Aus dem Institut für Herz- und Kreislaufphysiologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Leiter: Univ.-Prof. Dr. Axel Gödecke

Charakterisierung des myokardialen Substratmetabolismus nach Myokardinfarkt und die Beeinflussung durch IGF-1-Therapie

Dissertation

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

vorgelegt von

Eva Köster

2026

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. Dr. André Heinen

Zweitgutachterin: PD Dr. Anna Herminghaus

Für meine Eltern, die mich stets unterstützt haben.

I. Zusammenfassung

Der Myokardinfarkt gehört zu den häufigsten Todesursachen im Erwachsenenalter weltweit. Das postischämische insuffiziente Herz ist dabei durch einen veränderten Substratstoffwechsel gekennzeichnet. Studien konnten zeigen, dass die Modulation des myokardialen Substratstoffwechsels nach dem Myokardinfarkt die Herzfunktion verbessern kann. Des Weiteren wurde eine kardioprotektive Wirkung einer kurzzeitigen Gabe von *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1) nach dem akuten Myokardinfarkt nachgewiesen, wobei die zugrunde liegenden Mechanismen noch nicht geklärt sind.

In dieser Arbeit werden zum einen die Veränderungen im myokardialen Substratstoffwechsel nach einem akuten Myokardinfarkt im Zeitverlauf charakterisiert und zum anderen wird untersucht, ob IGF-1 den myokardialen Substratstoffwechsel nach einem akuten Myokardinfarkt beeinflusst.

Zur Induktion eines akuten Myokardinfarktes durchliefen Mäuse eine Operation mit einem 45-minütigen Verschluss der *Left anterior descending artery* (LAD) mit anschließender Reperfusion. Die IGF-1-Versuchsgruppen erhielten einen subkutanen IGF-1-Bolus, gefolgt von einer kontinuierlichen, dreitägigen Applikation von IGF-1 über eine subkutan implantierte mikroosmotische Pumpe. Es wurden zu unterschiedlichen Messzeitpunkten nach der Operation Gewebestanzen aus Gewebeschnitten des Septums der Mäuseherzen hergestellt und die Sauerstoffverbrauchsraten mittels *extracellular flux analysis* nach Gabe verschiedener Substanzen und Inhibitoren, die den Stoffwechsel beeinflussen, gemessen.

In der Akutphase nach dem Myokardinfarkt konnte ein gesteigerter Fettsäuremetabolismus festgestellt werden, während dieser in der chronischen Phase abnahm. Veränderungen im Glukosemetabolismus wurden nicht beobachtet. Die kurzzeitige IGF-1-Gabe in den ersten drei Tagen nach dem akuten Myokardinfarkt führte in der chronischen Phase zu einer ausgeprägten Steigerung des Fettsäuremetabolismus, während kein Einfluss auf den Glukosemetabolismus festgestellt werden konnte.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie ausgeprägte substrat- und zeitabhängige Veränderungen des myokardialen Substratmetabolismus nach einem akuten Myokardinfarkt. Eine langfristige IGF-1-Therapie führt zu einer Normalisierung des im chronischen Verlauf reduzierten Fettsäuremetabolismus.

II. Summary

The myocardial infarction is one of the leading causes of death for adults worldwide. The post-ischemic insufficient heart is characterized by altered substrate metabolism. Studies have shown that the modulation of myocardial substrate metabolism after myocardial infarction can improve cardiac function. Furthermore, a cardioprotective effect of short-term insulin-like growth factor 1 (IGF-1) administration after acute myocardial infarction has been demonstrated, but the underlying mechanisms are not fully understood.

In this study, alterations in myocardial substrate metabolism after acute myocardial infarction will be characterized in time course. Moreover, it is investigated whether IGF-1 affects myocardial substrate metabolism after acute myocardial infarction.

For induction of acute myocardial infarction, mice underwent surgery with a 45-minute occlusion of the left anterior descending artery (LAD) followed by reperfusion. The IGF-1 experimental groups received a subcutaneous IGF-1 bolus followed by a continuous 3-day application of IGF-1 administered via an s.c. implanted microosmotic pump. Tissue punches were prepared from fresh tissue slices of the septum of mouse hearts, and oxygen consumption rates were measured by extracellular flux analysis after administration of various substances and inhibitors affecting metabolism at different measurement time points after surgery.

Increased fatty acid metabolism was detected in the acute phase after myocardial infarction, whereas the rate of fatty acid metabolism decreased in the chronic phase. Changes in glucose metabolism were not observed. Short-term IGF-1 administration in the first three days after acute myocardial infarction led to a remarkable increase in fatty acid metabolism in the chronic phase, whereas no effect on glucose metabolism was detected.

In summary, the results of this study show pronounced substrate- and time-dependent changes in myocardial substrate metabolism after acute myocardial infarction. Long-term IGF-1 therapy leads to a normalization of fatty acid metabolism, which is reduced in the chronic course of the disease.

Abkürzungsverzeichnis

ADP ..... Adenosindiphosphat

AMP ..... Adenosinmonophosphat

ATP ..... Adenosintriphosphat

BDM ..... *2,3-Butanedione monoxime*

BSA ..... Bovines Serumalbumin

$CaCl_2$ ..... Calciumchlorid

cAMP ..... zyklisches Adenosinmonophosphat

CPT1 ..... Carnitin-Palmitoyltransferase-1

DMEM ..... *Dulbecco's modified eagle medium*

DMSO ..... Dimethylsulfoxid

EKG ..... Elektrokardiogramm

Eto ..... Etomoxir

FBPase2 ..... Fructose-2,6-Bisphosphatase

FCCP ..... *Carbonylcyanide-p-trifluoromethoxyphenylhydrazone*

GH ..... *Growth-Hormone*

GHRH ..... *Growth-Hormone-Releasing-Hormone*

GLUT ..... Glukosetransporter

I/R ..... Ischämie/Reperfusion

IGF-1 ..... *Insulin-like growth factor 1*

IGF-1R IGF-1-Rezeptor

IRS ..... Insulinrezeptorsubstrat

KCl ..... Kaliumchlorid

KG ..... Körpergewicht

KH_2PO_4 ..... Kaliumdihydrogenphosphat

LAD ..... *Left anterior descendig artery*

MAPK ..... mitogen-aktivierte Proteinkinase

MCAD ..... Medium-Chain-Acyl-CoA-Dehydrogenase

MgCl ..... Magnesiumchlorid

Na_2HPO_4 ..... Dinatriumhydrogenphosphat

NaCl ..... Natriumchlorid

$NaHCO_3$ ..... Natriumhydrogencarbonat

OCR ..... *Oxygen consumption rate*

PBS ..... Phosphatgepufferte Salzlösung

PFK-1 ..... Phosphofructokinase-1

PFK-2 ..... Phosphofructokinase-2

PFK2/FBPase2 ..... Phosphofructokinase-2/Fructose-2,6-Bisphosphatase

PFKFB Phosphofructokinase-2/Fructose-2,6-Bisphosphatase

PI3K Phosphatidyl-Inositol-3-Kinase

PPARα ..... *peroxisome proliferator activated receptor alpha*

Rot/AA ..... Rotenon und Antimycin A

s.c. ..... Subkutan

Die Standardeinheiten des SI-Systems wurden nicht aufgenommen. Fremdsprachige Begriffe sind kursiv dargestellt.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

1.1 Myokardinfarkt 1

1.1.1 Epidemiologie 1

1.1.2 Pathophysiologie und Risikofaktoren 1

1.1.3 Komplikationen nach Myokardinfarkt 2

1.1.4 Diagnostik und Therapie des akuten Myokardinfarktes 2

1.2 Myokardialer Substratmetabolismus 3

1.2.1 Fettsäuremetabolismus 4

1.2.2 Glukosemetabolismus 5

1.2.3 Endoxidation – Atmungskette und oxidative Phosphorylierung 8

1.3 Veränderungen im kardialen Substratmetabolismus unter pathologischen Konditionen 10

1.3.1 Veränderungen im Fettsäuremetabolismus 11

1.3.2 Veränderungen im Glukosemetabolismus 11

1.3.3 Fazit 13

1.3.4 Therapeutische Ansätze 13

1.3.5 Die kardioprotektive Wirkung von IGF-1 14

1.4 IGF-1 15

1.4.1 Physiologie und Synthese 15

1.4.2 Rezeptor und Signalkaskade 16

1.5 Ziele der Arbeit 17

2 Material und Methoden 18

2.1 Material 18

2.1.1 Laborutensilien 18

2.1.2 Puffer und Lösungen 18

2.1.3 Chemikalien 19

2.1.4 Kits und Assays 20

2.1.5 Geräte 20

2.1.6 Software 21

2.1.7 Versuchstiere 21

2.2 Methodik 21

2.2.1 Operative Ischämie-Induktion 23

2.2.2 Gewebeentnahme und Aufbereitung 24

2.2.3 Extracellular Flux Analyzer 25

2.2.4 Durchführung der Messungen ... 28
2.2.5 Statistische Auswertung ... 29

3 Ergebnisse ... 31

3.1 Die Sauerstoffverbrauchsrate im Zeitverlauf ... 31

3.2 Veränderungen im myokardialen Fettsäure- und Glukosemetabolismus im Zeitverlauf ... 34

3.3 Der Einfluss von IGF-1 auf die Sauerstoffverbrauchsrate ... 35

3.4 Der Einfluss von IGF-1 auf den Fettsäure- und Glukosemetabolismus ... 37

4 Diskussion ... 38

4.1 Veränderungen im myokardialen Fettsäuremetabolismus ... 38

4.2 Veränderungen im myokardialen Glukosemetabolismus ... 39

4.3 Die Beeinflussung des myokardialen Substratmetabolismus durch IGF-1 ... 41

4.4 Methodenkritik ... 44

4.5 Schlussfolgerungen ... 46

5 Literatur- & Quellenverzeichnis ... 47

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Laborutensilien 18
Tabelle 2: Zusammensetzung der Puffer und Lösungen 19
Tabelle 3: Chemikalien 20
Tabelle 4: Kits und Assays 20
Tabelle 5: Geräte 21
Tabelle 6: Software 21

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Übersicht über den Fettsäuremetabolismus. 5
Abb. 2: Der Glukoseabbau im Überblick. 6
Abb. 3: Regulation der Glykolyse durch Fructose-2,6-Bisphosphat. 8
Abb. 4: Übersicht der Atmungskette. 9
Abb. 5: Insulin und IGF-Rezeptoren. 17
Abb. 7: Versuchsprotokoll. 23
Abb. 8: Experimentelles Protokoll. 26
Abb. 9: Inhibierung der Stoffwechselwege. 27
Abb. 10: Plattenbelegungsblatt. 29
Abb. 11: Sauerstoffverbrauchsraten Sham vs. I/R. 33
Abb. 12: Effekt der CPT1- bzw. MPC-Inhibierung Sham vs. I/R. 34
Abb. 13: Sauerstoffverbrauchsrate I/R vs. I/R + IGF-1 36
Abb. 14: Effekte der CPT1- bzw. MPC-Inhibierung I/R vs. I/R + IGF-1. 37

1 Einleitung

1.1 Myokardinfarkt

1.1.1 Epidemiologie

Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursachen mit etwa 40 % den größten Anteil aller Sterbefälle (1). So gehört der Myokardinfarkt, der zu den Herz-Kreislauf-Erkrankungen zählt, zu den häufigsten Todesursachen im Erwachsenenalter weltweit. Bereits am ersten Postinfarkttag versterben ca. 40 % der Patienten. Insgesamt versterben in den ersten vier Wochen die Hälfte aller Infarktpatienten. Nach Krankenhausentlassung versterben weitere 5–10 % aller Infarktpatienten innerhalb der ersten zwei Jahre (2, 3).
Die 12-Monats-Prävalenz eines Myokardinfarkts in Deutschland liegt bei 3,7 % bei Frauen und 6,0 % bei Männern. Bei Personen unter 45 Jahren liegt die 12-Monats-Prävalenz noch unter 1 % und steigt ab 75 Jahren überproportional auf 16,0 % bei Frauen und 24,1 % bei Männern an (4).
Neue Erkenntnisse über die pathologischen Veränderungen nach dem Erleiden eines Myokardinfarktes könnten die Möglichkeit bieten, neue Therapiemaßnahmen zu entwickeln und die hohe Mortalität zu senken.

