoch war der Effekt auf die Infarktgrößen vergleichbar mit dem Effekt bei der Gabe zur Präkonditionierung.

Die Größe einer Ischämie korreliert in Studien mit der Verringerung des Koronarflusses.¹¹⁰ Ein verringerter Koronarfluss während der Präkonditionierung mit OM könnte somit auf eine ischämische Präkonditionierung hinweisen.

Der isoliert bei einer Gabe von 10 μM OM im Vergleich zur Eingewöhnungsphase, nicht zur Kontrollgruppe, verringerte Koronarfluss passt allerdings nicht zu einer ischämischen Konditionierung. Bei der gleich protektiven Konzentration von 30 μM OM zeigte sich keine Änderung des Koronarflusses. Auch bei einer Konzentration von 3

μM OM vor der Ischämie zeigte sich ein Anstieg des LVEDP ohne einen Einfluss auf den Koronarfluss oder die Ischämiegröße. Der Koronarfluss, die Ischämiegröße und der LVEDP wirken entsprechend nicht assoziiert. Zusätzlich zeigte sich der Koronarfluss bei Gabe von OM nach der Ischämie trotz Effekt auf den I/R-Schaden unverändert.

Somit ist auch aufgrund der Ergebnisse zum Koronarfluss nicht von einer ischämischen Konditionierung als Erklärung des verringerten Einflusses von OM auf den I/R-Schaden auszugehen.

Dass die protektive Wirkung durch OM durch hämodynamische Effekte und also möglicherweise als ischämische Konditionierung ausgelöst wird, erscheint daher insgesamt unwahrscheinlich für die Gabe vor der Ischämie sowie ausgeschlossen für die Gabe nach der Ischämie.

OM könnte daher auf einem anderen Weg, beispielsweise durch direkte Beeinflussung intrazellulärer Signalwege, den I/R-Schaden beeinflussen.

4.4.2 Calciumkonzentration und Interaktion mit Ryanodin-Rezeptoren

Eine kurzfristige Erhöhung der intrazellulären Calciummenge vor einer Ischämie bewirkt eine Präkonditionierung über eine Induktion der Proteinkinase C (PKC).^{111,112} Die Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration in kurzen Ischämiephasen scheint ein Mechanismus bei der IPC zu sein, der über die Induktion der PKC eine Kardioprotektion vermittelt.¹¹³

Eine Erhöhung der Calciumkonzentration während der Reperfusion ist allerdings ein zentraler Mechanismus des Reperfusionsschadens.^{42,114} Auch eine Gabe von OM zur Postkonditionierung zeigte in den Versuchen dieser Arbeit einen kardioprotektiven Effekt. Dies spricht dagegen, dass allein die Erhöhung der Calciumkonzentration die Konditionierung auslöst.

OM bewirkt am RyR-2 einen vermehrten Calciumausstrom aus dem SR durch eine Erhöhung der Offenwahrscheinlichkeit und der Öffnungsfrequenz bei Gabe von 1 bis 10 μM an isolierten Hundekardiomyozyten.¹¹⁵

Intrazelluläre Calciumströme waren unter Gabe von 1 bis 10 μM OM in einer anderen Studie an isolierten Hundekardiomyozyten unverändert¹¹⁶, in einer weiteren Studie an Hundekardiomyozyten zeigte sich bei einer Gabe von 0,03 bis 3 μM OM ebenfalls kein

signifikanter Unterschied in den systolischen und diastolischen Calciumkonzentrationen.¹⁰⁹

Die Calciumströme können die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Arrhythmien verändern.^{65,67} In einer Studie zeigte sich unter hohen Dosierungen von 1200 µg OM pro Kilogramm Körpergewicht *in vivo* an Ratten ein aus einer Extrasystole hervorgehender Pulsus alternans ähnlich einer Bigeminie, mit Veränderung des EKGs mit T-Wellen-Alternans.⁸⁶ Bei Menschen ergab die Infusion von 1000 µg OM pro Kilogramm Körpergewicht als Bolus mit anschließender niedrigdosierter Erhaltungsinfusion nach einer Stunde eine Blutkonzentration von etwa 1 bis 2,25 µM.⁸⁵

An isolierten Hundekardiomyozyten zeigte sich in der gleichen Studie unter 1 µM OM bei Stimulation mit 4-5 Hz ein alternierender Calciumstrom. Ein biphasisch alternierender Calciumstrom wurde in einer Studie an isolierten Rattenventrikelmiozyten allerdings durch eine Verringerung der Offenwahrscheinlichkeit des RyR-2 ausgelöst¹¹⁷, also entgegen der Wirkung von OM, welches die Offenwahrscheinlichkeit des RyR-2 erhöht.¹¹⁵

Der RyR-2 ist als essentieller Teil des myokardialen Calcium-Cyclings an kardioprotektiven Mechanismen⁹⁴, aber auch an Mechanismen, die einen I/R-Schaden aggravieren können¹¹⁸, beteiligt. Durch die Ischämie kann er ebenfalls eine Konformationsänderung durch mehrere Mechanismen wie Phosphorylierung¹¹⁹ und Oxidation^{120,121} durchlaufen. Falls OM am durch die Ischämie konformationsgeänderten RyR-2 während der Reperfusion eine Verringerung der Offenwahrscheinlichkeit auslösen kann, könnte sich so eine kardioprotektive Wirkung von OM ohne Veränderung der Calciumkonzentration unter physiologischen Bedingungen erklären lassen.

4.4.3 Wirkung von OM an Na⁺-Kanälen

OM bewirkt ebenfalls Veränderungen an den Natriumströmen von Kardiomyozyten. Eventuell lassen sich Veränderungen an Calciumströmen auch durch den Austausch mit Natrium erklären.

Ab 10 µM OM zeigte sich an Hunde-Kardiomyozyten eine Veränderung des Aktionspotential mit verringertem Plateau und verkürzter Dauer.¹²² In einer weiteren Studie zeigte sich an pituitären GH3-Zellen und Neuroblastomzellen unter Gabe von

OM eine Verstärkung der späten und frühen Komponenten des Natriumeinstroms ($I_{Na(L)}$ und $I_{Na(T)}$) mit einer mittleren effektiven Dosis von 2,3 und 15,8 μM OM.¹²³ Ob sich dies auf Kardiomyozyten übertragen lässt, ist unklar.

Zuvor wurde die Inhibition von Natriumkanälen als kardioprotektiv beschrieben. SGLT-2-Inhibitoren, die in der Herzinsuffizienztherapie neu eingesetzt werden und die sich ebenfalls als kardioprotektiv bei einem I/R-Schaden gezeigt haben, inhibieren den $I_{Na(L)}$ am ehesten durch Inhibition des Na^+/H^+ -Austauschers (NHE).¹²⁴ Die Inhibition des NHE ist ebenfalls Teil des Mechanismus der Reduktion von I/R-Schäden durch IPC.^{125,126}

Natrium hat direkt und indirekt durch den Natrium-Calcium-Austausch einen Einfluss auf die Reperfusionsschädigung. Eine Verringerung des intrazellulären Natriums ist dabei positiv, da durch verminderten Austausch mit Calcium die Calciumüberladung verringert wird.

OM könnte schlussfolgernd also durch eine Verstärkung des Natrium-Einstroms und damit der Natrium-Überladung eine Verstärkung des I/R-Schadens bewirken, welche sich nicht zeigt. Möglicherweise ist der Effekt von OM auf Natriumströme an Kardiomyozyten im Gegensatz zu neuronalen Zellen nicht relevant ausgeprägt. Denkbar wäre aber auch, dass ein anderer Mechanismus die Kardioprotektion auslöst und eine gegebenenfalls vorhandene, schädigende Wirkung eines erhöhten Natriumeinstroms ausgleicht.

4.4.4 Erhöhte ROS-Produktion durch OM

In einer Studie an Rattenkardiomyozyten zeigte sich eine erhöhte ROS-Produktion unter 10 μM OM.¹²⁷ Die Autoren führten dies darauf zurück, dass OM bei erhöhter Kraftproduktion auch eine erhöhte ATP-Produktion in den Mitochondrien benötigt, die immer geringe Mengen an ROS produziert. Da durch die erhöhten Mengen an ROS auch eine erhöhte Menge an Antioxidantien benötigt wird, müsste eine erhöhte mitochondriale Calciummenge die Produktion von Antioxidantien durch den Citratzyklus erhöhen. Dies ist der Fall bei Katecholaminen, die die Calciummenge intrazellulär und damit auch in den Mitochondrien steigern. Da OM aber keinen relevanten Einfluss auf die Calciumkonzentration hat, wird durch diese Myosinaktivierung die Inaktivierung von ROS nicht mit ihrer Produktion gemeinsam gesteigert, sodass ROS akkumulieren.⁵²

ROS sind auch Teil von kardioprotektiven Mechanismen in der ischämischen und pharmakologischen Prä- und Postkonditionierung beispielsweise durch Diazoxid sowie Narkosegase und Opioide.^{51,128,129}

Möglicherweise könnte OM somit durch eine geringe Erhöhung der ROS-Produktion vor oder nach der Ischämie eine Konditionierung auslösen. Die Rolle von ROS in der Entstehung von I/R-Schäden und der Kardioprotektion ist noch nicht vollständig erforscht. Es kann sein, dass nur bestimmte ROS protektive Signalwege aktivieren, häufig wird angenommen, dass dies nur kleine Konzentrationen von ROS tun.¹³⁰ Auch eine Applikation von OM erst während der Reperfusion löste in der vorliegenden Untersuchung eine Kardioprotektion aus. Zu diesem Zeitpunkt findet eine Produktion von ROS in einem größeren Ausmaß statt, was den I/R-Schaden mutmaßlich mit verursacht. Der mögliche Einfluss einer ROS-Produktion auf die Kardioprotektion durch OM ist somit unklar.