1.1.2 Pathophysiologie und Risikofaktoren

Der Myokardinfarkt ist definiert als ischämische Myokardnekrose, meist infolge einer koronaren Herzerkrankung mit Stenose oder Verschluss einer Koronararterie. Die häufigste Ursache des akuten Myokardinfarktes ist die Erosion oder Ruptur eines atherosklerotisch instabilen Koronarplaques mit nachfolgender Thrombosierung und Gefäßokklusion. Durch den verursachten Endothelschaden kommt es zu einer Aktivierung der Gerinnungskaskade mit Freisetzung von Thrombin. Thrombin führt zur Bildung von Fibrinmonomeren, die durch Quervernetzung einen unlöslichen Fibrinthrombus bilden. Die Minderversorgung der Herzmuskulatur mit Sauerstoff durch die gestörte Mikrozirkulation führt zur Nekrose der Myokardzellen (5). Andere Ursachen eines Infarktes können ein Koronarspasmus, eine Embolie oder eine Koronararteriendissektion sein (6).

Zu den Risikofaktoren für eine koronare Herzerkrankung gehören das zunehmende Alter, das männliche Geschlecht, erbliche Faktoren, Zigarettenrauchen, Bluthochdruck, Adipositas, Störungen des Fettstoffwechsels und Diabetes mellitus (7).

1.1.3 Komplikationen nach Myokardinfarkt

Nach einem akuten Myokardinfarkt können verschiedene Komplikationen auftreten, die wesentlich zur hohen Mortalität beitragen. Frühkomplikationen treten innerhalb der ersten 48 Stunden auf und umfassen den plötzlichen Herztod, Herzrhythmusstörungen, die akute Linksherzinsuffizienz mit Ausbildung eines Lungenödems sowie den kardiogenen Schock. Spätkomplikationen treten erst nach 48 Stunden auf und umfassen die Ausbildung eines Herzwandaneurysmas, die Herzinsuffizienz, die Frühperikarditis, sowie Embolien und Arrhythmien (2, 8)

1.1.4 Diagnostik und Therapie des akuten Myokardinfarktes

Die Diagnose des akuten Myokardinfarktes kann bei Nachweis eines akuten Myokardschadens sowie dem gleichzeitigen Vorliegen klinischer Zeichen einer myokardialen Ischämie gestellt werden. Der Nachweis eines akuten Myokardschadens erfolgt laborchemisch durch eine Erhöhung des Troponins über die 99. Perzentile des oberen Referenzwertes hinaus, wobei zusätzlich ein dynamischer Verlauf des Troponins beobachtet werden muss. Zusätzlich zu einer Erhöhung und Dynamik des Troponinspiegels muss als Zeichen einer myokardialen Ischämie mindestens eine der folgenden Bedingungen erfüllt sein: Symptome einer myokardialen Ischämie (zum Beispiel ein akut einsetzender, retrosternaler Schmerz, gegebenenfalls mit Ausstrahlung in den linken Arm oder in das Epigastrium), neu aufgetretene ischämische Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG) (ST-Hebungen oder pathologische Q-Wellen), der bildgebende Nachweis eines Myokardschadens oder einer neuen Wandbewegungsanomalie sowie der Nachweis eines Koronarthrombus durch eine Angiographie.

Anhand des EKG-Befundes unterscheidet man zwischen dem ST-Hebungs-Myokardinfarkt (STEMI) und dem Nicht-ST-Hebungs-Myokardinfarkt (NSTEMI) (3). Diese Unterscheidung hat direkte therapeutische Konsequenzen. Grundsätzlich besteht das vorrangige Therapieziel in einer schnellstmöglichen Wiederherstellung der Perfusion,

um die Ausdehnung des Infarktareals zu begrenzen (9). Die Größe des nekrotischen Areals stellt neben dem Auftreten eines Herz-Kreislauf-Stillstandes einen der entscheidenden Faktoren der Mortalität dar.
Zeigt sich im EKG ein STEMI, sollte eine rasche Reperfusion durch eine primäre perkutane Koronarintervention erfolgen (10). Kann diese nicht innerhalb von 120 Minuten nach Diagnosestellung erfolgen, sollte eine medikamentöse Fibrinolyse eingeleitet werden (11).
Handelt es sich hingegen um einen NSTEMI, sollte früh-elektiv innerhalb von 72 Stunden eine Koronarangiografie durchgeführt werden. Je nach angiographischem Befund kann auch bei Vorliegen eines NSTEMI eine primäre perkutane Koronarintervention oder eine aortokoronare Bypass-Operation erfolgen (8, 12).

1.2 Myokardialer Substratmetabolismus

Der Energiebedarf des Herzens wird hauptsächlich durch Adenosintriphosphat (ATP) gedeckt, wobei die ATP-Reserve des Herzmuskels gering ist (4-5 μmol/g Gewebe) und nur für wenige Sekunden ausreicht (13-15). Über 95 % des ATP entstehen im Herzmuskel durch die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien, die etwa ein Drittel des kardiomyozytären Zellvolumens ausmachen (15, 16). Etwa 80 % des ATP werden für die Aktin-Myosin-Interaktion während des Kontraktionsvorgangs benötigt. Der restliche ATP-Verbrauch ist auf Ionenpumpen und zum kleinen Teil auf strukturerhaltende Prozesse, zum Beispiel Proteinsynthese, zurückzuführen (14).
Das Herz weist eine hohe metabolische Flexibilität auf und kann verschiedene Substrate zur Energiegewinnung nutzen. Die wichtigsten Substrate zur Energiegewinnung sind Fettsäuren, Glukose und Laktat. Unter physiologischen Bedingungen beträgt der Anteil der Fettsäureoxidation 60–100 %, während Glukose und Laktat jeweils etwa 0–20 % ausmachen (17). Auch Aminosäuren und Ketonkörper können als Energiesubstrate genutzt werden, spielen unter physiologischen Bedingungen jedoch eine untergeordnete Rolle (18). Welche Substrate zur Energiegewinnung genutzt werden, hängt von der Substratverfügbarkeit und regulatorischen Mechanismen ab. Zu den regulatorischen Mechanismen gehören die Anzahl der in der Zellmembran vorhandenen spezifischen

Substrattransporter und die Aktivität der Stoffwechselenzyme, die meist von den vorhandenen Substraten oder Produkten der Enzymwege abhängig ist.
Im Fokus dieser Arbeit stehen die Veränderungen des myokardialen Fett- und Glukosemetabolismus nach dem akuten Myokardinfarkt. Daher werden im Folgenden zunächst die physiologischen Grundlagen beider Stoffwechselwege einschließlich ihrer Regulation erläutert.

1.2.1 Fettsäuremetabolismus

Das Herz gewinnt das meiste ATP durch die Oxidation von Fettsäuren in der mitochondrialen Matrix (13, 15). Der Anteil der Fettsäureoxidation an der gesamten ATP-Gewinnung ist flexibel und wird durch Faktoren wie die Fettsäureaufnahme, die Substrat- und Sauerstoffverfügbarkeit, die mitochondriale Funktion sowie den Energiebedarf des Herzens bestimmt (15).
Die Aufnahme von freien Fettsäuren in die Kardiomyozyten erfolgt durch passive Diffusion oder durch proteinvermittelten Transport (19). Im Zytosol werden Fettsäuren durch die Acyl-CoA-Synthetase zum aktiven Acyl-CoA umgewandelt. Der Transport in die Mitochondrien erfolgt über das Carnitin-Shuttle-System: Die Carnitin-Palmitoyltransferase 1 (CPT1), ein integrales Protein der äußeren Mitochondrienmembran, katalysiert die Umesterung zu Acylcarnitin, das durch die Carnitin-Acylcarnitin-Translokase in die mitochondriale Matrix gelangt (16, 18, 19). Dort stellt die Carnitin-Palmitoyltransferase 2 (CPT2) das Acyl-CoA zur β-Oxidation wieder her (20).
Das Acyl-CoA wird anschließend in der β-Oxidation abgebaut (21). Dabei entstehen die Reduktionsäquivalente $FADH_2$ und $NADH + H^+$, die in der Atmungskette oxidiert und zur ATP-Synthese genutzt werden (22). Die Fettsäureoxidation ist im Vergleich zur Glukoseoxidation mit einem höheren Sauerstoffverbrauch pro ATP-Molekül verbunden und damit energetisch weniger effizient (23, 24).
CPT1 reguliert den Fettsäuretransport in die Mitochondrien und stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt im Fettsäureabbau dar. Inhibiert wird CPT1 unter anderem durch Malonyl-CoA, wodurch eine gleichzeitige Lipogenese und ein Fettsäureabbau verhindert werden (18). Treten hohe Spiegel langkettiger Fettsäuren auf, wird die Expression der CPT1 durch die Aktivierung des ligandenaktivierten Transkriptionsfaktor PPARα (*peroxisome proliferator activated receptor alpha*)

gesteigert (25). Schilddrüsenhormone induzieren ebenfalls die Expression von CPT1 (24).

Ein Überblick über den Fettsäuremetabolismus ist in Abb. 1 dargestellt.

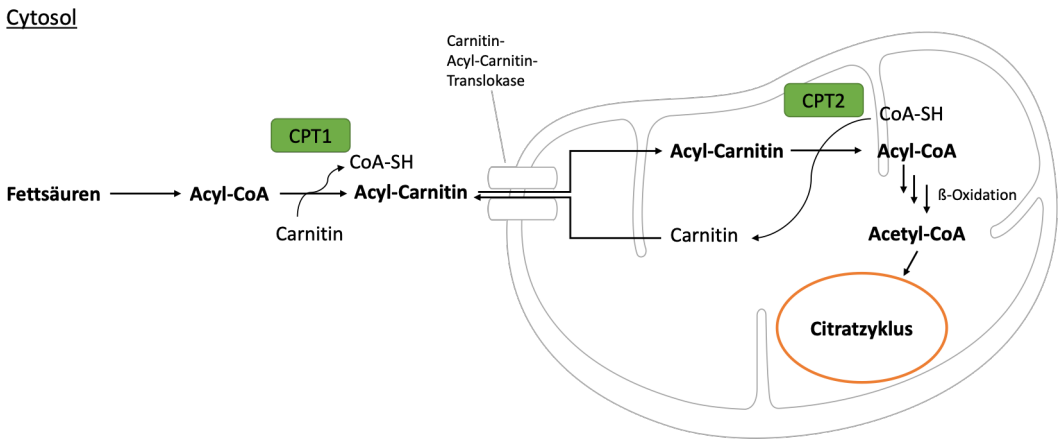


Abb. 1: Übersicht über den Fettsäuremetabolismus. Fettsäuren werden im ersten Schritt in Acyl-CoA umgewandelt. Die Carnitin-Palmitoyltransferase-1 (CPT1) katalysiert die Bildung von Acyl-Carnitin, das anschließend mithilfe der Carnitin-Acyl-Carnitin-Translokase in die Mitochondrienmatrix transportiert wird. Die Carnitin-Palmitoyltransferase 2 (CPT2) regeneriert Acyl-CoA, das die Reaktionen der β-Oxidation durchläuft. Acetyl-CoA entsteht und wird in den Citratzyklus eingeschleust. (Angelehnt an Heinrich et al. (2014). Die Abbildung enthält modifizierte Elemente von *Servier Medical Art,* lizenziert unter der *Creative Commons Attribution 3.0 Unported License*. https://smart.servier.com.).

1.2.2 Glukosemetabolismus

Die Glukoseaufnahme in die Zelle erfolgt durch spezifische Glukosetransporter (GLUT). Im Myokard dient neben GLUT-1 insbesondere die insulinregulierte Isoform GLUT-4 der Glukoseaufnahme. Insulin stimuliert die Translokation von GLUT-4 in die Plasmamembran und erhöht so die Glukoseaufnahme. Nach der Aufnahme katalysiert die Hexokinase die Phosphorylierung von Glukose zu Glukose-6-Phosphat, das anschließend als Glykogen gespeichert oder zur weiteren Energiegewinnung abgebaut werden kann. In der Glykolyse wird Glukose in zehn Schritten zu Pyruvat abgebaut, wodurch zwei Moleküle ATP und zwei Reduktionsäquivalente NADH + H^+ gewonnen werden (17, 19).

Die Weiterverwertung des Pyruvats ist abhängig von der Sauerstoffverfügbarkeit.

Unter aeroben Bedingungen wird Pyruvat im Mitochondrium zu Acetyl-CoA abgebaut. Dazu muss das Pyruvat aus dem Zytosol zunächst mithilfe eines Pyruvat-Carriers in die mitochondriale Matrix transportiert werden. Dort wandelt die Pyruvat-Dehydrogenase (PDH) das Pyruvat zu Acetyl-CoA um, welches anschließend in den Citratzyklus

eingeschleust wird. Im Citratzyklus wird Acetyl-CoA zu Kohlenstoffdioxid oxidiert, wobei die Reduktionsäquivalente $FADH_2$ und $NADH + H^+$ entstehen. Diese werden in der Atmungskette unter Sauerstoffverbrauch oxidiert (14, 18) und ermöglichen die Synthese von bis zu 32 Molekülen ATP pro Molekül Glukose (19, 26).
Unter anaeroben Bedingungen erfolgt die Reduktion von Pyruvat zu Laktat zur Regeneration von NAD^+. Bei diesem anaeroben Stoffwechselweg werden zwei Laktatmoleküle und zwei Moleküle ATP pro Glukose gebildet (19, 26).

Glukose ist unter aeroben Bedingungen hinsichtlich der ATP-Produktion das energieeffizienteste Substrat des Myokards, da das Phosphat/Sauerstoff-Verhältnis von Glukose im Vergleich zur Fettsäureoxidation, bei der mehr Sauerstoff für die gleiche Menge ATP benötigt wird, größer ist (16, 19, 27). Ein Überblick über den Glukoseabbau ist in Abb. 2 dargestellt.

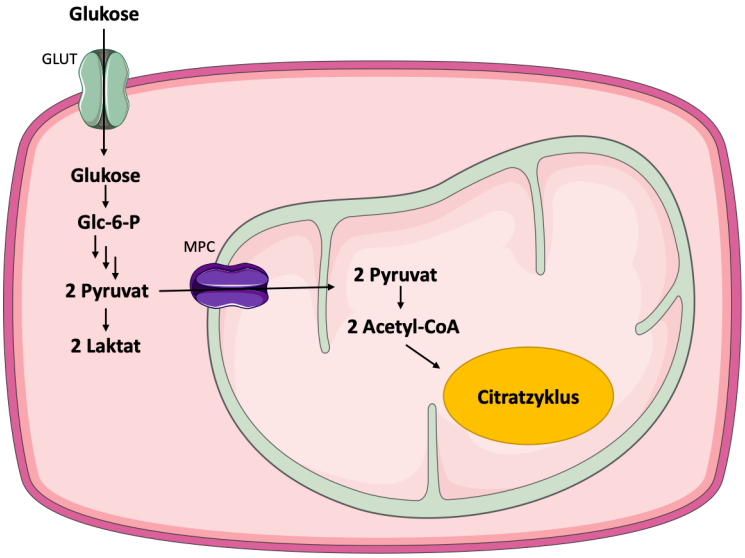


Abb. 2: Der Glukoseabbau im Überblick. Dargestellt ist zunächst die Aufnahme der Glukose durch einen Glukose-Transporter (GLUT). Nach Phosphorylierung der Glukose zu Glukose-6-Phosphat (Glc-6-P) werden die Reaktionen der Glykolyse bis zur Entstehung von Pyruvat durchlaufen. Unter anaeroben Bedingungen wird Pyruvat zu Laktat umgewandelt. Unter aeroben Bedingungen wird Pyruvat mittels des mitochondrialen Pyruvatcarriers (MPC) in das Mitochondrium aufgenommen und in Acetyl-CoA umgeformt. Acetyl-CoA kann anschließend in den Citratzyklus eingeschleust werden. (Angelehnt an Heinrich et al. (2014). Die Abbildung enthält modifizierte Elemente von *Servier Medical Art*, lizenziert unter der *Creative Commons Attribution 3.0 Unported License*. https://smart.servier.com.).

Die Geschwindigkeit der Glykolyse wird von der allgemeinen Stoffwechselsituation bestimmt und durch allosterische sowie hormonelle Einflüsse auf zentrale Enzyme wie die Hexokinase, Phosphofructokinase-1(PFK-1) und Pyruvatkinase reguliert. Es handelt sich um Schlüsselenzyme, da sie irreversible Reaktionen der Glykolyse katalysieren und zentrale Regulationspunkte darstellen (26).

Bei der allosterischen Regulation wird die Enzymaktivität durch Proteinkonformationsänderungen durch die Anlagerung von Effektoren beeinflusst.
So wird die Hexokinase durch deren Produkt Glukose-6-Phosphat allosterisch inhibiert, um die Anhäufung von Glukose-6-Phosphat bei gedecktem Energiebedarf zu vermeiden. Eine allosterische Regulation findet auch über die PFK-1 statt, die als Sensor für den Energiebedarf der Zelle dient. Bei hohen Konzentrationen nachgeschalteter Glykolyse-Metabolite (z.B. Citrat) oder einem hohen ATP-Spiegel wird die PFK-1 gehemmt und die Glykolyse verlangsamt. Demgegenüber wird bei hohen Konzentrationen von Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosinmonophosphat (AMP), die als Indikatoren für einen hohen Energiebedarf stehen, die PFK-1 aktiviert und die Glykolyse beschleunigt (28, 29).
Des Weiteren ist Fructose-2,6-bisphosphat, welches durch die Phosphofructokinase-2 (PFK-2) gebildet wird, ein allosterischer Aktivator der PFK-1 (siehe Abb. 3). Die PFK-2 bildet zusammen mit der Fructose-2,6-bisphosphatase (FBPase2), die die entgegengerichtete Reaktion katalysiert, ein bifunktionelles Enzym (PFK-2/FBPase2). Die Aktivität dieses Enzyms wird durch zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) reguliert, das intrazelluläre Signale von Glukagon und Adrenalin vermittelt. In der Leber hemmt ein Anstieg von cAMP die Glykolyse durch Aktivierung der Phosphatdomäne. Im Myokard hingegen führen steigende cAMP-Spiegel zur Aktivierung der Kinasedomäne, wodurch die Glykolyse aktiviert wird. Somit lösen Katecholamine als Stresshormone in der Leber eine Mobilisation von Glukose, jedoch im Myokard eine Beschleunigung des Glukoseabbaus infolge des erhöhten Energiebedarfs aus (24, 30).

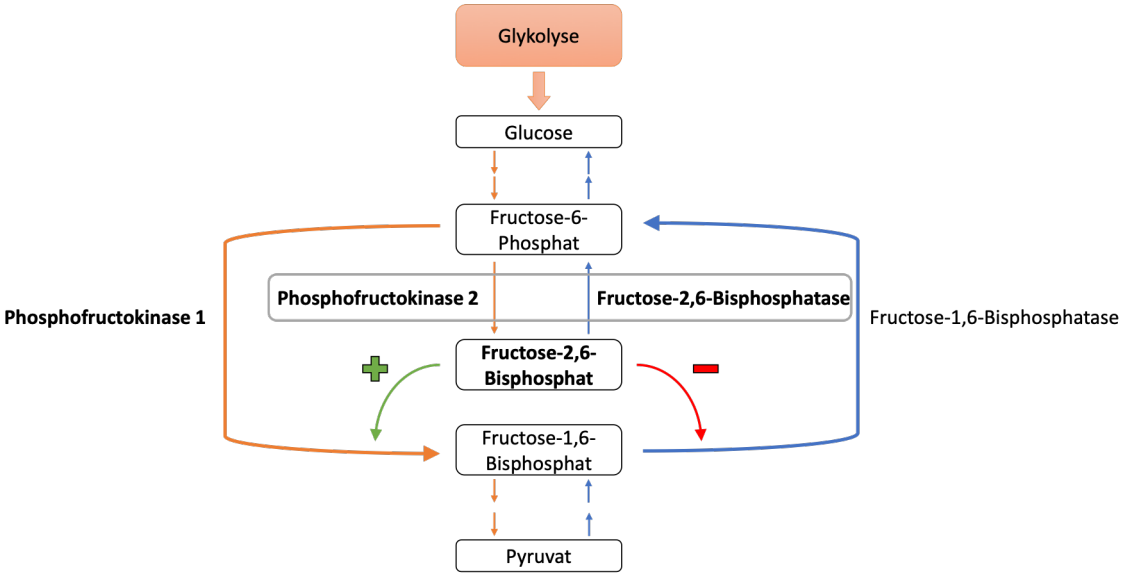


Abb. 3: Regulation der Glykolyse durch Fructose-2,6-Bisphosphat. Fructose-2,6-Bisphosphat aktiviert die Phosphofructokinase 1 und fördert somit die Glykolyse. Gebildet wird Fructose-2,6-Bisphosphat durch die Phosphofructokinase 2, die mit der Fructose-2,6-Bisphosphatase ein Tandemenzym bildet. Die Fructose-2,6-Bisphosphatase katalysiert die entgegengerichtete Reaktion.

Hormonell fördert Insulin die Glykolyse durch Transkriptionssteigerung glykolytischer Enzyme. Antagonistisch zu Insulin wirkt das katabole Peptidhormon Glukagon, indem es die Gentranskription der Enzyme der Glykolyse inhibiert und infolgedessen zu einer Reduktion der Glykolyse führt (29).

1.2.3 Endoxidation – Atmungskette und oxidative Phosphorylierung

In der Atmungskette kann durch die freiwerdende Energie, die durch die Oxidation der Reduktionsäquivalente entsteht, ATP synthetisiert werden. Die Atmungskette ist in der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert und wird durch folgende vier Proteinkomplexe gebildet: NADH:Ubichinon-Oxidoreduktase (I), Succinat:Ubichinon-Oxidoreduktase (II), Ubihydrochinon:Cytochrom-c-Oxidoreduktase (III) und Cytochrom-c-Oxidase (IV) (siehe Abb. 4). Die Komplexe übertragen die Elektronen der Reduktionsäquivalente NADH und $FADH_2$, die aus den verschiedenen katabolen Stoffwechselwegen stammen, schrittweise auf Sauerstoff. Die dabei freiwerdende Energie wird von Komplex I, III und IV genutzt, um Protonen aus der Mitochondrienmatrix in den Intermembranraum zu pumpen, wodurch ein Protonengradient über die innere Mitochondrienmembran aufgebaut wird (24).