4.4.5 Stickstoffmonoxid-Synthese

Die NO-Produktion ist beim I/R-Schaden reduziert.⁴² NO-Applikation inhibiert die Produktion von ROS im Mitochondrium⁴¹ und wurde als kardioprotektiv beschrieben¹³¹. Eine einmalige Infusion von OM bewirkte in einer Studie an Ratten eine erhöhte Expression der induzierbaren NO-Synthase (iNOS, NOS-2)¹³², die unter normalen Bedingungen nicht exprimiert wird, aber unter Entzündungsbedingungen induziert wird und beispielsweise bei der Sepsis eine Rolle spielt. Die iNOS produziert größere Mengen an NO bei Induktion mit Zytokinen, beispielsweise TNF- α , welches beim I/R-Schaden ausgeschüttet wird.⁴¹ Ob eine Expression der iNOS durch OM in diesem Versuch ausgelöst und dadurch der I/R-Schaden durch Produktion von NO beeinflusst hätte werden können, ist nicht klar, da in der Studie erst nach 7 Tagen eine Messung der Expression vorgenommen wurde.¹³²

4.4.6 Anti-apoptotische Proteinexpression

In derselben Studie an Ratten zeigte sich nach einmaliger Infusion von OM die Expression der Apoptose-regulierenden Proteine Bax und Bcl-2 so verändert, dass das intrazelluläre Verhältnis der beiden Proteine zueinander weniger wahrscheinlich eine Apoptose auslöst. Dies könnte den I/R-Schaden verringern. Ob die Expression der Proteine auch unter den Bedingungen einer I/R wie in der vorliegenden Studie in

einem solchen Verhältnis verändert sein könnte, ist unklar. In der Studie wurde die Messung der Expression 7 Tage nach der Infusion vorgenommen.¹³²

4.4.7 Glutathionperoxidase

Ebenfalls wurde in derselben Studie¹³² eine verstärkte Expression der antioxidativ wirkenden Glutathionperoxidase bei Messung 7 Tage nach Infusion von OM festgestellt. Sie kann die Entwicklung eines Zelltods durch Nekroptose inhibieren.¹³³ Dies könnte einen verringernden Einfluss auf den I/R-Schaden haben. Auch dabei ist unklar, wie schnell nach der Gabe von OM eine relevante Veränderung in der Glutathionperoxidaseexpression stattfinden könnte, ob dies im kurzen Zeitraum des Versuchs einen Effekt haben könnte und ob diese Expression auch unter den intrazellulären Bedingungen eines I/R-Schadens gleichzeitig durch OM verändert wird.

4.4.8 Veränderter Energiebedarf

Frühere Studien nahmen an, OM würde den Sauerstoffbedarf trotz größerer Auswurfleistung nicht steigern.⁶⁹ Durch mehr aktive Myosinköpfchen während der verlängerten Systole könnte durch OM möglicherweise ein größerer ATP-Verbrauch der Myosin-ATPase erzeugt werden, wodurch dieses ATP durch oxidative Phosphorylierung bereitgestellt werden müsste.¹³⁴ Dabei verursachte OM in einer Studie sogar eine Abnahme der Sauerstoffeffizienz durch Erhöhung des Energieverbrauchs der Myosin-ATPase in Ruhe und einen erhöhten O₂-Verbrauch bei Kontraktion.¹³⁴

Während der Reperfusion könnte ein durch OM verursachter größerer ATP-Verbrauch eine verringerte Verfügbarkeit von ATP im Gewebe bedeuten. Der Effekt des intrazellulären ATP auf den Reperfusionsschaden ist komplex. Eine Inhibition der Natrium-Kalium-ATPase bedeutet eine verlangsamte Normalisierung des erhöhten intrazellulären Natriums, wodurch der Natriumgradient über der Zellmembran geringer ist und eine Normalisierung des intrazellulären pH über den NHE verzögert wird. Dies könnte sich protektiv auswirken. Allerdings könnte die protektive Wirkung von ATP-abhängigen Kaliumkanälen verringert werden.⁴⁶

4.4.9 Allosterische Inhibition der Kontraktionsgeschwindigkeit

OM bewirkte in den vorliegenden Versuchen eine starke Verminderung der Kontraktions- und Relaxationsgeschwindigkeit mit Abnahme der Maxima und Minima von dP/dt bei Gabe in der Präkonditionierung. OM verzögert in Studien ebenfalls den starken Kraftschlag im Querbrückenzyklus und verlängert bzw. verlangsamt die Systole. Die Ausbildung einer Nekrose in der frühen Phase der Reperfusion hängt von der Auslösung einer unkontrollierten Kontraktion auf Calcium-abhängigem Weg, bei hohem Angebot an ATP, oder einem Calcium-unabhängigem Weg bei stark verringertem ATP ab. OM könnte durch seine allosterische Modulation die Hyperkontraktur verringern, dadurch einen Zellschaden verringern und die Nekrose in einem Teil der Kardiomyozyten verhindern.⁴²

Für diese Erklärung könnte auch sprechen, dass OM die Myosin-Schrittgröße (engl. *myosin step size*), also die Distanz, die Myosin gegenüber F-Aktin unter Verbrauch eines ATP bei einem einzelnen Kraftschlag zurücklegt, dosisabhängig stark verringert^{73,135}. Bei 10 μM OM war die Schrittgröße von menschlichem Myosin in einer Studie durchschnittlich um 91,2 % reduziert.⁷³ In einer weiteren Studie an Schweinemyosin waren die Schrittgrößen von ventrikulärem und atrialem Myosin durch OM maximal um 78 und 62 % reduziert, wobei sich der größte Effekt bei 1 μM OM zeigte, jedoch höhere Konzentrationen von OM als 2 μM nicht getestet wurden.¹³⁵ Dabei zeigte sich auch die Geschwindigkeit der Bewegung von Myosin gegenüber Aktin über die Zeit stark verringert. Dies könnte möglicherweise eine intrazelluläre Kraftentwicklung und daraufhin folgende Schäden mit Entwicklung einer Nekrose durch Abschwächung einer unkontrollierten Kontraktion nach der Reperfusion verringern.⁴² Der im vorherigen Abschnitt genannte möglicherweise erhöhte ATP-Verbrauch könnte die Kontraktionsfähigkeit der Zelle möglicherweise weiter verringern.

4.4.10 Verhinderung der Rigorkontraktur

Außerdem zeigten sich Hinweise darauf, dass die Dissoziation von Myosin und Aktin nach dem Kraftschlag bei allosterischer Modulation durch OM ohne die Anwesenheit von ATP erfolgen kann.⁷³ Normalerweise löst sich Myosin erst bei erneuter Bindung von ATP von Aktin ab, was bei Erschöpfung des Angebots von ATP bei Ischämie eine

Kontraktur bedingt. Diese Entkopplung der Ablösung von Myosin vom ATP-Angebot könnte die Ausbildung einer Rigorkontraktur somit möglicherweise verringern.^{42,44,136}

4.4.11 Fazit

Von den genannten möglichen Mechanismen erscheinen die beiden zuletzt genannten am plausibelsten, die eine Verbindung zwischen der primären Wirkweise von OM in der Aktin-Myosin-Interaktion und der Verringerung des I/R-Schadens bedeuten würden. Diese könnten für Myosinmodulatoren spezifische kardioprotektive Mechanismen darstellen. Es könnten auch mehrere der beschriebenen Zusammenhänge involviert sein.

Ziel dieser Arbeit war es nicht, den kardioprotektiven Mechanismus von OM aufzuklären, sondern lediglich die Existenz einer kardioprotektiven Potenz von OM zu überprüfen. Weitere Studien sollten die möglichen Mechanismen dieser untersuchen.

4.5 Methodenkritik

Im folgenden Abschnitt geht es um mögliche Einflüsse der gewählten Methoden auf die Aussagefähigkeit und Übertragbarkeit der Untersuchung sowie mögliche Verbesserungen weiterführender Untersuchungen in der Zukunft.

4.5.1 Calcium-Menge des Krebs-Henseleit-Puffers

Der genutzte modifizierte Krebs-Henseleit-Puffer hat durch Hinzugabe von 2,52 mmol/l Calciumchlorid einen deutlich höheren ionisierten Calciumanteil als im Menschen physiologischerweise vorhanden ist. Das gesamte im Blut vorhandene Calcium liegt im Blut normalerweise bei 2,2 bis 2,6 mmol/l, davon ist allerdings ein großer Teil an Proteine gebunden. Das biologisch aktive, ionisierte Calcium liegt normalerweise in einem Bereich zwischen 1,1 und 1,4 mmol/l. Die Nutzung dieser im Vergleich dazu deutlich erhöhten Calciummenge ist im Rahmen der Forschung am isoliert perfundierten Rattenherz etabliert.⁹⁹ Aufgrund der oben beschriebenen Zusammenhänge zwischen intrazellulärem Calcium und Reperfusionsschaden könnte dieser im experimentellen Aufbau dadurch in allen Versuchsgruppen gleichermaßen vergrößert sein. Dadurch entstehen eventuell signifikantere oder besser erkennbare Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Es könnte aber theoretisch auch sein, dass ein durch OM ausgelöster kardioprotektiver Mechanismus nur durch diese zusätzlich erhöhte Calciummenge zustande kommt.

Da die Calciumströme in den Kardiomyozyten die systolische Kontraktion auslösen, ist es auch möglich, dass die erhöhten Calciummengen die hämodynamischen Unterschiede durch OM beeinflussen, insbesondere, da OM als Calcium-Sensitizer wirkt.^{82,137} Es wurde beschrieben, dass OM bei unterschiedlichen Calcium-Konzentrationen einen unterschiedlichen Effekt auf die Kontraktilität und Kraftentwicklung hat.⁸² Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass OM bei unterschiedlichen Calciummengen unterschiedlich viele noch nicht rekrutierte Myosinköpfechen aus der inaktiven Form allosterisch in der aktinbindenden Form stabilisieren kann.⁷⁵

Da die Beeinflussung der Kontraktilität durch OM den Reperfusionsschaden beeinflussen könnte (siehe 4.2.1.9), könnte sich der kardioprotektive Effekt unter

physiologischen Calciummengen somit gegebenenfalls verändern. Diese Möglichkeit sollte in weiteren Untersuchungen zum kardioprotektiven Mechanismus berücksichtigt werden.

4.5.2 Proteinbindung

Die Proteinbindung von OM beträgt im Blut des Menschen etwa 80 %.⁶⁹ Die Applikation von nicht proteingebundenem OM in diesen Versuchen ist somit in ihrer wirksamen Dosis und Konzentration mit den gemessenen Plasmakonzentrationen von OM in klinischen Studien möglicherweise nur gering vergleichbar. Ob sich dadurch ein Einfluss auf die kardioprotektive Potenz von OM oder die kardioprotektiven Konzentrationen ergibt, sollte durch Untersuchungen *in vivo* überprüft werden.

4.5.3 Tiermodell

Die Wirkung von OM an den α - und β -Myosin-Isoformen ist im Menschenherzen verschieden.¹³⁵ Diese unterscheiden sich in ihrer Aminosäuren-Abfolge, dadurch kann es zu unterschiedlichen allosterischen Effekten bei Bindung von OM kommen.

Ratten exprimieren in ihren Ventrikeln vor allem α -Myosin, welches im Vergleich zu β -Myosin eine schnellere Kontraktion ermöglicht, was zu der bei Ratten im Vergleich zu Menschen deutlich höheren ventrikulären Herzfrequenz passt, während gesunde menschliche Herzen im Ventrikel zu 90% β -Myosin exprimieren. Bei Herzinsuffizienz nimmt die Expression von α -Myosin im Ventrikel bei Menschen weiter ab, sodass es teilweise gar nicht mehr nachweisbar ist.¹³⁸ In menschlichem Atrium wird zu etwa 75% α -Myosin exprimiert.¹³⁸ In künstlichem menschlichem Herzgewebe mit überwiegend β -Myosin hatte OM einen verstärkenden Effekt auf die Kraftentwicklung, in künstlichem Herzgewebe von Ratten hatte OM diesen Effekt nicht.¹²⁷ Im menschlichen Atrium hatte OM keinen Einfluss auf die Stärke der Kontraktion.¹³⁹

Die Herzfrequenz von Ratten ist deutlich höher als die von Menschen. Der hämodynamische Effekt von OM ist in Hundekardiomyozyten abhängig von der

Kontraktionsfrequenz. Supratherapeutische Dosierungen (> 1 bis $10 \mu\text{M}$ OM) hatten dort bei 60 bpm keine Änderung der Kontraktionsstärke zur Folge, bei Simulation einer Tachykardie (120 bpm) war die Kontraktionsstärke bei Gabe von $10 \mu\text{M}$ OM verringert.¹¹⁶ Ein positiver Effekt auf die Herzinsuffizienz war auch in klinischen Studien bei Patienten mit niedrigerer Herzfrequenz ausgeprägter, während Tachykardien und Vorhofflimmern eine verringerte Wirksamkeit von OM bedeuteten.¹⁴⁰ Dies könnte daran liegen, dass OM die Systole dosisabhängig verlängert und bei Tachykardie somit schneller diastolisch eine noch nicht vollständige Relaxation auftritt, die die diastolische Füllung beeinträchtigt. Ratten haben eine viel höhere Herzfrequenz als Menschen. Der hämodynamische Effekt von OM am Rattenherz könnte dadurch von dem am menschlichen Herz abweichen, dadurch könnten gegebenenfalls auch die Ergebnisse zur Kardioprotektion weniger gut auf den Menschen übertragbar sein. Allerdings war der kardioprotektive Effekt ebenfalls bei der Gabe von OM zur Postkonditionierung zu beobachten, wo sich die hämodynamischen Variablen im Gegensatz zu den Ischämiearealen nicht signifikant zwischen den Versuchsgruppen unterschieden. Das macht es unwahrscheinlicher, dass beim Menschen im Vergleich zu Rattenherzen unterschiedliche hämodynamische Effekte eine Änderung des kardioprotektiven Effekts von OM verursachen könnte, da der kardioprotektive Effekt in den vorliegenden Daten nicht von hämodynamischen Messungen abhängig ist.

Die Versuchstiere in diesen Versuchen waren jung und gesund. Dies ist in der experimentellen Forschung zu kardioprotektiven Mechanismen üblich, nur einzelne Studien nutzten ältere Versuchstiere.⁵³ Menschen, die OM erhalten, sind in aller Regel älter, leiden an Herzinsuffizienz und haben häufig eine ischämische Kardiomyopathie und weitere Komorbiditäten wie Bluthochdruck, Diabetes oder eine Fettstoffwechselstörung. Diese Vorerkrankungen können die protektiven Effekte vieler Pharmaka und Interventionen gegenüber einem I/R-Schaden verringern.^{141,142} Dadurch kann die Übertragbarkeit der Ergebnisse dieser Versuche auf den Menschen eingeschränkt sein.⁵³

Der Effekt von OM im Rattenmodell könnte sich aufgrund der vorgenannten Unterschiede von der Anwendung beim Menschen unterscheiden. Hämodynamische Effekte, aber auch kardioprotektive Effekte, deren intrazelluläre Mechanismen nicht bekannt sind, könnten in anderen Dosierungen auftreten. Der kardioprotektive

Mechanismus könnte gegebenenfalls auch von der unterschiedlichen Wirkung an unterschiedlich verteilten Myosinisoformen sowie der Herzfrequenz abhängen.

Zur besseren Übertragbarkeit von Ergebnissen an isolierten Herzen auf vorerkrankte Menschen könnte versucht werden, Erkrankungen nachzubilden. Ein Modell der Herzinsuffizienz kann bei Ratten beispielsweise durch Verengung der Aorta mittels eines Bands geschaffen werden.¹⁴³ Eine endotheliale Dysfunktion könnte an den isolierten Herzen induziert werden.¹⁴⁴ Es könnten ältere Versuchstiere verwendet werden. Auch könnten spezielle Tiere gegebenenfalls menschliche Krankheiten simulieren.¹⁴⁵

In der Zukunft könnten aus induziert pluripotenten Stammzellen modellierte, im Labor aus menschlichen Zellen gewachsene Herz-Organoiden gegebenenfalls die Verwendung von Tierherzen ablösen. Die Ergebnisse experimenteller Studien könnten dadurch gegebenenfalls besser übertragbar sein.

4.5.4 I/R-Schaden am isolierten Herz

Am isolierten Herz sind neurohumorale Reaktionen auf die Ischämie und Reperfusion sowie Interaktion von Blutbestandteilen wie des Immunsystems mit dem reperfundierten Areal nicht vorhanden, die einen Anteil am I/R-Schaden haben, ebenso wie durch Blutzellen verstopfte Kapillaren und durch Gefäßschädigung ausgelöste Hämorrhagien.²¹ Dadurch könnte die Übertragbarkeit auf den Herzinfarkt im lebenden Patienten verringert sein. Für die Evaluierung etwaiger kardioprotektiver Eigenschaften von Pharmaka ist die Verwendung isolierter Herzen allerdings bisher der Goldstandard.⁹⁹

4.5.5 Bildauswertungsmethodik

Die verblindete Auswertung erfolgte manuell und subjektiv durch binäre Unterscheidung von Pixeln digitaler Scans in avitales und vitales Gewebe anhand der Farbe. Zwar waren der Scan-Vorgang sowie der digitale Bearbeitungsvorgang bei allen Herzen jeweils komplett gleich, sodass alle Bilder die gleiche Qualität und Farbkalibrierung haben. In einem farblichen Grenz- bzw. Übergangsbereich ist die binäre Unterscheidung in vitales und nichtvitales Gewebe jedoch schwierig exakt

vorzunehmen und bleibt zu einem kleinen Anteil subjektiv. Die Verblindung verhindert dabei einen relevanten Einfluss auf die Ergebnisse, da so bei allen Gruppen mit gleicher Wahrscheinlichkeit eine subjektive Beeinflussung der eingezeichneten Flächen stattfindet. Eine Auswertung jedes Herzschnitts durch mehrere Personen mit Bildung eines Mittelwerts der gemessenen Flächen könnte eine weitere Verringerung der individuenspezifischen subjektiven Beeinflussung der Messwerte bedeuten. Zur noch gleichmäßigeren Auswertung aller Herzen und Verringerung des Anteils des Zufallsfehlers könnte die subjektive manuelle Bildauswertung durch eine automatische Auswahl von Flächen durch ein Computerprogramm mit voreingestellten Farbwertbereichen der Pixel zur Zuordnung zum vitalen oder avitalen Bereich ersetzt werden oder durch diese mit der Möglichkeit manueller Korrektur ergänzt werden. Entsprechende Methodiken wurden bereits beschrieben, dabei war die Intraobserverreliabilität in einer Studie besser als bei manueller Auswertung.^{146,147}

Alternativ zu Färbungen mit TTC sind Methoden zur automatisierten dreidimensionalen Auswertung per hochauflösendem MRT beschrieben, wobei am Ende der Versuche MRT-Kontrastmittel appliziert werden muss. Dabei ist die Unterscheidung noch genauer. Dies bedeutet jedoch einen großen zusätzlichen finanziellen, personellen und organisatorischen Aufwand.¹⁴⁸

Ob diese möglichen Auswertungsmethodiken einen großen Einfluss auf die Datenerfassung und den Erkenntnisgewinn haben könnten, ist unklar. Bei einer niedrigen Gruppengröße von mehrheitlich $n=8$ sowie $n=6$ in einer Gruppe sind generell nur große Effekte statistisch signifikant zu erheben, sodass geringe Verbesserungen der Methodik eventuell keinen Einfluss hätten. Insgesamt entspricht die hier verwendete Methodik dem Goldstandard auf diesem Forschungsgebiet.^{99,148}

4.5.6 Mehrfache Verblindung

In dieser Studie erfolgte aufgrund von eingeschränkten Ressourcen die Verblindung nur bei der Auswertung des primären Outcomes der Ischämieareale durch eine an der Versuchsdurchführung nicht beteiligte Person, die verschlüsselt beschriftete Rattenherzen auswertete, eine Verblindung erfolgte jedoch nicht bei der Versuchsdurchführung. Eine Eigenverblindung mit verschlüsselter Beschriftung der Medikamentenspritzen und des Placebos (Kontrollgruppe) hätte erfolgen können, jedoch waren die Spritzen mit Omecamtiv mecarbil ab einer Konzentration von $3\ \mu\text{M}$

visuell unterschiedlich zum normalen Puffer durch einen gelblichen Farbstich. Blickdichte verschlüsselt beschriftete Medikamentenspritzen könnten dazu eingesetzt werden, ein mögliches unbewusstes Bias während der Versuchsdurchführung noch unwahrscheinlicher zu machen. Ein relevanter Effekt auf andere erhobene Daten erscheint aufgrund der exakt gleichen Durchführung des Versuchsprotokolls sowie der automatisierten elektronischen Übertragung hämodynamischer Daten unwahrscheinlich, eine geringe Restbeeinflussung ist jedoch nicht auszuschließen.

4.6 Ausblick

Die klinisch angewandten Konzentrationen von OM sind deutlich geringer als die sich hier als kardioprotektiv zeigenden Konzentrationen. OM zeigte in den supratherapeutischen Konzentrationen in dieser Untersuchung bereits am ungeschädigten Myokard hämodynamische Veränderungen bei Gabe vor der Ischämie, die mit einer Verringerung der Pumpfunktion aufgrund einer diastolischen Dysfunktion zu vereinbaren sind. Deshalb wäre die klinische Anwendung einer diesen Konzentrationen von OM entsprechenden Dosis als orale oder intravenöse Gabe während einer Ischämie oder zum Zeitpunkt deren interventioneller Therapie möglicherweise mit einer Gefahr von schwerwiegenden hämodynamischen Veränderungen verbunden. Eine intrakoronare Applikation während einer PCI könnte ungefährlicher sein, weil sich OM dann möglicherweise nur oder hauptsächlich auf das reperfundierte Stromgebiet auswirkt, wobei viele unvorhersehbare Reaktionen möglich sind, beispielsweise ist ein Effekt auf eventuelle Rhythmusstörungen bislang nicht untersucht. Die intrakoronare klinische Anwendung von Pharmaka während einer PCI ist für Antithrombotika¹⁴⁹ und vasoaktive Substanzen¹⁵⁰ etabliert, auch eine intrakoronare Gabe des im experimentellen Setting kardioprotektiven Morphins auf eine klinische Kardioprotektion wurde in einer Studie durchgeführt.¹⁵¹ Diese Anwendungsform könnte zunächst in experimentellen Studien auf einen kardioprotektiven Effekt überprüft werden.