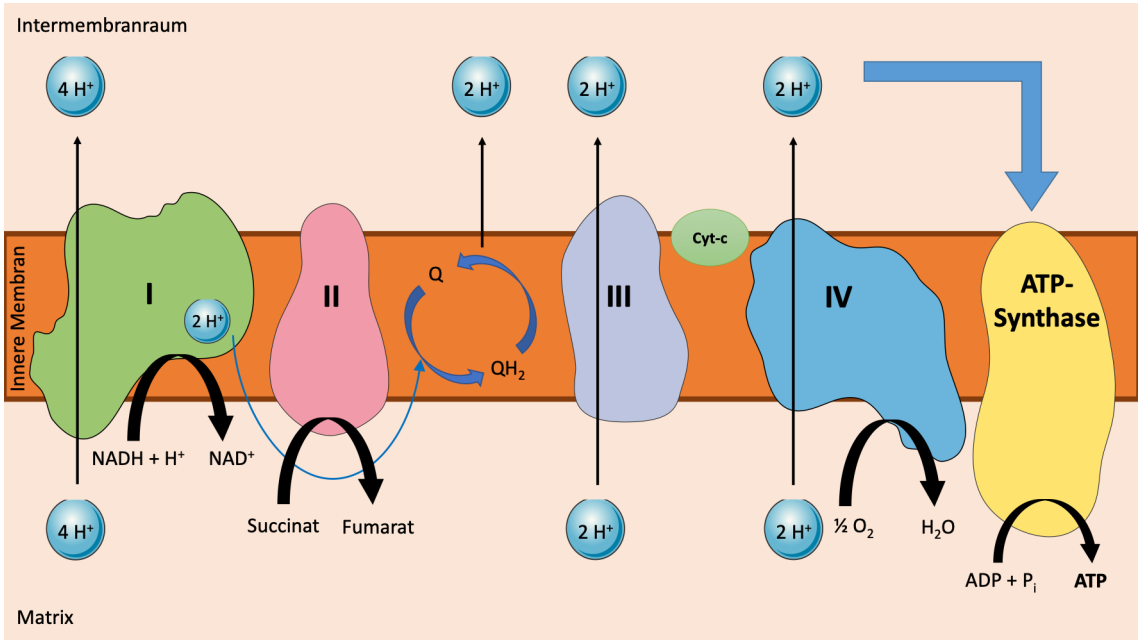


Abb. 4: Übersicht der Atmungskette. Dargestellt ist eine vereinfachte Übersicht über die Komplexe der Atmungskette. Der Elektronentransport ist nicht dargestellt. Komplex I oxidiert NADH + H^+ zu NAD^+. Dabei werden vier Protonen in den Intermembranraum gepumpt. Komplex II oxidiert Succinat zu Fumarat. Die Elektronen aus Komplex I und II werden auf Ubichinon (Q) übertragen. Es werden zwei Protonen von Ubihydrochinon (QH_2) in den Intermembranraum abgegeben. Komplex III pumpt zwei weitere Protonen in den Intermembranraum. Komplex IV pumpt zwei H^+ in den Intermembranraum und überträgt zwei Elektronen und zwei H^+ auf Sauerstoff, wodurch H_2O entsteht. Durch den Protonenkanal der ATP-Synthase fließen die Protonen in die Matrix zurück und die freiwerdende Energie kann zur ATP-Synthese genutzt werden. (Angelehnt an Heinrich et al. (2014). Die Abbildung enthält modifizierte Elemente von *Servier Medical Art*, lizenziert unter der *Creative Commons Attribution 3.0 Unported License*. https://smart.servier.com.).

Wichtig für die Elektronenübertragung zwischen den Komplexen sind Cytochrom c (Cyt-c) und Ubichinon. Das Protein Cytochrom c trägt ein kovalent gebundenes Häm-c-Zentrum. Das Eisenatom der Häm-Gruppe kann durch den Redoxwechsel zwischen Fe^{3+} und Fe^{2+} ein Elektron aufnehmen oder abgeben, und ermöglicht so die Elektronenübertragung von Komplex III auf Komplex IV. Das Ubichinon kann durch den Wechsel zwischen der oxidierten Chinon- und der reduzierten Hydrochinonform zwei Elektronen aufnehmen oder abgeben. Diese Redoxreaktion des Ubichinons nutzt Komplex III zur Protonentranslokation, da bei Elektronenaufnahme ebenfalls zwei Protonen zur Ladungskompensation aufgenommen werden. Das Ubichinon kann frei in der inneren Mitochondrienmembran diffundieren und überträgt Elektronen aller Dehydrogenasen auf Komplex III (31).

Mithilfe der vier Komplexe der Atmungskette findet ein Elektronenfluss statt, der die Energie für die Protonenpumpen liefert.

Der Komplex I der Atmungskette oxidiert NADH + H^+ und reduziert Ubichinon. Die freiwerdende Reduktions-Oxidations-Energie kann zum Transport von vier Protonen aus der Matrix in den Intermembranraum des Mitochondriums genutzt werden. Der Komplex II überträgt die Elektronen des $FADH_2$ auf Ubichinon. Der Komplex III reoxidiert Ubihydrochinon, indem er zwei Elektronen auf zwei Moleküle Cytochrom c überträgt. Für jeden Elektronentransfer von zwei Elektronen werden zwei Protonen in den Intermembranraum transportiert. Zusätzlich gibt Ubichinol zwei Protonen in den Intermembranraum ab, sodass insgesamt vier Protonen freigesetzt werden. Der Komplex IV reduziert Sauerstoff zu Wasser und transportiert zusätzlich zwei Protonen pro Sauerstoffatom. Insgesamt werden pro oxidiertem NADH + H^+ zehn Protonen in den Intermembranraum transportiert (32).

Unter oxidativer Phosphorylierung versteht man die Synthese von ATP durch die Nutzung der Energie, die durch den Ausgleich der elektrochemischen Potenzialdifferenz zwischen Intermembranraum und Mitochondrienmatrix zustande kommt. Die ATP-Synthase bildet ATP an der inneren Mitochondrienmembran. Eine Untereinheit der ATP-Synthase bildet einen Protonenkanal, durch den die Protonen zurück in die Mitochondrienmatrix fließen. Die durch diesen Protonengradienten entstehende Energie wird zur ATP-Synthese genutzt.
Die Geschwindigkeit der oxidativen Phosphorylierung wird durch das Substratangebot sowie die Verfügbarkeit von Reduktionsäquivalenten, Sauerstoff, ADP und Phosphat bestimmt (22, 24).

1.3 Veränderungen im kardialen Substratmetabolismus unter pathologischen Konditionen

Das insuffiziente Herz ist durch einen veränderten Energiestoffwechsel gekennzeichnet (33-35). Sowohl bei der ischämischen als auch bei der nichtischämischen Herzinsuffizienz tragen Veränderungen im mitochondrialen Energiestoffwechsel des Herzens zu einer kontraktilen Dysfunktion und einem Rückgang der kardialen Effizienz bei (13, 27, 34-36). In tierexperimentellen Studien wurde ein Energiedefizit beobachtet, das nicht allein durch eine verringerte ATP-Produktion erklärbar ist, sondern zusätzlich

auf eine ineffiziente Nutzung der Energie für mechanische Funktionen hinweist (37). Neben einem eingeschränkten mitochondrialen oxidativen Stoffwechsel sind Veränderungen des myokardialen Substratmetabolismus relevant. Eine Verschiebung hin zur vermehrten Nutzung von Substraten mit erhöhtem Sauerstoffverbrauch pro gebildetem ATP ist mit einer verminderten metabolischen Effizienz assoziiert (18). Insgesamt zeigen Studien unterschiedliche und teils widersprüchliche Ergebnisse zu Veränderungen im Substratmetabolismus bei der Herzinsuffizienz, sodass Art und Ausmaß der metabolischen Veränderungen bislang nicht eindeutig geklärt sind und vermutlich von den unterschiedlichen Formen und Schweregraden der Herzinsuffizienz sowie von begleitenden Komorbiditäten abhängen (19, 27, 33, 38, 39).

1.3.1 Veränderungen im Fettsäuremetabolismus

Die Veränderungen im Fettsäuremetabolismus scheinen abhängig vom Schweregrad der Herzinsuffizienz zu sein. Im Stadium der kompensierten Myokardhypertrophie mit erhaltener systolischer Herzfunktion zeigte sich sowohl in tierexperimentellen Untersuchungen an Ratten (40) als auch in klinischen Studien mit Patienten (41) keine Veränderung der Fettsäureaufnahme oder -oxidation. Bei der fortgeschrittenen Herzinsuffizienz mit Reduktion der Ejektionsfraktion gibt es unterschiedliche Beobachtungen. Einige Studien beobachteten eine verminderte Fettsäureoxidation (34, 37, 42-47) durch Anpassung beteiligter Enzyme und Transporter (40, 48-51), während andere Studien jedoch eine gesteigerte Fettsäureaufnahme und -oxidation beobachteten (52, 53).

1.3.2 Veränderungen im Glukosemetabolismus

Es wird allgemein angenommen, dass die Glukoseaufnahme und die Bedeutung des Glukosemetabolismus bei der Herzinsuffizienz zunehmen. Diese Stoffwechselverschiebung geht nicht nur mit einer erhöhten Nutzung von Glukose einher, sondern auch mit einer Verlagerung der ATP-Gewinnung von der mitochondrialen oxidativen Phosphorylierung hin zur Glykolyse. Hierbei geht der gesteigerte Glukosestoffwechsel häufig mit einem Rückgang der Glukoseoxidation und einem Anstieg der anaeroben Glykolyse einher (16, 27).

Im Folgenden werden die unterschiedlichen Ergebnisse hinsichtlich der Glukoseaufnahme, der anaeroben Glykolyse und der Glukoseoxidation dargestellt. Hierbei wird zwischen der nichtischämischen und der ischämischen Herzinsuffizienz differenziert.

Eine erhöhte Glukoseaufnahme konnte sowohl bei der nichtischämischen als auch bei der ischämischen Herzinsuffizienz in verschiedenen Studien beobachtet werden.
Bei der nichtischämischen Herzinsuffizienz konnte sowohl bei Patienten (42, 44) als auch tierexperimentell bei Ratten (40) eine erhöhte Glukoseaufnahme beobachtet werden. Ursächlich hierfür könnte eine mit der Herzinsuffizienz erhöhte Expression von GLUT-1 sein (48).
Bei der ischämischen Herzinsuffizienz scheint die Glukoseaufnahme von der Schwere der Abnahme des Koronarflusses abhängig zu sein. So konnte in vergangenen Studien gezeigt werden, dass die Glukoseaufnahme im Falle einer leichten Ischämie (mäßige Abnahme des Koronarflusses) erhöht ist, während sie im Rahmen einer schweren Ischämie (starke Abnahme des Koronarflusses) sinkt (18, 54).

Die anaerobe Glykolyse zeigte sich sowohl bei der nichtischämischen (55, 56) als auch bei der ischämischen Herzinsuffizienz (18) gesteigert.

Hinsichtlich der Glukoseoxidation wurden verschiedene Veränderungen beobachtet. Verschiedene Studien zeigen, dass die Glukoseoxidation bei der Herzinsuffizienz von der Ursache und dem Krankheitsstadium abhängt.
Bei der nichtischämischen Herzinsuffizienz wurde in frühen oder kompensierten Stadien eine normale Glukoseoxidationsrate beobachtet (46). Mit Fortschreiten der Erkrankung und Verschlechterung der systolischen Funktion wurde in einigen Studien eine Abnahme der Glukoseoxidation festgestellt (27, 34, 35, 45, 46, 57). Es gibt jedoch auch tierexperimentelle Studien, in denen mit Fortschreiten der Erkrankung eine erhöhte Glukoseoxidationsrate beobachtet wurde (47, 55, 58).
Bei der ischämischen Herzinsuffizienz infolge eines Myokardinfarktes scheint die Glukoseoxidation unverändert bis leicht erniedrigt zu sein (35-37).

1.3.3 Fazit

Das metabolische Profil des insuffizienten Herzens ist nicht einheitlich beschrieben. Die Stoffwechselveränderungen des Herzens weisen Unterschiede zwischen ischämischer und nichtischämischer Herzinsuffizienz sowie zwischen akuten und chronischen Stadien auf (19, 39). Der Großteil der experimentellen Studien deutet darauf hin, dass das schwere Endstadium, nicht jedoch die milden bis moderaten Stadien der Herzinsuffizienz, durch einen erhöhten Glukose- und einen reduzierten Fettsäureverbrauch gekennzeichnet ist (16). Die Veränderungen des myokardialen Stoffwechsels bei der Herzinsuffizienz sind progressiv und proportional zum Grad der kardialen Beeinträchtigung (27, 36).

1.3.4 Therapeutische Ansätze

Aufgrund dieser wissenschaftlichen Erkenntnisse über die Rolle des myokardialen Substratstoffwechsels bei der Herzinsuffizienz wird die Optimierung dessen als neue Therapieoption untersucht (16). Studien zeigen, dass die Modulation des kardialen Energiestoffwechsels durch die direkte Steigerung der Glukoseoxidation oder indirekt durch die Hemmung der Fettsäureoxidation die Herzfunktion verbessern kann (17, 18, 35). Der Pyruvatdehydrogenase-Kinase-Inhibitor Dichloroacetat erhöht die Glukoseoxidation durch die Stimulation der PDH, was zu einer verbesserten postischämischen Herzfunktion führte (18, 40, 59).

Ein weiterer therapeutischer Ansatz ist die Hemmung der Fettsäureoxidation, da der Fettsäuremetabolismus im Vergleich zum Glukosemetabolismus mehr Sauerstoff für die gleiche ATP-Menge benötigt und somit weniger energieeffizient ist (16). So führten Etomoxir (60), Perhexilin (61) und Trimetazidin (62, 63) als Inhibitoren der β-Oxidation in klinischen Studien zu Verbesserungen der linksventrikulären Funktion sowie der klinischen Symptomatik.