OM wurde in dieser Untersuchung im Setting einer globalen Koronarischämie untersucht. Klinisch übertragen lässt sich die Methodik somit möglicherweise auf die Herzchirurgie mit kardiopulmonalem Bypass, wo auch eine globale Koronarischämie erzeugt wird.¹⁵² Für einen möglichen positiven klinischen Einfluss bei regionaler Ischämie können diese Daten aktuell lediglich als Hinweis gesehen werden.

OM verursacht bereits in niedrigeren als in dieser Studie als kardioprotektiv gezeigten Konzentrationen klinisch Symptome einer Ischämie sowie experimentell eine diastolische Dysfunktion mit globaler Hypotonie. Daher könnte durch die Gabe von OM zur Postkonditionierung in diesen Konzentrationen im kardiochirurgischen Setting ein verzögerter Abgang vom kardiopulmonalen Bypass und eine zunächst starke diastolische Dysfunktion eine zu erwartende Folge sein. Gegebenenfalls könnte eine Methode zur Auswaschung von OM mit Beendigung der Ischämie erfunden werden, beispielsweise durch Entwicklung eines Wirkstoffs zur Enkapsulation von OM zur

raschen Beendigung seiner intrazellulären Wirkung und damit der hämodynamischen Auswirkungen. Zur notwendigen intrazellulären Konzentration von OM und deren zeitlicher Dauer zur Erzeugung eines kardioprotektiven Effekts können aufgrund dieser Untersuchungen keine Aussagen getätigt werden. Eine Auswaschphase vor der Ischämie bei der Gabe zur Präkonditionierung war in dieser Untersuchung nicht vorhanden, auch bei der Gabe nach der Ischämie wurden keine zeitlich unterschiedlichen Gaben von OM überprüft, die intrazelluläre Konzentration von OM wurde ebenfalls nicht gemessen. Besonders, wenn sich die Hypothese erhärten sollte, dass die Konditionierung auf der direkten allosterischen Hemmung über Myosine ausgeübter mechanischer Kräfte innerhalb der Zelle bei der Reperfusion beruht, könnte eine zu schnelle Entfernung von OM den protektiven Effekt dann mutmaßlich verringern.

Ebenfalls wurde OM in dieser Untersuchung lediglich in normothermer globaler Koronarischemie und ohne den Einfluss anderer Pharmaka untersucht. Ob unter der bereits verwendeten kardioprotektiven Hypothermie bzw. anderen kardioprotektiven Mechanismen, beispielsweise durch die Kardioplegielösung¹⁵² und die genutzten Narkosegase, OM noch einen weiteren Einfluss im Setting der Herzchirurgie mit kardiopulmonalem Bypass haben könnte, kann nicht abgeschätzt werden. Dies sollte in weiteren Untersuchungen ebenfalls überprüft werden.

In dieser Studie konnten die hämodynamischen Veränderungen unter supratherapeutischen Dosierungen von OM am isolierten Rattenherz untersucht werden. Auch wenn die verwendeten Dosierungen von OM aufgrund der oben beschriebenen Einschränkungen bezüglich unterschiedlicher Myosine zwischen Ratte und Mensch sowie der Proteinbindung *in vivo* möglicherweise nicht direkt auf Menschen übertragbar sind, waren die hämodynamischen Veränderungen bei den applizierten Konzentrationen mit den auftretenden Nebenwirkungen bei Überdosierungen beim Menschen in diesen Konzentrationen vereinbar. Es zeigte sich, dass die Pumpkraft bei zu hoher Dosierung stark eingeschränkt werden kann, was mit den vorliegenden experimentellen Daten übereinstimmt.

Ein mögliches Therapeutikum einer Überdosis mit OM und deren potentieller hämodynamischer Auswirkungen könnte Mavacamten sein, ein Myosinmodulator, welcher am gleichen Ort am Myosinmolekül wirkt wie OM, aber einen gegenteiligen,

inhibierenden Effekt auf das Myosin mit Abnahme der EF hat.⁷⁸ Mavacamten wird bereits bei hypertroph-obstruktiver Kardiomyopathie klinisch eingesetzt.¹⁵³ Möglicherweise könnten die beiden Medikamente damit um die Bindungsstelle am Myosin konkurrieren. Das ist insofern wahrscheinlich, als dass OM und Mavacamten mehrere gleiche Aminosäuren-Bindungsstellen in der gleichen Tasche des Myosinmoleküls binden.⁷⁸ Ob sie so ihre Wirkung gegenseitig antagonisieren könnten und eine Überdosis von Mavacamten mit dadurch resultierender zu geringer EF und Hypotension gegebenenfalls durch Gabe von OM therapierbar sein könnte, ist nicht klar. Unter anderem existieren keine vergleichenden Daten zur Affinität an den Aminosäuren-Bindungsstellen am Myosinmolekül. Für Mavacamten gibt es bisher kein spezifisches Antidot, durch seine lange Halbwertszeit von sechs bis 23 Tagen¹⁵⁴ müsste bei einer Überdosierung alternativ eventuell eine Überbrückung mit Inotropika erfolgen.

OM ist das erste klinisch erprobte Medikament seiner Klasse.⁷¹ Es wurde initial aufgrund seiner besonderen Selektivität zu und Wirkstärke an Myosin im Vergleich zu seinen Vorläuferkandidaten für die klinische Erprobung ausgewählt.¹⁵⁵ Im Verlauf zeigten sich, wie oben beschrieben, dass OM dennoch relevante Interaktion mit RyR hat sowie möglicherweise direkt oder indirekt einen Einfluss auf Natriumströme hat. Weitere Substanzen werden erforscht. Ein neuer Kandidat in klinischer Erprobung ist Danicamtiv.¹⁵⁶ Danicamtiv führt zusätzlich zu einer Verbesserung der linksventrikulären EF zu einer Verbesserung der Kontraktilität des linken Vorhofs, während OM experimentell in höheren Dosierungen eine diastolische Dysfunktion mit Vergrößerung des Vorhofs hervorrief.⁸⁶ Dies könnte beispielsweise an einer anderen Wirkung von Danicamtiv an α -Myosin liegen, das im Vorhof stärker exprimiert wird, oder an einer veränderten Wirkung auf Ionenströme, die bei OM möglicherweise die diastolische Dysfunktion erklären können. Bisher liegen keine Studien für eine Interaktion von Danicamtiv mit dem RyR vor. Diese Möglichkeit sollte experimentell überprüft werden, ebenso wie eine mögliche Einflussnahme auf Natriumströme. Ob Danicamtiv einen Einfluss auf einen I/R-Schaden hat, sollte ebenfalls überprüft werden. Möglicherweise lässt sich auch aus dem Unterschied in der Rezeptorselektivität sowie der kardioprotektiven Wirkung zwischen Danicamtiv und OM ein Rückschluss auf den Mechanismus der Kardioprotektion ziehen.

Das oben bereits erwähnte Mavacamten zeigte an Ratten ebenfalls einen protektiven Effekt gegenüber einem I/R-Schaden; die Autoren hypothetisierten, dies könnte an einer Inhibition der reperfusionsinduzierten Hyperkontraktur liegen.¹⁵⁷ Darin könnte für die Klasse der Myosinmodulatoren insgesamt ein spezifischer Mechanismus der Kardioprotektion bestehen, der weiter untersucht werden sollte.

Im Abschnitt 4.2 wurden mögliche Mechanismen der Kardioprotektion durch OM erläutert. Der nächste Schritt könnte sein, beispielsweise durch Gabe von Antagonisten der entsprechenden Signalwege diese auf ihren Einfluss auf die Kardioprotektion durch OM zu überprüfen. Untersuchungen zur Kontraktilität isolierter Myozyten unter hypoxischen Bedingungen könnten ebenfalls sinnvoll sein.

Eventuell lassen sich durch weitere Erforschung des durch OM ausgelösten kardioprotektiven Mechanismus ebenfalls weitere Grundlagenerkenntnisse zur Kardioprotektion finden. Diese könnten translational zur Entwicklung neuer kardioprotektiver Interventionen und Medikamente beitragen und hoffentlich irgendwann zu einer breiten klinischen Anwendung der Kardioprotektion führen.