Da in vergangenen Studien eine kardioprotektive Wirkung des *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1) gezeigt wurde, könnte eine IGF-1-Behandlung ein neuer therapeutischer Ansatz zur Verbesserung der kardialen Pumpfunktion nach einem akuten Myokardinfarkt sein, wobei allerdings unklar ist, ob der kardioprotektive Effekt über eine Modulation des myokardialen Substratmetabolismus vermittelt wird.

1.3.5 Die kardioprotektive Wirkung von IGF-1

Epidemiologische Studien zeigten eine inverse Korrelation zwischen IGF-1-Plasmaspiegeln und der Häufigkeit koronarer Herzerkrankungen (64-66), von Schlaganfällen sowie einem insgesamt erhöhten Mortalitätsrisiko (67). In einer Untersuchung der Framingham-Herz-Studie wurde zudem ein Zusammenhang zwischen niedrigen IGF-1-Spiegeln und einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Vorhofflimmern gezeigt (68).

Buerke et al. (69) zeigten bereits Mitte der 1990er Jahre in einer experimentellen Studie einen kardioprotektiven Effekt von IGF-1. In einem Ischämie-Reperfusions-Mausmodell führte die IGF-1-Gabe eine Stunde vor der Ischämie zu einer reduzierten Myokardschädigung. IGF-1 verringerte außerdem das Auftreten einer myozytären Apoptose signifikant (69). Kotlyar et al. (70) untersuchten die Wirkung von IGF-1 und IGF-2 auf einen durch Mikroembolisationen ausgelösten akuten Myokardinfarkt in einem Schweinemodell. Hierbei erfolgte die IGF-Verabreichung kontinuierlich über die Mikrobeads, die zur Mikroembolisation verwendet wurden. In den IGF-Gruppen konnte während einer vierwöchigen Nachbeobachtungszeit eine signifikante Verbesserung der Myokardfunktion im Bereich des Infarktes beobachtet werden. Die Verbesserung der Herzmuskelfunktion ging mit dem Erhalt der Herzmuskelstruktur einher (70). Bei Mäusen mit einem in den Herzmuskel integrierten Transgen für die lokal wirkende Isoform des IGF-1 (mIGF-1) konnte eine Wiederherstellung der Herzfunktion über eine Modulation der Entzündungsreaktion sowie eine verstärkte antiapoptotische Signalübertragung nachgewiesen werden (71).

In vorangegangenen Projekten des Instituts für Herz- und Kreislaufphysiologie wurde nachgewiesen, dass eine kurzzeitige Therapie mit IGF-1 über drei Tage nach einem akuten Myokardinfarkt bei Mäusen zu einem Erhalt der kardialen Pumpfunktion führte, was mit einer Reduktion der Infarktnarbengröße und einer gesteigerten Angiogenese einherging. Die Verbesserung der Herzfunktion durch IGF-1 wurde durch die deutlich höhere Ejektionsfraktion in den IGF-1 behandelten Versuchsmäusen gezeigt. Die Verbesserung der funktionellen Parameter wurde sowohl in der ersten als auch in der vierten Woche nach dem Myokardinfarkt nachgewiesen. Insgesamt führte die kurzzeitige Behandlung mit IGF-1 in der subakuten Phase nach Myokardinfarkt zu einer anhaltenden Verbesserung der linksventrikulären Funktion (72). Gleiches ergab die experimentelle Studie von O'Sullivan et al. (73), bei der die intrakoronare Verabreichung von niedrig

dosiertem IGF-1 zwei Stunden nach der Reperfusionsphase im I/R Schweinemodell zeigte, dass der Zelltod der Kardiomyozyten abgeschwächt, die Infarktgröße und Wandausdünnung verringert und die Wandbewegung bei den IGF-1 behandelten Tieren verbessert ist. Diese regionalen strukturellen Vorteile gingen mit einer signifikanten Verbesserung der linksventrikulären Funktion einher (73).
Zusammenfassend zeigte IGF-1 in experimentellen Studien antiapoptotische Effekte (69, 71, 73-75), eine Förderung der kardialen Kontraktions- und Relaxationsfähigkeit des Myokards (70, 72, 73, 75), eine Förderung der Angiogenese (72, 75) sowie eine Reduktion der Infarktnarbengröße (72, 73, 75).

1.4 IGF-1

Über welche Mechanismen IGF-1 kardioprotektiv wirkt, ist bislang unklar. In dieser Arbeit wird untersucht, ob eine IGF-1-Therapie zu Veränderungen im myokardialen Substratmetabolismus führt. Die nachfolgenden Unterkapitel geben einen Überblick über IGF-1.

1.4.1 Physiologie und Synthese

IGF-1 ist ein anaboles Wachstumshormon und gehört zur Familie der Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktoren (engl. *Insulin-like growth factors*, IGFs). Zur IGF-Familie zählen Insulin, IGF-1 und IGF-2, die alle untereinander in etwa 50 % ihrer Aminosäuresequenz übereinstimmen (76). IGF-1 besitzt außerdem homologe Strukturen zum Proinsulin (77). Die IGFs spielen eine entscheidende Rolle in der Embryonalentwicklung. Es wird angenommen, dass IGF-1 eine zentrale Rolle in der Regulierung des Wachstums nach der Geburt übernimmt (76). IGF-1 ist das Produkt des IGF-1-Gens, das bei Menschen auf Chromosom 12 und bei Mäusen auf Chromosom 10 lokalisiert ist (78). IGF-1 wird in fast allen Geweben synthetisiert und reguliert das Zellwachstum, die Zelldifferenzierung und das Zellüberleben (14).

Die Synthese des IGF-1 erfolgt hauptsächlich hepatisch. Die Sekretion des IGF-1 wird durch die Hypothalamus-Hypophysen-Achse gesteuert. Im Hypothalamus wird das *Growth-Hormone-Releasing-Hormone* (GHRH) freigesetzt, das in der Hypophyse die

Ausschüttung von *Growth-Hormone* (GH) induziert. Die Bindung des GH an hepatische GH-Rezeptoren führt zur Synthese von IGF-1 in der Leber. Im Blutplasma werden die IGFs von sogenannten *Insulin-like-growth-factor-binding-proteins* gebunden.

1.4.2 Rezeptor und Signalkaskade

IGF-1 vermittelt seine Wirkung über den IGF-1-Rezeptor (IGF-1R), der in nahezu allen Körperzellen exprimiert wird. Der IGF-1R gehört ebenso wie der Insulinrezeptor zur Familie der Tyrosinkinase-Rezeptoren, wobei beide Rezeptoren eine große Strukturähnlichkeit aufweisen. Beide Rezeptoren können Homodimere oder IR/IGF-1R-Heterodimere bilden (24). Die beiden strukturverwandten Hormone Insulin und IGF-1 können an beide Rezeptoren binden, allerdings mit unterschiedlicher Affinität (siehe Abb. 5).

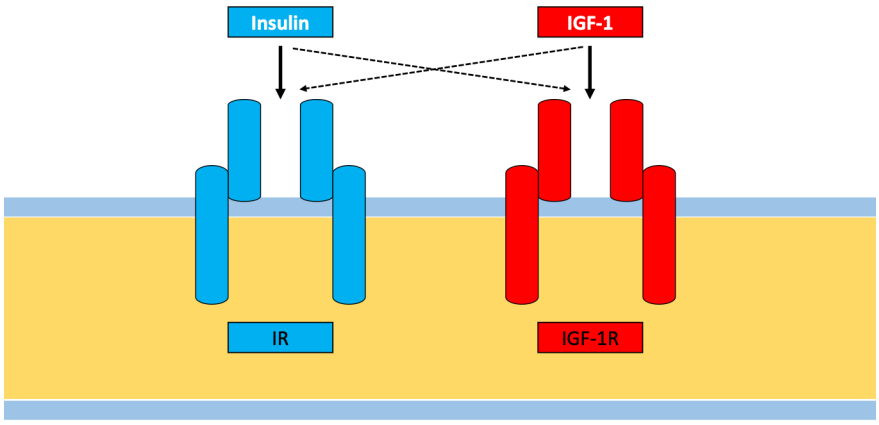


Abb. 5: Insulin und IGF-Rezeptoren. Dargestellt sind die strukturähnlichen Insulin- und IGF-1-Rezeptoren. Die Hormone Insulin und IGF-1 weisen ebenfalls eine strukturelle Homologie auf. Durch die Pfeile werden die jeweiligen Affinitäten zum Rezeptor dargestellt. Die gestrichelten Pfeile symbolisieren eine niedrigere Bindeaffinität als die stark markierten Pfeile. (Angelehnt an Heinrich et al., 2014).

Die Rezeptoren sind als Tetramer aufgebaut und bestehen aus zwei extrazellulären α- und zwei intrazellulären β-Ketten. Die β-Ketten enthalten eine intrazelluläre Tyrosinkinase-Domäne.

Die Bezeichnung „Tyrosinkinase-Rezeptoren“ bezieht sich auf die enzymatisch aktive Tyrosinkinase-Domäne des Rezeptors. Die Signalübertragung umfasst die Autophosphorylierung des Rezeptors sowie die anschließende Phosphorylierung von Tyrosinresten weiterer Proteine, darunter das Insulinrezeptorsubstrat (IRS) (79) (siehe Abb. 6). IRS dient als Andockprotein und kann mehrere Kinasen aktivieren, darunter die

Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K), Akt und die mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK). Die Aktivierung dieser Kinasen mit ihren nachfolgenden Signalwegen führt zu unterschiedlichen biologischen Wirkungen von IGF-1, einschließlich Zellwachstum, -differenzierung, -migration und -überleben (78).

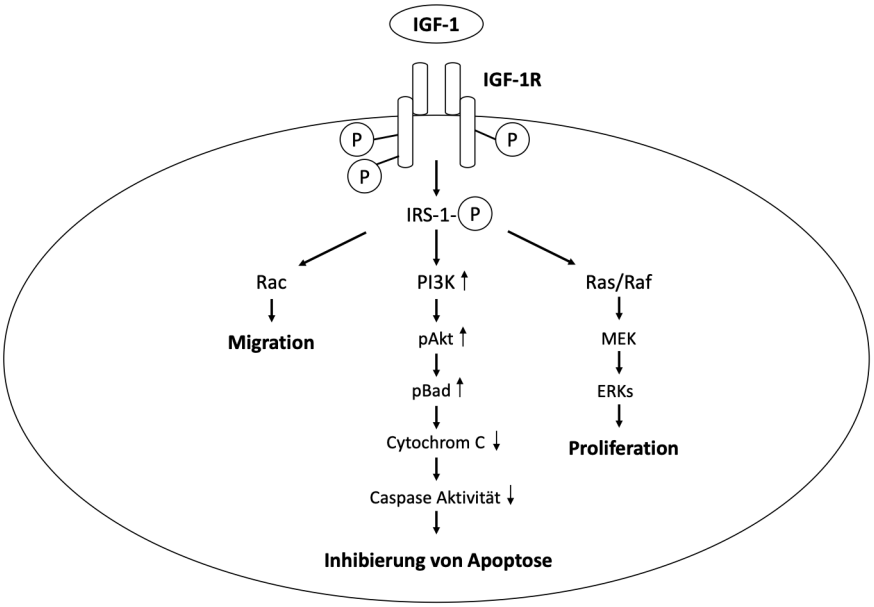


Abb. 6: IGF-1 Signaltransduktion. Die Aktivierung des IGF-1R durch IGF-1 aktiviert verschiedene Signalwege. Hierbei kommt es zur Autophosphorylierung und Phosphorylierung weiterer Proteine, einschließlich der IRS-Familie. Nach IRS-Phosphorylierung kommt es zur Interaktion mit weiteren Molekülen, darunter PI3K, Ras/Raf und Rac. Die Aktivierung des PI3K-Wegs verhindert die Freisetzung von Cytochrom C, wodurch die Aktivierung von Caspasen und die Apoptose gehemmt werden. Der Ras/Raf-Signalweg ist entscheidend für Proliferation, während Rac die Zellmigration reguliert. (Angelehnt an Delafontaine et al., 2004).

1.5 Ziele der Arbeit

Die Ziele dieser Arbeit gliedern sich in die zwei folgenden Aspekte:

1. Charakterisierung der Veränderungen des myokardialen Substratmetabolismus im *remote myocardium* nach dem akuten Myokardinfarkt im Zeitverlauf.
2. Einfluss einer IGF-1-Therapie auf die Veränderungen des myokardialen Substratmetabolismus nach dem akuten Myokardinfarkt.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Laborutensilien

Utensilien	Hersteller
Elektronischer Pipettierer	Pipetus
Falcons	Cellstar tubes
Filteraufsatz	Sartorius
Messerklinge	Wilkinson
Mikro-osmotische Pumpen	Alzet
Parafilm	Bemis
Perfusorspritze	Braun
Petrischalen	VWR
Pipetten	Eppendorf
Pipettenspitzen	TipOne
Reaktionsgefäße	Eppendorf tubes
Sekundenkleber	UHU

Tabelle 1: Laborutensilien

2.1.2 Puffer und Lösungen

Puffer und Lösungen	Zusammensetzung
Agarose	3 % Low melt Agarose
Calcium-Puffer Schritt 1	0,05 mmol/l $CaCl_2$ in Tyrode-Puffer
Calcium-Puffer Schritt 2	0,075 mmol/l $CaCl_2$ in Tyrode-Puffer
Calcium-Puffer Schritt 3	0,125 mmol/l $CaCl_2$ in Tyrode-Puffer
Calcium-Puffer Schritt 4	0,275 mmol/l $CaCl_2$ in Tyrode-Puffer
Calcium-Puffer Schritt 5	0,525 mmol/l $CaCl_2$ in Tyrode-Puffer
Medium A	DMEM 2 mmol/l Glutamin 5,5 mmol/l Glukose 0,5 mmol/l Carnitin
Medium B	DMEM

	2 mmol/l Glutamin 5,5 mmol/l Glukose 0,5 mmol/l Carnitin 0,2 mmol/l Palmitat-BSA
PBS	137 mmol/l NaCl 2,7 mmol/l KCl 10 mmol/l Na_2HPO_4 1,8 mmol/l KH_2PO_4
Tyrode-Puffer	18 mmol/l $NaHCO_3$ 126 mmol/l NaCl 4,4 mmol/l KCl 1 mmol/l MgCl 4 mmol/l Hepes 11 mmol/l Glukose 10 mmol/l BDM 30 mmol/l Taurine

Tabelle 2: Zusammensetzung der Puffer und Lösungen

Der Tyrode-Puffer wurde am Tag vor dem Versuch mit einem pH-Wert von 7,5 angesetzt und durch einen 0,2-µm-Filteraufsatz filtriert. Der Tyrode-Puffer diente als Elektrolytlösung und wurde bei 5 °C gelagert.

2.1.3 Chemikalien

Stoffbezeichnung	**Firma**
2,3-Butanedione monoxime	Sigma
Agarose	Roth
BSA	Sigma
Calciumchlorid	Sigma-Aldrich
Calibrant	Agilent
Carnitin	Sigma
Dinatriumhydrogenphosphat	Merck
DMEM	Agilent
DMSO	VWR

Etomoxir	Sigma
FCCP	Sigma
Glukose	Sigma-Aldrich
Glutamin	Agilent
Hepes	Sigma
Kaliumchlorid	Roth
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck
Magnesiumchlorid	Roth
Natriumchlorid	Sigma
Natriumhydrogencarbonat	Roth
Palmitat	Sigma
Rotenon	Sigma
Taurine	Sigma
UK5099	Sigma

Tabelle 3: Chemikalien

2.1.4 Kits und Assays

Kit	**Firma**
Islet Capture Microplate	Agilent
XFe24 Flux Assay Kit	Agilent

Tabelle 4: Kits und Assays

2.1.5 Geräte

Gerät	**Firma**
Eismaschine	Ziegra
Infrarotlampe	Severin
Inkubator	New Brunswick Eppendorf
Kühlschrank	Liebherr
Magnetrührer	Ikamag RCT
Mikroskop	Leica
Nagetierventilator	Minivent
Nicht-CO_2-Inkubator	Thermo scientific

Seahorse XFe24 Analyzer	Agilent
Vibratom	Leica
Waage	Kern
Wärmeplatte	Uno
Werkbank	Thermo scientific

Tabelle 5: Geräte

2.1.6 Software

Programm	**Firma**
Excel 2016	Microsoft
Prism 6	Graph Pad
SigmaPlot 13.0	Systat Software
Wave 2.6.0.31	Agilent technologies
Word 2016	Microsoft

Tabelle 6: Software

2.1.7 Versuchstiere

In dieser Studie wurden insgesamt 61 männliche C57BL/6J-Mäuse im Alter zwischen 3 und 4 Monaten mit einem Gewicht von 25–30 g (Janvier) verwendet. Die Mäuse wurden in konventionellen Käfigen mit einem 12-stündigen Licht- und Dunkelzyklus in der zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) untergebracht und hatten freien Zugang zu Wasser und Futter.

Die Tierversuche zur Induktion des Myokardinfarkts wurden nach Genehmigung durch das Landesamt für Natur, Umwelt- und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (Aktenzeichen 81-02.04.2017.A401) durchgeführt. Die Genehmigungsnummer für die durchgeführten Organentnahmen lautet O16/04.

2.2 Methodik

Im Rahmen dieser Studie wurden die Veränderungen des Substratmetabolismus nach dem akuten Myokardinfarkt sowie der mögliche Einfluss einer IGF-1-Therapie auf den myokardialen Substratmetabolismus untersucht. Zur Charakterisierung dieser

Veränderungen wurde eine neu entwickelte Methode verwendet, durch die eine Untersuchung des myokardialen Substratmetabolismus an frischen Herzgewebeschnitten am *remote myocardium* möglich ist (80). Die Methode basiert auf einer *extracellular flux analysis* unter Verwendung des *Seahorse flux analyzer XFe24* von Agilent. Hierzu wurden Gewebestanzen aus Herzen von Mäusen, welche zuvor einem Myokardinfarkt unterzogen wurden, verwendet. Die untersuchten Gewebestanzen stammen aus dem interventrikulären Septum, welches zum *remote myocardium* gezählt wird, einer nicht von der Ischämie betroffenen Region des Herzens, in der sich unbeschädigte und vitale Kardiomyozyten befinden.

Zur Charakterisierung des myokardialen Substratmetabolismus nach dem akuten Myokardinfarkt im Zeitverlauf wurden in Ischämie-Reperfusions-Gruppen (I/R) Messungen am ersten, dritten, siebten und 28. Tag nach der Operation durchgeführt. Um Veränderungen zu detektieren, welche durch die Myokardischämie und Reperfusion hervorgerufen werden, wurden die Messungen mit scheinoperierten Sham-Gruppen zu den gleichen Messzeitpunkten verglichen. Die Gruppengrößen betrugen dabei je Tag je Gruppe fünf bis sechs Versuchstiere. Zum Vergleich mit einer basalen physiologischen Ausgangssituation wurde eine nichtoperierte Kontrollgruppe als Referenz hinzugezogen (n = 5).

Zur Untersuchung des IGF-1-Effekts erhielten zusätzliche Versuchstiere nach der Operation eine einmalige Bolusgabe von 40 ng/g Körpergewicht (KG) IGF-1 zu Beginn der Reperfusion, gefolgt von einer kontinuierlichen Verabreichung von 1 µg/g KG IGF-1 über eine im Nacken implantierte Pumpe für die Dauer von drei Tagen. Die Messungen dieser I/R + IGF-1-Gruppen erfolgten im Anschluss an die IGF-1-Behandlung am dritten (n = 6) beziehungsweise am siebten Tag (n = 5), da in vergangenen Projekten bereits am siebten Tag eine Verbesserung der Herzfunktion nach dreitägiger IGF-1-Gabe beobachtet werden konnte.

In Abb. 7 ist das Versuchsprotokoll schematisch dargestellt.

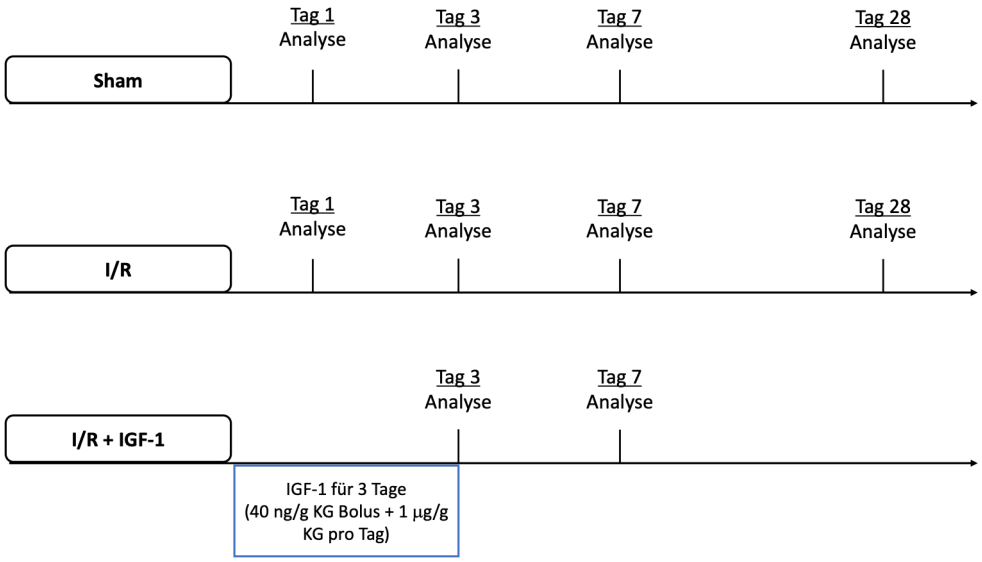


Abb. 7: Versuchsprotokoll. Je nach Versuchsgruppe wurde entweder eine Scheinoperation durchgeführt oder eine 45 Minuten andauernde Ischämie mit anschließender Reperfusion induziert. Die IGF-1-Versuchsgruppe erhielt 40 ng/g Körpergewicht (KG) IGF-1 als Bolusgabe und anschließend 1 µg/g KG IGF-1 täglich für drei Tage. Die Messungen in der Sham- und der I/R-Gruppe wurden an Tag 1, 3, 7 und 28 nach der Operation durchgeführt. Die Messungen der I/R + IGF-1-Gruppe wurden an Tag 3 und 7 durchgeführt.

2.2.1 Operative Ischämie-Induktion

Die Induktion eines Myokardinfarktes im Mausmodell wurde durch eine I/R Operation mit Ligatur der *Left anterior descending artery* (LAD) wie im Folgenden beschrieben durchgeführt.

Die Mäuse wurden mit 2 % Isofluran narkotisiert, orotracheal intubiert und mit 40 % Sauerstoff über einen Nagetierventilator beatmet. Zur Analgesie erhielten die Mäuse perioperativ Buprenorphin (0,1 mg/kg KG, subkutan (s.c.)). Um die Körpertemperatur bei 37,5 °C zu halten, wurden die Mäuse in Rückenlage auf einem Wärmetisch befestigt. Die Körpertemperatur wurde mit einer rektalen Temperatursonde gemessen. Bei einem Temperaturabfall unter 37 °C wurde eine Infrarot Wärmelampe eingesetzt. Um das Austrocknen der Hornhaut zu verhindern, wurde eine Augensalbe verwendet. Vor dem Hautschnitt wurden die Haare im Bereich der Operationsstelle mit einem Rasierer und Enthaarungscreme entfernt sowie die Operationsstelle gründlich desinfiziert. Das Elektrokardiogramm (EKG) wurde durchgehend abgeleitet. Nach der Thorakotomie wurde das Perikard eröffnet und eine chirurgische Prolene-Naht (7-0) um den Ramus interventricularis anterior der linken Koronararterie 1 mm distal der Spitze des linken

Vorhofes gelegt. Die Nahtenden wurden durch einen Silikonschlauch geführt, um einen Schlingenverschluss zu bilden. Bei den Versuchstieren der I/R-Gruppe wurde durch das Zuziehen der Schlinge eine Myokardischämie ausgelöst. Die Ischämie zeigte sich deutlich durch die Blässe des Myokards und EKG-Veränderungen mit einer Abnahme der S-Wellen-Amplitude. Auch die Versuchstiere der Sham-Gruppe wurden dem gesamten operativen Prozedere unterzogen, mit Ausnahme des Zuziehens der Schlinge. Nach 45 Minuten wurde die Schlinge entfernt und die Reperfusion eingeleitet. Der Brustkorb wurde wieder verschlossen und vernäht. Zur postoperativen Analgesie wurde Buprenorphin (0,1 mg/kg KG, s.c.) alle acht Stunden für maximal fünf Tage verabreicht. Die IGF-1-Versuchsgruppe erhielt zu Beginn der Reperfusion 40 ng/g KG reifes, rekombinantes IGF-1 (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland) s.c. als Bolusgabe. Den IGF-1-Versuchstieren wurden zusätzlich eine mikroosmotische Pumpe im Nacken implantiert, die in den ersten drei Tagen postoperativ kontinuierlich 1 µg/g KG IGF-1 pro Tag freisetzte.