4.7 Schlussfolgerung

Es konnte gezeigt werden, dass OM in supratherapeutischen Dosierungen einen protektiven Einfluss auf einen I/R-Schaden am isolierten Rattenherz hat. Aus den vorliegenden Daten lässt sich für den Fall einer Anwendung von OM bei Patienten mit Risikofaktoren für die Entwicklung einer myokardialen Ischämie zwar noch kein spezifisch zu erwartender Vorteil durch eine Kardioprotektion ableiten, allerdings ist auf der Grundlage dieser experimentellen Daten auch keine zusätzliche Gefährdung durch OM bei einer solchen Ischämie zu erwarten. Bei globaler Ischämie könnte eine Gabe von OM möglicherweise protektive Effekte zeigen. Hämodynamische Veränderungen unter OM waren vereinbar mit Ergebnissen anderer experimenteller Studien sowie am Menschen auftretenden Nebenwirkungen in supratherapeutischen Dosen. Die Übertragung der Ergebnisse auf die Klinik ist potenziell durch das experimentelle Setting eingeschränkt. Ein protektiver Effekt von OM könnte aufgrund der methodischen Einschränkungen *in vivo* am Menschen bei anderen Konzentrationen vorhanden sein. Verschiedene Erklärungsansätze zum Mechanismus der Kardioprotektion durch OM wurden dargestellt. Dabei erscheint am interessantesten und plausibelsten ein möglicher spezifischer Effekt auf die Zellmechanik durch die Myosinmodulation. Weitere Studien zum kardioprotektiven Mechanismus von OM sowie verwandter Substanzen sowie eine eventuell zukünftig erfolgende klinische Anwendung von OM und anderen Myosinmodulatoren können ergänzende Erkenntnisse zu dieser Fragestellung sowie der Forschung zum I/R-Schaden und seiner Therapie insgesamt schaffen. Diese Arbeit könnte für weitergehende Untersuchungen einen Ausgangspunkt bieten.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Chemische Struktur von Omecamtiv Mecarbil	13
Abb. 2: Querbrückenzyklus	14
Abb. 3: Querbrückenzyklus in Anwesenheit von OM.....	15
Abb. 4: Destabilisierung des inaktiven Status der Myosinköpfchen.....	16
Abb. 5: vereinfachte schematische Langendorff-Anlage	26
Abb. 6: Versuchsprotokoll der Versuche zur Prä- und Postkonditionierung	30
Abb. 7: Reduktion des Triphenyltetrazoliumchlorid zum Formazan.....	36
Abb. 8: Scan eines Herzens	36
Abb. 9: Digital verarbeiteter Scan.....	37
Abb. 10: Infarktgrößen in % der AAR bei Präkonditionierung mit OM	39
Abb. 11: LVEDP bei Präkonditionierung mit OM	41
Abb. 12: LVDP bei Präkonditionierung mit OM.....	43
Abb. 13: LVESP bei Präkonditionierung mit Omecamtiv mecarbil.....	45
Abb. 14: Positive Druckänderungsmaxima bei Präkonditionierung mit OM.....	47
Abb. 15: Negative Druckänderungsmaxima bei Präkonditionierung mit OM	49
Abb. 16: Koronarfluss bei Präkonditionierung mit OM.....	51
Abb. 17: Infarktgrößen in % der AAR bei Postkonditionierung mit OM.....	53
Abb. 18: LVEDP bei Postkonditionierung mit Omecamtiv mecarbil.....	54
Abb. 19: LVDP bei Postkonditionierung mit OM	56
Abb. 20: LVESP bei Postkonditionierung mit Omecamtiv mecarbil	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Materialien	20
Tabelle 2: Chemikalien	21
Tabelle 3: Gase	23
Tabelle 4: Software	23
Tabelle 5: Geräte.....	23
Tabelle 6: LVEDP bei Präkonditionierung mit OM	42
Tabelle 7: LVDP bei Präkonditionierung mit OM	44
Tabelle 8: LVESP bei Präkonditionierung mit OM	46
Tabelle 9: Herzfrequenz bei Präkonditionierung mit OM	46
Tabelle 10: dP/dt_{max} bei Präkonditionierung mit OM.....	48
Tabelle 11: dP/dt_{min} bei Präkonditionierung mit OM	50
Tabelle 12: Koronarfluss bei Präkonditionierung mit OM	52
Tabelle 13: Tiercharakteristika der Versuchsgruppen zur Präkonditionierung	52
Tabelle 14: LVEDP bei Postkonditionierung mit OM	55
Tabelle 15: LVDP bei Postkonditionierung mit OM.....	57
Tabelle 16: LVESP bei Postkonditionierung mit OM	59
Tabelle 17: Herzfrequenz bei Postkonditionierung mit OM	59
Tabelle 18: dP/dt_{max} bei Postkonditionierung mit OM	60
Tabelle 19: dP/dt_{min} bei Postkonditionierung mit OM.....	60
Tabelle 20: Koronarfluss bei Postkonditionierung mit OM.....	61
Tabelle 21: Tiercharakteristika der Versuchsgruppen zur Postkonditionierung	61

Literaturverzeichnis

1. Todesursachen. Statistisches Bundesamt. Accessed December 2, 2023. https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/_inhalt.html
2. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76(25):2982-3021. doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010
3. Statistisches Bundesamt Deutschland - GENESIS-Online. December 2, 2023. Accessed December 2, 2023. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online>
4. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Lond Engl*. 2018;392(10159):1789-1858. doi:10.1016/S0140-6736(18)32279-7
5. Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2018;137(12):e67-e492. doi:10.1161/CIR.0000000000000558
6. Matsuzawa Y, Lerman A. Endothelial Dysfunction and Coronary Artery Disease: Assessment, Prognosis and Treatment. *Coron Artery Dis*. 2014;25(8):713-724. doi:10.1097/MCA.0000000000000178
7. Münzel T, Hahad O, Daiber A, Lelieveld J. Luftverschmutzung und Herz-Kreislauf-Erkrankungen. *Herz*. 2021;46(2):120-128. doi:10.1007/s00059-020-05016-9
8. Petersen CB, Bauman A, Grønbaek M, Helge JW, Thygesen LC, Tolstrup JS. Total sitting time and risk of myocardial infarction, coronary heart disease and all-cause mortality in a prospective cohort of Danish adults. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2014;11(1):13. doi:10.1186/1479-5868-11-13
9. Hakulinen C, Pulkki-Råback L, Virtanen M, Jokela M, Kivimäki M, Elovainio M. Social isolation and loneliness as risk factors for myocardial infarction, stroke and mortality: UK Biobank cohort study of 479 054 men and women. *Heart Br Card Soc*. 2018;104(18):1536-1542. doi:10.1136/heartjnl-2017-312663
10. Hayashi R, Iso H, Yamagishi K, et al. Working Hours and Risk of Acute Myocardial Infarction and Stroke Among Middle-Aged Japanese Men - The Japan Public Health Center-Based Prospective Study Cohort II. *Circ J Off J Jpn Circ Soc*. 2019;83(5):1072-1079. doi:10.1253/circj.CJ-18-0842
11. Musher DM, Abers MS, Corrales-Medina VF. Acute Infection and Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2019;380(2):171-176. doi:10.1056/NEJMra1808137
12. Ho FK, Man KKC, Toshner M, et al. Thromboembolic Risk in Hospitalized and Nonhospitalized COVID-19 Patients: A Self-Controlled Case Series Analysis of a Nationwide Cohort. *Mayo Clin Proc*. 2021;96(10):2587-2597. doi:10.1016/j.mayocp.2021.07.002

13. El-Menyar A, Ramzee AF, Asim M, et al. COVID-19 Increases the Risk of New Myocardial Infarction in Patients with Old Myocardial Infarction: A Retrospective Observational Study. *Clin Med Insights*. 2024;18:11795468241301133. doi:10.1177/11795468241301133
14. Zuin M, Rigatelli G, Battisti V, Costola G, Roncon L, Bilato C. Increased risk of acute myocardial infarction after COVID-19 recovery: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2023;372:138-143. doi:10.1016/j.ijcard.2022.12.032
15. Hilser JR, Spencer NJ, Afshari K, et al. COVID-19 Is a Coronary Artery Disease Risk Equivalent and Exhibits a Genetic Interaction With ABO Blood Type. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2024;44(11):2321-2333. doi:10.1161/ATVBAHA.124.321001
16. Persiani E, Cecchetti A, Ceccherini E, Gisone I, Morales MA, Vozzi F. Microplastics: A Matter of the Heart (and Vascular System). *Biomedicines*. 2023;11(2):264. doi:10.3390/biomedicines11020264
17. Zhao J, Gomes DC, Conklin D, O'Toole TE. Abstract 9880: Microplastics Exposure Promotes Cardiovascular Disease Risk in Mice. *Circulation*. 2021;144(Suppl_1):A9880-A9880. doi:10.1161/circ.144.suppl_1.9880
18. Srour B, Fezeu LK, Kesse-Guyot E, et al. Ultra-processed food intake and risk of cardiovascular disease: prospective cohort study (NutriNet-Santé). *BMJ*. 2019;365:l1451. doi:10.1136/bmj.l1451
19. Krittanawong C, Khawaja M, Tamis-Holland JE, Girotra S, Rao SV. Acute Myocardial Infarction: Etiologies and Mimickers in Young Patients. *J Am Heart Assoc*. 2023;12(18):e029971. doi:10.1161/JAHA.123.029971
20. Khraishah H, Alahmad B, Ostergard RL, et al. Climate change and cardiovascular disease: implications for global health. *Nat Rev Cardiol*. 2022;19(12):798-812. doi:10.1038/s41569-022-00720-x
21. Heusch G. Myocardial ischemia/reperfusion: Translational pathophysiology of ischemic heart disease. *Med*. 2024;5(1):10-31. doi:10.1016/j.medj.2023.12.007
22. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(18):2231-2264. doi:10.1016/j.jacc.2018.08.1038
23. Greulich S, Mayr A, Gloekler S, et al. Time-Dependent Myocardial Necrosis in Patients With ST-Segment–Elevation Myocardial Infarction Without Angiographic Collateral Flow Visualized by Cardiac Magnetic Resonance Imaging: Results From the Multicenter STEMI-SCAR Project. *J Am Heart Assoc*. 2019;8(12):e012429. doi:10.1161/JAHA.119.012429
24. Aslanger EK. Beyond the ST-segment in Occlusion Myocardial Infarction (OMI): Diagnosing the OMI-nous. *Turk J Emerg Med*. 2023;23(1):1-4. doi:10.4103/2452-2473.357333
25. Meyers HP, Bracey A, Lee D, et al. Comparison of the ST-Elevation Myocardial Infarction (STEMI) vs. NSTEMI and Occlusion MI (OMI) vs. NOMI Paradigms of

- Acute MI. *J Emerg Med*. 2021;60(3):273-284. doi:10.1016/j.jemermed.2020.10.026
26. Pendell Meyers H, Bracey A, Lee D, et al. Accuracy of OMI ECG findings versus STEMI criteria for diagnosis of acute coronary occlusion myocardial infarction. *Int J Cardiol Heart Vasc*. 2021;33:100767. doi:10.1016/j.ijcha.2021.100767
 27. Kola M, Shuka N, Meyers HP, Zaimi (Petrela) E, Smith SW. OMI/NOMI: Time for a New Classification of Acute Myocardial Infarction. *J Clin Med*. 2024;13(17):5201. doi:10.3390/jcm13175201
 28. Khan AR, Golwala H, Tripathi A, et al. Impact of total occlusion of culprit artery in acute non-ST elevation myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J*. 2017;38(41):3082-3089. doi:10.1093/eurheartj/ehx418
 29. Jenča D, Melenovský V, Stehlik J, et al. Heart failure after myocardial infarction: incidence and predictors. *ESC Heart Fail*. 2020;8(1):222-237. doi:10.1002/ehf2.13144
 30. Frampton J, Ortengren AR, Zeitler EP. Arrhythmias After Acute Myocardial Infarction. *Yale J Biol Med*. 2023;96(1):83-94. doi:10.59249/LSWK8578
 31. Yan GX, Joshi A, Guo D, et al. Phase 2 Reentry as a Trigger to Initiate Ventricular Fibrillation During Early Acute Myocardial Ischemia. *Circulation*. Published online August 31, 2004. doi:10.1161/01.CIR.0000140258.09964.19
 32. Hasche ET, Fernandes C, Freedman SB, Jeremy RW. Relation Between Ischemia Time, Infarct Size, and Left Ventricular Function in Humans. *Circulation*. 1995;92(4):710-719. doi:10.1161/01.CIR.92.4.710
 33. Schömig A, Mehilli J, Antoniucci D, et al. Mechanical Reperfusion in Patients With Acute Myocardial Infarction Presenting More Than 12 Hours From Symptom OnsetA Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 2005;293(23):2865-2872. doi:10.1001/jama.293.23.2865
 34. Dégano IR, Salomaa V, Veronesi G, et al. Twenty-five-year trends in myocardial infarction attack and mortality rates, and case-fatality, in six European populations. *Heart*. 2015;101(17):1413-1421. doi:10.1136/heartjnl-2014-307310
 35. Analysis of myocardial infarction incidence and case-fatality in the last three decades in the province of Girona. *Rev Esp Cardiol Engl Ed*. 2024;77(6):450-458. doi:10.1016/j.rec.2023.10.005
 36. Bona KH, Krizak Halle K, Store Govatsmark RE, Bendiktsen Berge V, Almenning Kiel I, Kvale R. Time trends in mortality, incidence and case-fatality of acute myocardial infarction in Norway - do we see the end of the coronary heart disease epidemic? *Eur Heart J*. 2024;45(Supplement_1):ehae666.1560. doi:10.1093/eurheartj/ehae666.1560
 37. Foà A, Pabon MA, Braunwald E, et al. Mortality after high-risk myocardial infarction over the last 20 years: Insights from the VALIANT and PARADISE-MI trials. *Eur J Heart Fail*. 2025;27(3):589-597. doi:10.1002/ehf.3557

38. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-1136. doi:10.1161/01.cir.74.5.1124
39. Matsuda M, Catena TG, Heide RSV, Jennings RB, Reimer KA. Cardiac protection by ischaemic preconditioning is not mediated by myocardial stunning. *Cardiovasc Res*. 1993;27(4):585-592. doi:10.1093/cvr/27.4.585
40. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285(2):H579-588. doi:10.1152/ajpheart.01064.2002
41. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem*. 2018;46(4):1650-1667. doi:10.1159/000489241
42. Piper HM, Meuter K, Schäfer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*. 2003;75(2):S644-S648. doi:10.1016/S0003-4975(02)04686-6
43. Frank A, Bonney M, Bonney S, Weitzel L, Koeppen M, Eckle T. Myocardial ischemia reperfusion injury - from basic science to clinical bedside. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2012;16(3):123-132. doi:10.1177/1089253211436350
44. Ladilov Y, Efe O, Schäfer C, et al. Reoxygenation-induced rigor-type contracture. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35(12):1481-1490. doi:10.1016/j.yjmcc.2003.09.016
45. Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, Kroemer G. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010;11(10):700-714. doi:10.1038/nrm2970
46. Murphy E, Steenbergen C. Mechanisms Underlying Acute Protection From Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury. *Physiol Rev*. 2008;88(2):581-609. doi:10.1152/physrev.00024.2007
47. Peoples JN, Saraf A, Ghazal N, Pham TT, Kwong JQ. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. *Exp Mol Med*. 2019;51(12):162. doi:10.1038/s12276-019-0355-7
48. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol*. 2015;6:524-551. doi:10.1016/j.redox.2015.08.020
49. Wu X, Li Y, Zhang S, Zhou X. Ferroptosis as a novel therapeutic target for cardiovascular disease. *Theranostics*. 2021;11(7):3052-3059. doi:10.7150/thno.54113
50. Hale SL, Shryock JC, Belardinelli L, Sweeney M, Kloner RA. Late sodium current inhibition as a new cardioprotective approach. *J Mol Cell Cardiol*. 2008;44(6):954-967. doi:10.1016/j.yjmcc.2008.03.019
51. Tsutsumi YM, Yokoyama T, Horikawa Y, Roth DM, Patel HH. Reactive oxygen species trigger ischemic and pharmacological postconditioning: in vivo and in

- vitro characterization. *Life Sci.* 2007;81(15):1223-1227.
doi:10.1016/j.lfs.2007.08.031
52. Dietl A, Maack C. Targeting Mitochondrial Calcium Handling and Reactive Oxygen Species in Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep.* 2017;14(4):338-349.
doi:10.1007/s11897-017-0347-7
 53. Ferdinandy P, Hausenloy DJ, Heusch G, Baxter GF, Schulz R. Interaction of Risk Factors, Comorbidities, and Comedications with Ischemia/Reperfusion Injury and Cardioprotection by Preconditioning, Postconditioning, and Remote Conditioning. *Pharmacol Rev.* 2014;66(4):1142-1174. doi:10.1124/pr.113.008300
 54. Heusch G. Cardioprotection and its Translation: A Need for New Paradigms? Or for New Pragmatism? An Opinionated Retro- and Perspective. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2023;28:10742484231179613.
doi:10.1177/10742484231179613
 55. Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, et al. ACC/AHA 2005 Guideline Update for the Diagnosis and Management of Chronic Heart Failure in the Adult. *Circulation.* 2005;112(12):e154-e235. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.167586
 56. Zhou S, Liu Y, Huang X, Wu C, Pórszász R. Omecamtiv Mecarbil in the treatment of heart failure: the past, the present, and the future. *Front Cardiovasc Med.* 2024;11. doi:10.3389/fcvm.2024.1337154
 57. Heidenreich PA, Bozkurt B, Aguilar D, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2022;145(18):e895-e1032.
doi:10.1161/CIR.0000000000001063
 58. Hartupee J, Mann DL. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nat Rev Cardiol.* 2017;14(1):30-38.
doi:10.1038/nrcardio.2016.163
 59. Azevedo PS, Polegato BF, Minicucci MF, Paiva SAR, Zornoff LAM. Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment. *Arq Bras Cardiol.* 2016;106(1):62-69.
doi:10.5935/abc.20160005
 60. Psotka MA, Gottlieb SS, Francis GS, et al. Cardiac Calcitropes, Myotropes, and Mitotropes: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol.* 2019;73(18):2345-2353. doi:10.1016/j.jacc.2019.02.051
 61. Ahmad T, Miller PE, McCullough M, et al. Why has positive inotropy failed in chronic heart failure? Lessons from prior inotrope trials. *Eur J Heart Fail.* 2019;21(9):1064-1078. doi:10.1002/ejhf.1557
 62. Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, et al. Omecamtiv Mecarbil in Chronic Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Rationale and Design of GALACTIC-HF. *JACC Heart Fail.* 2020;8(4):329-340.
doi:10.1016/j.jchf.2019.12.001

63. Freeman JV, Yang J, Sung SH, Hlatky MA, Go AS. Effectiveness and Safety of Digoxin Among Contemporary Adults With Incident Systolic Heart Failure. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2013;6(5):525-533. doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.111.000079
64. Teerlink JR, Metra M, Zacà V, et al. Agents with inotropic properties for the management of acute heart failure syndromes. Traditional agents and beyond. *Heart Fail Rev*. 2009;14(4):243-253. doi:10.1007/s10741-009-9153-y
65. Eisner D. Calcium in the heart: from physiology to disease. *Exp Physiol*. 2014;99(10):1273-1282. doi:10.1113/expphysiol.2013.077305
66. Heijman J, Voigt N, Nattel S, Dobrev D. Cellular and Molecular Electrophysiology of Atrial Fibrillation Initiation, Maintenance, and Progression. *Circ Res*. 2014;114(9):1483-1499. doi:10.1161/CIRCRESAHA.114.302226
67. Wagner S, Maier LS, Bers DM. Role of Sodium and Calcium Dysregulation in Tachyarrhythmias in Sudden Cardiac Death. *Circ Res*. 2015;116(12):1956-1970. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.304678
68. Orstavik O, Ata SH, Riise J, et al. Inhibition of phosphodiesterase-3 by levosimendan is sufficient to account for its inotropic effect in failing human heart. *Br J Pharmacol*. 2014;171(23):5169-5181. doi:10.1111/bph.12647
69. Palaparthi R, Banfield C, Alvarez P, et al. Relative bioavailability, food effect, and safety of the single-dose pharmacokinetics of omecamtiv mecarbil following administration of different modified-release formulations in healthy subjects. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2016;54(3):217-227. doi:10.5414/CP202458
70. Vasconcellos F. *Skeletal Formula of Omecamtiv Mecarbil (CK-1827452)*.; 2013. Accessed January 7, 2024. https://en.wikipedia.org/wiki/Omecamtiv_mecarbil#/media/File:Omecamtiv_mecarbil.svg
71. Morgan BP, Muci A, Lu PP, et al. Discovery of Omecamtiv Mecarbil the First, Selective, Small Molecule Activator of Cardiac Myosin. *ACS Med Chem Lett*. 2010;1(9):472-477. doi:10.1021/ml100138q
72. Klinke, Pape, Kurtz, Silbernagl. Muskulatur. In: *Physiologie*. 6th ed. Georg Thieme Verlag; 2010:97-131.
73. Woody MS, Greenberg MJ, Barua B, Winkelmann DA, Goldman YE, Ostap EM. Positive cardiac inotrope omecamtiv mecarbil activates muscle despite suppressing the myosin working stroke. *Nat Commun*. 2018;9:3838. doi:10.1038/s41467-018-06193-2
74. Parijat P, Attili S, Hoare Z, Shattock M, Kenyon V, Kampourakis T. Discovery of a novel cardiac-specific myosin modulator using artificial intelligence-based virtual screening. *Nat Commun*. 2023;14(1):7692. doi:10.1038/s41467-023-43538-y
75. Planelles-Herrero VJ, Hartman JJ, Robert-Paganin J, Malik FI, Houdusse A. Mechanistic and structural basis for activation of cardiac myosin force production by omecamtiv mecarbil. *Nat Commun*. 2017;8(1):190. doi:10.1038/s41467-017-00176-5