2.2.2 Gewebeentnahme und Aufbereitung

Die Versuchsmäuse wurden durch zervikale Dislokation getötet und anschließend auf einem Präparationstisch fixiert. Zur Präparation des Herzens wurde zunächst ein horizontaler Schnitt unterhalb des Sternums gesetzt, gefolgt von zwei axialen Entlastungsschnitten. Nach der Mobilisation des Sternums wurden die Gefäßstränge durchtrennt.

Die Herzen wurden in gekühlter phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) unter einem Mikroskop feinpräpariert. Dazu wurde ein Schnitt unterhalb der Klappenebene gesetzt, um anschließend das Septum präparieren zu können. Das Septum wurde vorsichtig trocken getupft und anschließend in *low-melting*-Agarose eingebettet.

Die Herstellung der Agarose musste zeitlich an die Präparation des Septums angepasst werden. Dazu wurden zuvor 0,27 g *low-melting*-Agarose (3 %) in 9 ml PBS für 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde die Agarose in einem Wasserbad für wenige Minuten erhitzt, bis die Agarose klar erschien und wenige Luftbläschen enthielt. Die verdunstete Flüssigkeit wurde mit PBS aufgefüllt. Um die gewünschte Viskosität der Agarose zu erreichen, wurden die Agarose-Förmchen für eine ausgewählte Dauer von 17 Minuten bei 37 °C abgekühlt. Anschließend erfolgte die Einbettung des Gewebestückes.

Zur schnellen Abkühlung auf 4 °C wurden die Agaroseformen mit den Gewebestücken eine Minute bei –20 °C gelagert und anschließend in 4 °C kaltes PBS überführt.
Bis zur Anfertigung der Schnitte wurden die Agaroseblöcke mit den Gewebestücken in gekühltem PBS gelagert.
Die Gewebeschnitte wurden mit einem Vibratom angefertigt. Das Gewebe wurde in gekühltem Tyrode-Puffer tangential mit einer Schnittdicke von 150 µm geschnitten (Frequenz 85 Hz, Amplitude 1 mm, Vorschub 0,1 mm/s).
Zur Stabilisierung des Calciumhaushaltes wurden anschließend die fertigen Gewebeschnitte schrittweise in fünf gekühlte Calciumchlorid-Lösungen mit aufsteigender Konzentration für jeweils zwei Minuten gegeben.
Anschließend wurden die Gewebeschnitte in kaltem Medium A unter einem Mikroskop auf einer mit Parafilm beklebten Petrischale einheitlich in kreisrunde Gewebestücke mit einem Durchmesser von 1,9 mm gestanzt. Medium A setzte sich zusammen aus DMEM, 200 mmol/l Glutamin, 1 mol/l Glukose und 100 mmol/l Carnitin.

2.2.3 Extracellular Flux Analyzer

Der *Seahorse XF Extracellular Flux Analyzer* ermöglicht die Messung der Sauerstoffverbrauchsrate (engl. *oxygen consumption rate* = OCR). Die OCR ist ein zentraler Indikator für die mitochondriale Atmung und erlaubt Rückschlüsse auf zelluläre Stoffwechselwege.
Eine Messplatte umfasst insgesamt 24 Vertiefungen (engl. „*wells*“). Der zelluläre Sauerstoffverbrauch verursacht schnelle Konzentrationsveränderungen von gelöstem Sauerstoff. Diese Konzentrationsveränderungen werden durch Sensoren gemessen, die 200 µm über die Vertiefungsböden abgesenkt werden und so temporäre Mikrokammern von etwa 2 µl bilden. Nach einer Messperiode heben sich die Sonden wieder. Die Sensorplatte verfügt außerdem über je 4 Anschlüsse (engl. „*ports*“) pro *well*, die das Injizieren verschiedener Substanzen zu definierten Zeitpunkten ermöglichen.

Über die vier *ports* pro *well* konnten die verschiedenen Substanzen injiziert werden. Wie in Abb. 8 gezeigt, wurde die OCR zu Beginn, nach mitochondrialer Entkopplung durch FCCP und nach Hemmung der Elektronentransportkette durch Rotenon und Antimycin A (Rot/AA) gemessen. Zur Ermittlung des Fettsäure- bzw. Glukosemetabolismus wurde der Hälfte der Platte Etomoxir und der anderen Hälfte UK5099 injiziert.

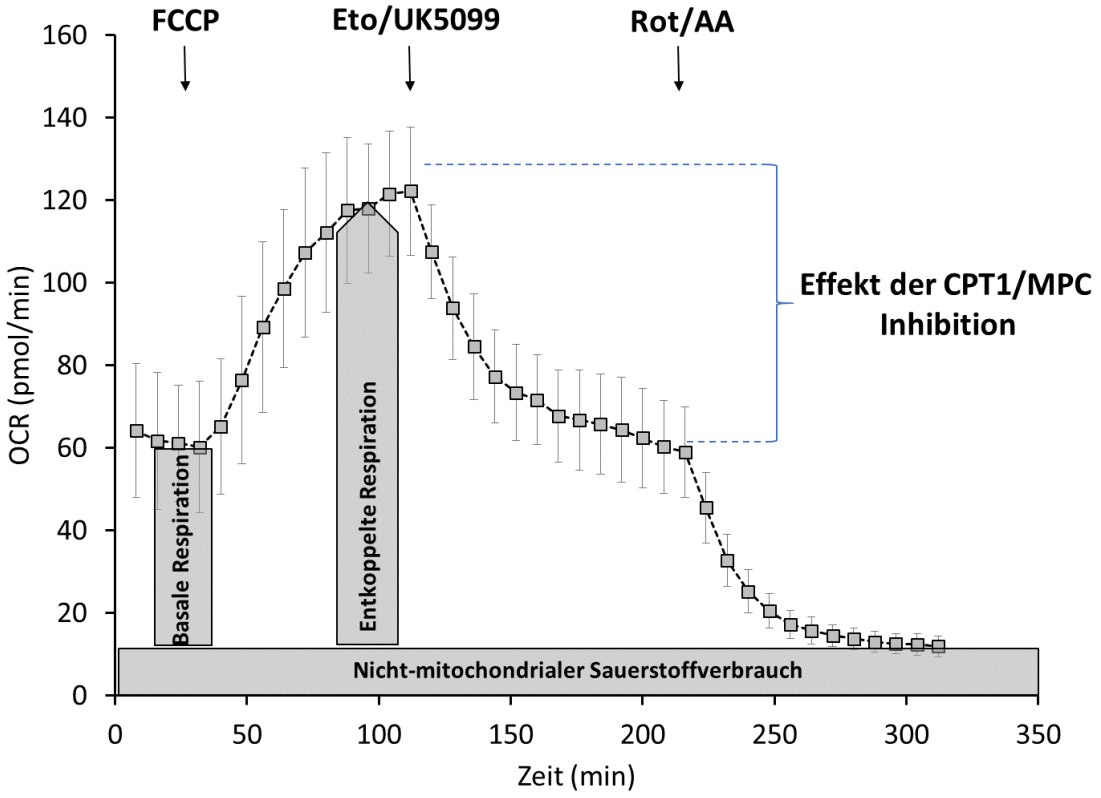


Abb. 8: Experimentelles Protokoll. Die Pfeile zeigen die Verabreichung des mitochondrialen Entkopplers FCCP, des CPT1-Inhibitors Etomoxir (Eto) oder des MPC-Inhibitors UK5099 sowie der Elektronentransportketten-Inhibitoren Rotenon und Antimycin A (Rot/AA) an.

Nach den ersten Baseline-Messungen wurde FCCP (*Carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenylhydrazone*) appliziert. FCCP wirkt als Entkoppler der mitochondrialen Atmungskette. Als Protonophor ermöglicht FCCP eine ungehinderte Bewegung von Protonen durch die innere Mitochondrienmembran und hebt so die Kopplung zwischen Elektronentransport und oxidativer Phosphorylierung auf. Daraus resultiert ein ungehemmter Elektronenfluss mit maximalem Sauerstoffverbrauch. Die Differenz zwischen der Baseline-OCR und der OCR nach FCCP-Gabe ergibt die Reservekapazität (engl. *spare capacity*).

Zur Charakterisierung des Glukose- und Fettsäuremetabolismus wurde der Hälfte der Platte Etomoxir und der anderen Hälfte UK5099 appliziert.

Etomoxir wirkt als irreversibler Inhibitor der Carnitin-Palmitoyltransferase 1 (CPT1). CPT1 ist wie bereits erwähnt ein integrales Transmembranprotein der äußeren Mitochondrienmembran, welches die Übertragung von Acylresten von Coenzym A auf

Carnitin katalysiert und für den Transport der Fettsäuren aus dem Zytosol in den Intermembranraum der Mitochondrien erforderlich ist. Demzufolge hemmt Etomoxir den mitochondrialen Fettsäuremetabolismus (siehe Abb. 9).

UK5099 ist ein Inhibitor des mitochondrialen Pyruvat-Carriers (MPC). MPC ist ein Proteinkomplex der inneren Mitochondrienmembran, der Pyruvat, ein Abbauprodukt der Glykolyse, in die mitochondriale Matrix transportiert.

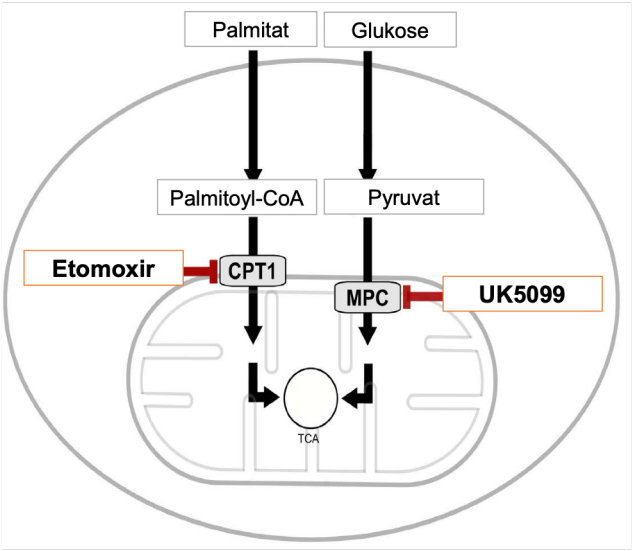


Abb. 9: Inhibierung der Stoffwechselwege. Etomoxir hemmt die Oxidation langkettiger Fettsäuren durch Inhibierung der Carnitin-Acyltransferase 1 (CPT1). Die Oxidation von Glukose wird durch die Inhibierung des mitochondrialen Pyruvat-Carriers (MPC) durch UK5099 gehemmt.

Zuletzt wurde Rotenon zusammen mit Antimycin A appliziert. Rotenon wirkt hemmend auf die Nicotinamidadenin-Dinukleotid(NADH):Ubichinon-Oxidoreduktase, den Komplex I der Atmungskette. Antimycin A hemmt den mitochondrialen Elektronentransportkomplex III, die Ubichinon-Cytochrom-c-Oxidoreduktase. Durch die Komplexhemmer wird der Elektronenfluss der Atmungskette gehemmt und der mitochondriale Stoffwechsel kommt zum Erliegen. Folglich entspricht die OCR, die nach Gabe von Rot/AA gemessen wurde, der nicht-mitochondrialen Sauerstoffverbrauchsrate.