76. Winkelmann DA, Forgacs E, Miller MT, Stock AM. Structural basis for drug-induced allosteric changes to human β -cardiac myosin motor activity. *Nat Commun.* 2015;6(1):7974. doi:10.1038/ncomms8974
77. Swenson AM, Tang W, Blair CA, et al. Omecamtiv Mecarbil Enhances the Duty Ratio of Human β -Cardiac Myosin Resulting in Increased Calcium Sensitivity and Slowed Force Development in Cardiac Muscle. *J Biol Chem.* 2017;292(9):3768-3778. doi:10.1074/jbc.M116.748780
78. Auguin D, Robert-Paganin J, Réty S, et al. Omecamtiv mecarbil and Mavacamten target the same myosin pocket despite opposite effects in heart contraction. *Nat Commun.* 2024;15(1):4885. doi:10.1038/s41467-024-47587-9
79. Spudich JA. Hypertrophic and Dilated Cardiomyopathy: Four Decades of Basic Research on Muscle Lead to Potential Therapeutic Approaches to These Devastating Genetic Diseases. *Biophys J.* 2014;106(6):1236-1249. doi:10.1016/j.bpj.2014.02.011
80. Scellini B, Piroddi N, Dente M, et al. Myosin Isoform-Dependent Effect of Omecamtiv Mecarbil on the Regulation of Force Generation in Human Cardiac Muscle. *Int J Mol Sci.* 2024;25(18):9784. doi:10.3390/ijms25189784
81. Leinwand LA, Moss RL. Chemically Tuned Myosin Motors. *Science.* 2011;331(6023):1392-1393. doi:10.1126/science.1204207
82. Nagy L, Kovács Á, Bódi B, et al. The novel cardiac myosin activator omecamtiv mecarbil increases the calcium sensitivity of force production in isolated cardiomyocytes and skeletal muscle fibres of the rat. *Br J Pharmacol.* 2015;172(18):4506-4518. doi:10.1111/bph.13235
83. Teerlink JR, Clarke CP, Saikali KG, et al. Dose-dependent augmentation of cardiac systolic function with the selective cardiac myosin activator, omecamtiv mecarbil: a first-in-man study. *Lancet Lond Engl.* 2011;378(9792):667-675. doi:10.1016/S0140-6736(11)61219-1
84. Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJV, et al. Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure (COSMIC-HF): a phase 2, pharmacokinetic, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet.* 2016;388(10062):2895-2903. doi:10.1016/S0140-6736(16)32049-9
85. Cleland JG, Teerlink JR, Senior R, et al. The effects of the cardiac myosin activator, omecamtiv mecarbil, on cardiac function in systolic heart failure: a double-blind, placebo-controlled, crossover, dose-ranging phase 2 trial. *The Lancet.* 2011;378(9792):676-683. doi:10.1016/S0140-6736(11)61126-4
86. Fülöp GÁ, Oláh A, Csipo T, et al. Omecamtiv mecarbil evokes diastolic dysfunction and leads to periodic electromechanical alternans. *Basic Res Cardiol.* 2021;116(1):24. doi:10.1007/s00395-021-00866-8
87. Felker GM, Solomon SD, Claggett B, et al. Assessment of Omecamtiv Mecarbil for the Treatment of Patients With Severe Heart Failure: A Post Hoc Analysis of Data From the GALACTIC-HF Randomized Clinical Trial. *JAMA Cardiol.* 2022;7(1):26-34. doi:10.1001/jamacardio.2021.4027

88. Metra M, Pagnesi M, Claggett BL, et al. Effects of omecamtiv mecarbil in heart failure with reduced ejection fraction according to blood pressure: the GALACTIC-HF trial. *Eur Heart J*. 2022;43(48):5006-5016. doi:10.1093/eurheartj/ehac293
89. Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJV, et al. Acute Treatment With Omecamtiv Mecarbil to Increase Contractility in Acute Heart Failure: The ATOMIC-AHF Study. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(12):1444-1455. doi:10.1016/j.jacc.2016.01.031
90. Farooqui A, Bilal H, Saleem N, et al. Omecamtiv Mecarbil and Its Effects on Cardiac Parameters in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction (HFrEF). A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Circulation*. 2022;146(Suppl_1):A10050-A10050. doi:10.1161/circ.146.suppl_1.10050
91. Modzelewski KL, Pipilas A, Bosch NA. Comparative Outcomes of Empagliflozin to Dapagliflozin in Patients With Heart Failure. *JAMA Netw Open*. 2024;7(5):e249305. doi:10.1001/jamanetworkopen.2024.9305
92. Cuthbert JJ, Clark AL. Diuretic Treatment in Patients with Heart Failure: Current Evidence and Future Directions – Part I: Loop Diuretics. *Curr Heart Fail Rep*. 2024;21(2):101-114. doi:10.1007/s11897-024-00643-3
93. Nanasi P, Komaromi I, Gaburjakova M, Almasy J. Omecamtiv Mecarbil: A Myosin Motor Activator Agent with Promising Clinical Performance and New in vitro Results. *Curr Med Chem*. 25(15):1720-1728.
94. Fauconnier J, Roberge S, Saint N, Lacampagne A. Type 2 ryanodine receptor: A novel therapeutic target in myocardial ischemia/reperfusion. *Pharmacol Ther*. 2013;138(3):323-332. doi:10.1016/j.pharmthera.2013.01.015
95. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 8th ed. National Academies Press (US); 2011. Accessed January 3, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>
96. Zimmer HG. The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers. *Physiology*. 1998;13(4):203-210. doi:10.1152/physiologyonline.1998.13.4.203
97. Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen. *Arch Für Gesamte Physiol Menschen Tiere*. 1895;61(6):291-332. doi:10.1007/BF01812150
98. Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: The Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J Mol Cell Cardiol*. 2011;50(6):940-950. doi:10.1016/j.yjmcc.2011.02.018
99. Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szeląg A, Schulz R. Isolated heart perfusion according to Langendorff—Still viable in the new millennium. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2007;55(2):113-126. doi:10.1016/j.vasch.2006.05.006
100. Refinetti R, Ma H, Satinoff E. Body temperature rhythms, cold tolerance, and fever in young and old rats of both genders. *Exp Gerontol*. 1990;25(6):533-543. doi:10.1016/0531-5565(90)90019-x

101. Liao R, Podesser BK, Lim CC. The continuing evolution of the Langendorff and ejecting murine heart: new advances in cardiac phenotyping. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2012;303(2):H156-H167. doi:10.1152/ajpheart.00333.2012
102. Stroethoff M, Behmenburg F, Meierkord S, et al. Cardioprotective Properties of Omecamtiv Mecarbil against Ischemia and Reperfusion Injury. *J Clin Med*. 2019;8(3):375. doi:10.3390/jcm8030375
103. Ferrera R, Benhabbouche S, Bopassa JC, Li B, Ovize M. One hour reperfusion is enough to assess function and infarct size with TTC staining in Langendorff rat model. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2009;23(4):327-331. doi:10.1007/s10557-009-6176-5
104. Seidler E. The tetrazolium-formazan system: design and histochemistry. *Prog Histochem Cytochem*. 1991;24(1):1-86. doi:10.1016/s0079-6336(11)80060-4
105. Klein HH, Schaper J, Puschmann S, Nienaber C, Kreuzer H, Schaper W. Loss of canine myocardial nicotinamide adenine dinucleotides determines the transition from reversible to irreversible ischemic damage of myocardial cells. *Basic Res Cardiol*. 1981;76(6):612-621. doi:10.1007/BF01908051
106. Bohl S, Medway DJ, Schulz-Menger J, Schneider JE, Neubauer S, Lygate CA. Refined approach for quantification of in vivo ischemia-reperfusion injury in the mouse heart. *Am J Physiol - Heart Circ Physiol*. 2009;297(6):H2054-H2058. doi:10.1152/ajpheart.00836.2009
107. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, et al. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J*. 1981;101(5):593-600. doi:10.1016/0002-8703(81)90226-x
108. Mattern, Roland. *Reduktion Des Triphenyltetrazoliumchlorid Über Ein Tetrazolium-Radikal Zum Formazan.*; 2010. Accessed February 3, 2024. <https://de.wikipedia.org/wiki/TTC-Test#/media/Datei:Triphenyltetrazolium.svg>
109. Gao B, Sutherland W, Vargas HM, Qu Y. Effects of omecamtiv mecarbil on calcium-transients and contractility in a translational canine myocyte model. *Pharmacol Res Perspect*. 2020;8(5):e00656. doi:10.1002/prp2.656
110. Ytrehus K. The ischemic heart--experimental models. *Pharmacol Res*. 2000;42(3):193-203. doi:10.1006/phrs.2000.0669
111. Node K, Kitakaze M, Sato H, et al. Role of Intracellular Ca²⁺ in Activation of Protein Kinase C During Ischemic Preconditioning. *Circulation*. 1997;96(4):1257-1265. doi:10.1161/01.CIR.96.4.1257
112. Miyawaki H, Zhou X, Ashraf M. Calcium Preconditioning Elicits Strong Protection Against Ischemic Injury via Protein Kinase C Signaling Pathway. *Circ Res*. 1996;79(1):137-146. doi:10.1161/01.RES.79.1.137
113. Miyawaki H, Ashraf M. Ca²⁺ as a Mediator of Ischemic Preconditioning. *Circ Res*. 1997;80(6):790-799. doi:10.1161/01.RES.80.6.790

114. Bompotis GC, Deftereos S, Angelidis C, et al. Altered Calcium Handling in Reperfusion Injury. *Med Chem Shariqah United Arab Emir.* 2016;12(2):114-130. doi:10.2174/1573406411666150928112420
115. Nánási P, Gaburjakova M, Gaburjakova J, Almássy J. Omecamtiv mecarbil activates ryanodine receptors from canine cardiac but not skeletal muscle. *Eur J Pharmacol.* 2017;809:73-79. doi:10.1016/j.ejphar.2017.05.027
116. Horváth B, Szentandrassy N, Veress R, et al. Frequency-dependent effects of omecamtiv mecarbil on cell shortening of isolated canine ventricular cardiomyocytes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2017;390(12):1239-1246. doi:10.1007/s00210-017-1422-z
117. Díaz ME, Eisner DA, O'Neill SC. Depressed Ryanodine Receptor Activity Increases Variability and Duration of the Systolic Ca²⁺ Transient in Rat Ventricular Myocytes. *Circ Res.* 2002;91(7):585-593. doi:10.1161/01.RES.0000035527.53514.C2
118. Dubois M, Boulghobra D, Rochebloine G, et al. Hyperglycemia triggers RyR2-dependent alterations of mitochondrial calcium homeostasis in response to cardiac ischemia-reperfusion: Key role of DRP1 activation. *Redox Biol.* 2024;70:103044. doi:10.1016/j.redox.2024.103044
119. Di Carlo MN, Said M, Ling H, et al. Camkii-Dependent Phosphorylation of Cardiac Ryanodine Receptors Regulates Cell Death In Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury. *J Mol Cell Cardiol.* 2014;74:274-283. doi:10.1016/j.yjmcc.2014.06.004
120. Bovo E, Mazurek SR, Zima AV. Oxidation of ryanodine receptor after ischemia-reperfusion increases propensity of Ca²⁺ waves during β -adrenergic receptor stimulation. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* 2018;315(4):H1032-H1040. doi:10.1152/ajpheart.00334.2018
121. Becerra R, Román B, Di Carlo MN, et al. Reversible redox modifications of ryanodine receptor ameliorate ventricular arrhythmias in the ischemic-reperfused heart. *Am J Physiol - Heart Circ Physiol.* 2016;311(3):H713-H724. doi:10.1152/ajpheart.00142.2016
122. Szentandrassy N, Horvath B, Vaczi K, et al. Dose-dependent electrophysiological effects of the myosin activator omecamtiv mecarbil in canine ventricular cardiomyocytes. *J Physiol Pharmacol Off J Pol Physiol Soc.* 2016;67(4):483-489.
123. Ting CY, Shih CL, Yu MC, Wu CL, Wu SN. Characterization of Stimulatory Action on Voltage-Gated Na⁺ Currents Caused by Omecamtiv Mecarbil, Known to Be a Myosin Activator. *Biomedicines.* 2023;11(5):1351. doi:10.3390/biomedicines11051351
124. Baartscheer A, Schumacher CA, Wüst RCI, et al. Empagliflozin decreases myocardial cytoplasmic Na⁺ through inhibition of the cardiac Na⁺/H⁺ exchanger in rats and rabbits. *Diabetologia.* 2017;60(3):568-573. doi:10.1007/s00125-016-4134-x

125. Xiao XH, Allen DG. Role of Na⁺/H⁺ Exchanger During Ischemia and Preconditioning in the Isolated Rat Heart. *Circ Res*. 1999;85(8):723-730. doi:10.1161/01.RES.85.8.723
126. Garcia-Dorado D, González MA, Barrabés JA, et al. Prevention of ischemic rigor contracture during coronary occlusion by inhibition of Na⁽⁺⁾-H⁺ exchange. *Cardiovasc Res*. 1997;35(1):80-89. doi:10.1016/s0008-6363(97)00106-5
127. Rhoden A, Schulze T, Pietsch N, Christ T, Hansen A, Eschenhagen T. Comprehensive analyses of the inotropic compound omecamtiv mecarbil in rat and human cardiac preparations. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2022;322(3):H373-H385. doi:10.1152/ajpheart.00534.2021
128. Forbes RA, Steenbergen C, Murphy E. Diazoxide-Induced Cardioprotection Requires Signaling Through a Redox-Sensitive Mechanism. *Circ Res*. 2001;88(8):802-809. doi:10.1161/hh0801.089342
129. Penna C, Perrelli MG, Tullio F, et al. Diazoxide postconditioning induces mitochondrial protein S-nitrosylation and a redox-sensitive mitochondrial phosphorylation/translocation of RISK elements: no role for SAFE. *Basic Res Cardiol*. 2013;108(5):371. doi:10.1007/s00395-013-0371-z
130. Maslov LN, Naryzhnaya NV, Sirotina M, et al. Do reactive oxygen species damage or protect the heart in ischemia and reperfusion? Analysis on experimental and clinical data. *J Biomed Res*. 2023;37(4):268-280. doi:10.7555/JBR.36.20220261
131. Hataishi R, Rodrigues AC, Neilan TG, et al. Inhaled nitric oxide decreases infarction size and improves left ventricular function in a murine model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(1):H379-384. doi:10.1152/ajpheart.01172.2005
132. El Oumeiri B, Dewachter L, Van de Borne P, et al. Altered Left Ventricular Rat Gene Expression Induced by the Myosin Activator Omecamtiv Mecarbil. *Genes*. 2023;14(1):122. doi:10.3390/genes14010122
133. Tan M, Yin Y, Ma X, et al. Glutathione system enhancement for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress and ferroptosis. *Cell Death Dis*. 2023;14(2):1-19. doi:10.1038/s41419-023-05645-y
134. Bakkehaug JP, Kildal AB, Engstad ET, et al. Myosin Activator Omecamtiv Mecarbil Increases Myocardial Oxygen Consumption and Impairs Cardiac Efficiency Mediated by Resting Myosin ATPase Activity. *Circ Heart Fail*. 2015;8(4):766-775. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.002152
135. Shchepkin DV, Nabiev SR, Nikitina LV, et al. Myosin from the ventricle is more sensitive to omecamtiv mecarbil than myosin from the atrium. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;528(4):658-663. doi:10.1016/j.bbrc.2020.05.108
136. Squire J. Special Issue: The Actin-Myosin Interaction in Muscle: Background and Overview. *Int J Mol Sci*. 2019;20(22):5715. doi:10.3390/ijms20225715

137. Ráduly AP, Tóth A, Sárkány F, et al. Omecamtiv mecarbil augments cardiomyocyte contractile activity both at resting and systolic Ca²⁺ levels. *ESC Heart Fail.* 2023;10(2):1326-1335. doi:10.1002/ehf2.14300
138. Prodanovic M, Geeves MA, Poggesi C, Regnier M, Mijailovich SM. Effect of Myosin Isoforms on Cardiac Muscle Twitch of Mice, Rats and Humans. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1135. doi:10.3390/ijms23031135
139. Abella LMR, Höhm C, Hofmann B, Gergs U, Neumann J. Effects of omecamtiv mecarbil and mavacamten in isolated human atrium. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2023;396(3):499-511. doi:10.1007/s00210-022-02333-0
140. Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, et al. Cardiac Myosin Activation with Omecamtiv Mecarbil in Systolic Heart Failure. *N Engl J Med.* 2021;384(2):105-116. doi:10.1056/NEJMoa2025797
141. Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of Cardiovascular Risk Factors with Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury, Preconditioning, and Postconditioning. *Pharmacol Rev.* 2007;59(4):418-458. doi:10.1124/pr.107.06002
142. Wagner C, Ebner B, Tillack D, Strasser RH, Weinbrenner C. Cardioprotection by Ischemic Postconditioning Is Abrogated in Hypertrophied Myocardium of Spontaneously Hypertensive Rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2013;61(1):35. doi:10.1097/FJC.0b013e3182760c4d
143. Bosch L, de Haan JJ, Bastemeijer M, et al. The transverse aortic constriction heart failure animal model: a systematic review and meta-analysis. *Heart Fail Rev.* 2021;26(6):1515-1524. doi:10.1007/s10741-020-09960-w
144. Schneider N. *Endotheliale Dysfunktion am isoliert perfundierten Herzen nach Langendorff - Etablierung eines Modells zur kontrollierten Endothelschädigung ex vivo.* Dissertation. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; 2024.
145. Guest PC. Characterization of the Goto-Kakizaki (GK) Rat Model of Type 2 Diabetes. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2019;1916:203-211. doi:10.1007/978-1-4939-8994-2_19
146. Goldlust EJ, Paczynski RP, He YY, Hsu CY, Goldberg MP. Automated measurement of infarct size with scanned images of triphenyltetrazolium chloride-stained rat brains. *Stroke.* 1996;27(9):1657-1662. doi:10.1161/01.str.27.9.1657
147. Santo BA, Ciecierska SSK, Mousavi Janbeh Sarayi SM, et al. Tectonic infarct analysis: A computational tool for automated whole-brain infarct analysis from TTC-stained tissue. *Heliyon.* 2023;9(4):e14837. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e14837
148. Grieve SM, Mazhar J, Callaghan F, et al. Automated Quantification of Myocardial Salvage in a Rat Model of Ischemia–Reperfusion Injury Using 3D High-Resolution Magnetic Resonance Imaging (MRI). *J Am Heart Assoc Cardiovasc Cerebrovasc Dis.* 2014;3(4):e000956. doi:10.1161/JAHA.114.000956
149. Geum MJ, Yu YM, Jeon J, et al. Intracoronary antithrombotic therapy during primary percutaneous coronary intervention in patients with STEMI: A systematic

- review and network meta-analysis. *Thromb Res*. 2024;233:127-134. doi:10.1016/j.thromres.2023.11.022
150. Beijnkink CWH, Woelders ECI, van Geuns RJM. No-Reflow After Primary PCI: Will Distal Intracoronary Medication Do the Trick? *Cardiovasc Revasc Med*. 2023;47:5-7. doi:10.1016/j.carrev.2022.12.002
 151. Gwag HB, Kim EK, Park TK, et al. Cardioprotective Effects of Intracoronary Morphine in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Patients Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention: A Prospective, Randomized Trial. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(4):e005426. doi:10.1161/JAHA.116.005426
 152. Chambers DJ, Fallouh HB. Cardioplegia and cardiac surgery: pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion. *Pharmacol Ther*. 2010;127(1):41-52. doi:10.1016/j.pharmthera.2010.04.001
 153. Owens AT, Desai M, Wheeler MT, et al. Mavacamten for Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy: Rationale for Clinically Guided Dose Titration to Optimize Individual Response. *J Am Heart Assoc*. 2024;13(17):e033767. doi:10.1161/JAHA.124.033767
 154. Merali S, Chiang M, Sychterz C, et al. Effect of Activated Charcoal on Mavacamten Pharmacokinetics in Healthy Participants. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2024;24(4):569-575. doi:10.1007/s40256-024-00659-z
 155. Malik FI, Morgan BP. Cardiac myosin activation part 1: From concept to clinic. *J Mol Cell Cardiol*. 2011;51(4):454-461. doi:10.1016/j.yjmcc.2011.05.006
 156. Voors AA, Tamby J, Cleland JG, et al. Effects of danicamtiv, a novel cardiac myosin activator, in heart failure with reduced ejection fraction: experimental data and clinical results from a phase 2a trial. *Eur J Heart Fail*. 2020;22(9):1649-1658. doi:10.1002/ejhf.1933
 157. Yusof L, Yellon D, Davidson S. Investigation into the role of mavacamten in myocardial ischaemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*. 2022;173:S2. doi:10.1016/j.yjmcc.2022.08.008

Danksagungen

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. Benedikt Pannen für die Möglichkeit, die vorliegende Arbeit an seiner Klinik durchführen zu können, sowie bei Prof. Dr. Dr. Ragnar Huhn-Wientgen für den Platz in seiner Arbeitsgruppe und die wissenschaftliche Betreuung dieser Arbeit.

Bei Prof. Dr. Dr. André Heinen möchte ich mich für die Mitbetreuung der Arbeit bedanken.

Bei PD Dr. Martin Ströthoff bedanke ich mich für die Betreuung im Labor, die verblindete Auswertung von Infarktgrößen, wissenschaftlichen Austausch sowie Textkorrekturen und Ratschläge.

Ebenfalls möchte ich mich bei Dr. Friederike Behmenburg für Betreuung im Labor und verblindete Auswertungen bedanken.

Ich bedanke mich bei Dr. Julia Zurmahr für ihre Unterstützung, emotionalen Beistand und Rückhalt.

Bei meiner Familie bedanke ich mich für ihre Unterstützung und Ratschläge, bei meiner Mutter für Korrekturen und wissenschaftlichen Austausch.

Bei Dr. Natalie Schneider möchte ich mich für umfangreiche Korrekturen und wissenschaftlichen Austausch bedanken.

Bei Claudia Dohle und Birgitt Berke sowie bei Prof. Dr. Inge Bauer und PD Dr. Annika Raupach möchte ich mich für Ratschläge und Hilfe im Laboralltag bedanken.

Bei Alexandra Elbakyan möchte ich mich für ihren Einsatz für frei zugängliche Wissenschaft bedanken.