2.2.4 Durchführung der Messungen

Jeweils eine Gewebestanze wurde mittig in ein *well*, in dem zuvor 100 µl Medium B gefüllt wurde, positioniert und durch Verwendung von *Islet Capture Screens* fixiert. Es wurden insgesamt 20 *wells* belegt, die vier freigebliebenen übrigen *wells* dienten der Hintergrundkorrektur. Daraufhin wurden weitere 400 µl Medium B pro *well* pipettiert, das sich zuvor bei 37 °C im Inkubator befand. Medium B enthielt DMEM, 200 mmol/l Glutamin, 1 mol/l Glukose, 100 mmol/l Carnitin und 1 mmol/l Palmitat-BSA.

Die *Islet Capture Microplate* mit den 20 Gewebestanzen wurde für 60 Minuten bei 37 °C inkubiert.

Während der Inkubationszeit wurden die Ports der 37 °C warmen hydratisierten Sensorplatte mit Stocklösungen ausgewählter Substanzen bzw. Inhibitoren belegt. Die Konzentrationen der Stocklösungen, welche in Medium A angesetzt wurden, waren um den Faktor 10 höher als die gewünschten Konzentrationen, da es im Rahmen der Injektionen zu einer entsprechenden Verdünnung kam.

Port A wurde mit 56 µl FCCP, Port B mit 62 µl Etomoxir oder UK5099 und Port C mit 69 µl Rot/AA belegt, siehe Abb. 10.

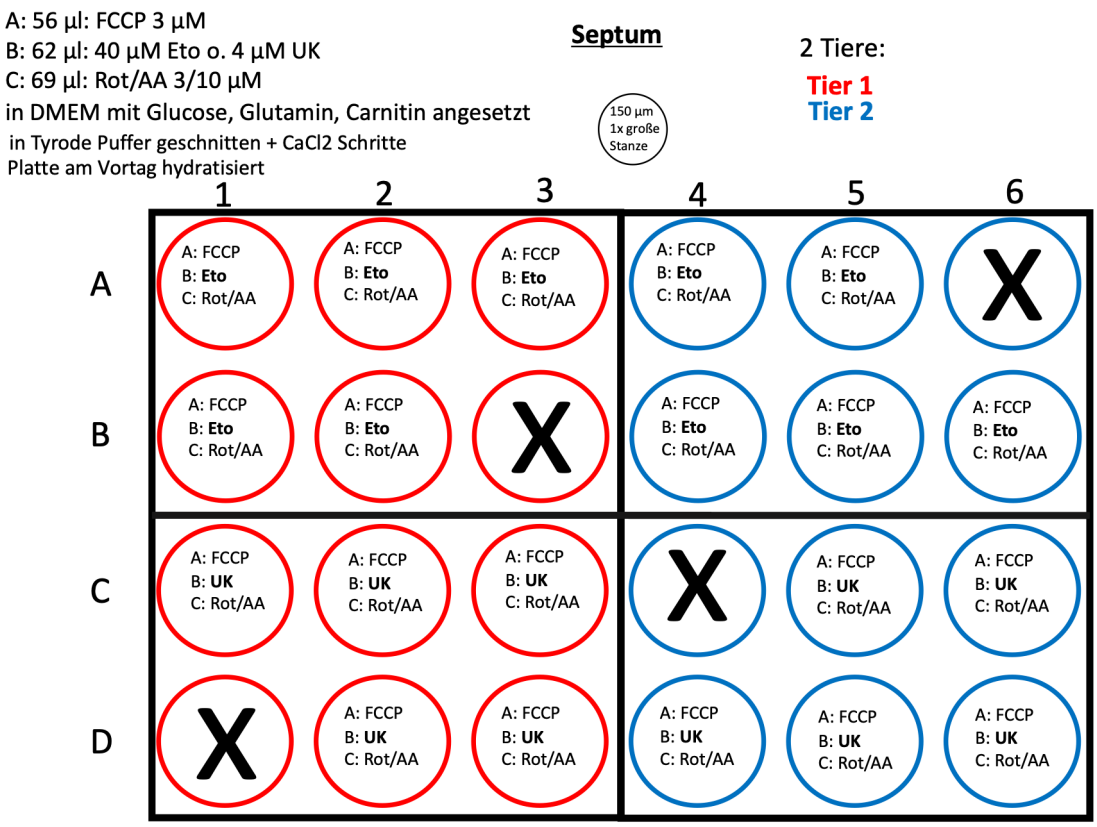


Abb. 10: Plattenbelegungsblatt. Darstellung des Belegungsprotokolls der Sensorplatte. Die Beschriftung A-C innerhalb der Kreise repräsentieren die *ports* pro *well*. Mit einem „X" sind die freigelassenen *wells* zur Hintergrundkorrektur markiert. Die Spalten 1–3, mit rot markiert, enthalten Gewebestanzen von dem ersten Tier, während die Spalten 4–6, in blau markiert, mit Gewebestanzen von einem zweiten Tier belegt sind. Die obere Hälfte der Platte, Reihe A und B, erhielt Etomoxir im zweiten *port*, während die untere Hälfte der Platte, Reihe C und D, UK5099 erhielt.

Die finalen Konzentrationen, welche durch dieses Vorgehen erzielt wurden, betrugen: 3 µM FCCP, 40 µM Etomoxir oder UK, 3 µM Rotenon, 10 µM Antimycin. Anschließend wurde die Sensorplatte zur Kalibrierung in den *Seahorse XFe24 Analyzer* eingesetzt. Nach einer Inkubationszeit der *Islet Capture Microplate* von 60 Minuten wurde diese in das Gerät eingesetzt. Der *Analyzer* führte die Messungen automatisiert durch. Jeder Messzyklus hat mit einem dreiminütigen Mischintervall begonnen, darauf folgte ein zweiminütiges abwartendes Intervall und abschließend folgte das dreiminütige Messintervall. Vor der Zugabe der Inhibitoren wurde zunächst die Baseline gemessen.

2.2.5 Statistische Auswertung

Da zum Zeitpunkt der Versuchsplanung weder Informationen über das Ausmaß möglicher Effekte noch über die zu erwartende Ergebnisstreuung vorlagen, wurde die

Studie als Orientierungsstudie ohne a priori Berechnung der Gruppengröße geplant. Es erfolgte eine randomisierte Versuchsdurchführung der Zeitreihe mit Sham und I/R-Tieren sowie der unbehandelten Kontrollgruppe. Auf Grundlage dieser Ergebnisse wurden die Zeitpunkte Tag drei und Tag sieben nach Myokardinfarkt zur Untersuchung des Effektes einer IGF-1-Therapie ausgewählt und die entsprechenden Versuche durchgeführt.

Alle Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Für die statistische Auswertung der Zeiteffekte innerhalb einer Gruppe wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse (*one way analysis of variance,* ANOVA), gefolgt von einem Tukeys *post hoc* Test, mithilfe von SigmaPlot 13.0 (Systat Software, USA) durchgeführt. Für die Vergleiche zwischen I/R- und Sham-Gruppe bzw. zwischen I/R- und I/R + IGF-1-Gruppe wurde der t-Test angewendet. Unterschiede mit einem $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen.

Je Messbedingung wurden fünf Gewebestanzen gemessen (technische Replikate), aus denen ein Mittelwert bestimmt wurde (biologisches Replikat). Die angegebenen n-Zahlen entsprechen also biologischen Replikaten. Die Mittelwerte und Standardabweichungen für die OCR mito basal, die OCR mito entkoppelt, das Kopplungsverhältnis, die Reservekapazität und die nicht-mitochondriale OCR beziehen alle 20 Gewebestanzen ein, da diese Messwerte unabhängig von der Etomoxir- bzw. UK5099-Gabe sind und die Gewebestücke gleichen Bedingungen und Inhibitoren ausgesetzt waren.

3 Ergebnisse

Um Veränderungen im myokardialen Substratmetabolismus nach dem akuten Myokardinfarkt zu charakterisieren, wurden die Sauerstoffverbrauchsraten in der Kontroll-, Sham- und I/R-Gruppe miteinander verglichen. Zur Charakterisierung des Zeitverlaufs der metabolischen Veränderungen wurden die Messungen verschiedener Tage miteinander verglichen. Ob IGF-1 den myokardialen Substratmetabolismus beeinflusst, wurde durch den Vergleich der I/R- und der I/R + IGF-1-Gruppe analysiert.
Erhobene Grundparameter waren die basale OCR, die maximale OCR nach FCCP-Gabe und die nicht-mitochondriale OCR nach Rot/AA-Gabe.
Im Folgenden wird bei der basalen und maximalen OCR die jeweils mitochondriale OCR betrachtet. Dazu wurde von den jeweiligen gemessenen Gesamtwerten die nicht-mitochondriale OCR, die jeweils zum Ende eines Messzyklus nach Rot/AA-Gabe gemessen wurde, subtrahiert.

3.1 Die Sauerstoffverbrauchsrate im Zeitverlauf

Zum Vergleich der basalen Ausgangssituation wurde die basale OCR gemessen. Die Ergebnisse sind in Abb. 11 dargestellt. Sowohl die Sham- als auch die I/R-Gruppe zeigten am ersten Tag nach der Operation eine höhere basale Sauerstoffverbrauchsrate im Vergleich zur nichtoperierten Kontrollgruppe, wobei sich nur die I/R-Gruppe mit einer Erhöhung der OCR um 58 % signifikant von der Kontrollgruppe unterschied (I/R 65,4 ± 9,9 pmol/min vs. Kontrolle 41,4 ± 6,0 pmol/min; $p = 0,03$). Die basale OCR der Sham-Gruppe fiel im Zeitverlauf ab und befand sich am dritten, siebten und 28. Tag in etwa auf dem gleichen Niveau wie die Kontrollgruppe. Im Gegensatz dazu war die basale OCR der I/R-Gruppe am dritten Tag im Vergleich zur Sham-Gruppe weiterhin signifikant erhöht (I/R 53,0 ± 7,3 pmol/min vs. Sham 39,2 ± 7,3 pmol/min; $p = 0,02$). Im Zeitverlauf fiel die basale OCR der I/R-Gruppe auf das Niveau der Kontrollgruppe ab. Zusammenfassend lassen die erhöhten Sauerstoffverbrauchsraten am ersten postoperativen Tag auf eine stressbedingte Erhöhung aufgrund der zeitlichen Nähe zur Operation schließen. Durch den Abfall der Sauerstoffverbrauchsrate der Sham-Gruppe am dritten Tag und die konstanten Werte, die mit denen der Kontrollgruppe übereinstimmen, ist davon auszugehen, dass die Stresseffekte der Operation sowie der

Einfluss der Narkose und der Analgesie ab dem dritten Tag zu vernachlässigen sind. In der Frühphase nach dem akuten Myokardinfarkt war der Sauerstoffverbrauch erhöht.

Vergleichbar mit diesen basalen OCR-Werten waren auch die entkoppelten Sauerstoffverbrauchsraten der Sham- als auch der I/R-Gruppe am ersten Tag um ca. 30 % erhöht. Ebenso wie die basale OCR war auch die entkoppelte OCR der I/R-Gruppe am dritten Tag im Vergleich zur Sham-Gruppe weiterhin erhöht (I/R Tag 3 106,7 ± 7,2 pmol/min vs. Sham Tag 3 84,4 ± 11,5 pmol/min; $p = 0,01$).
Das Kopplungsverhältnis zwischen entkoppelter und basaler OCR der Sham- und der I/R-Gruppe unterschied sich weder untereinander noch von dem der Kontrollgruppe.
Die Reservekapazität, das heißt die Differenz zwischen basaler und entkoppelter OCR, unterschied sich zwischen der Sham- und I/R-Gruppe am dritten und 28. Tag. Am dritten Tag war die Reservekapazität der I/R-Gruppe tendenziell höher im Vergleich zur Sham-Gruppe, während sie am 28. Tag im Vergleich zur Sham-Gruppe reduziert war.
Bei der nicht-mitochondrialen OCR wurden keine signifikanten Unterschiede beobachtet. Die I/R-Gruppe zeigte lediglich am siebten und 28. Tag eine leichte Tendenz zu einer niedrigeren nicht-mitochondrialen OCR im Vergleich zur Kontrollgruppe.

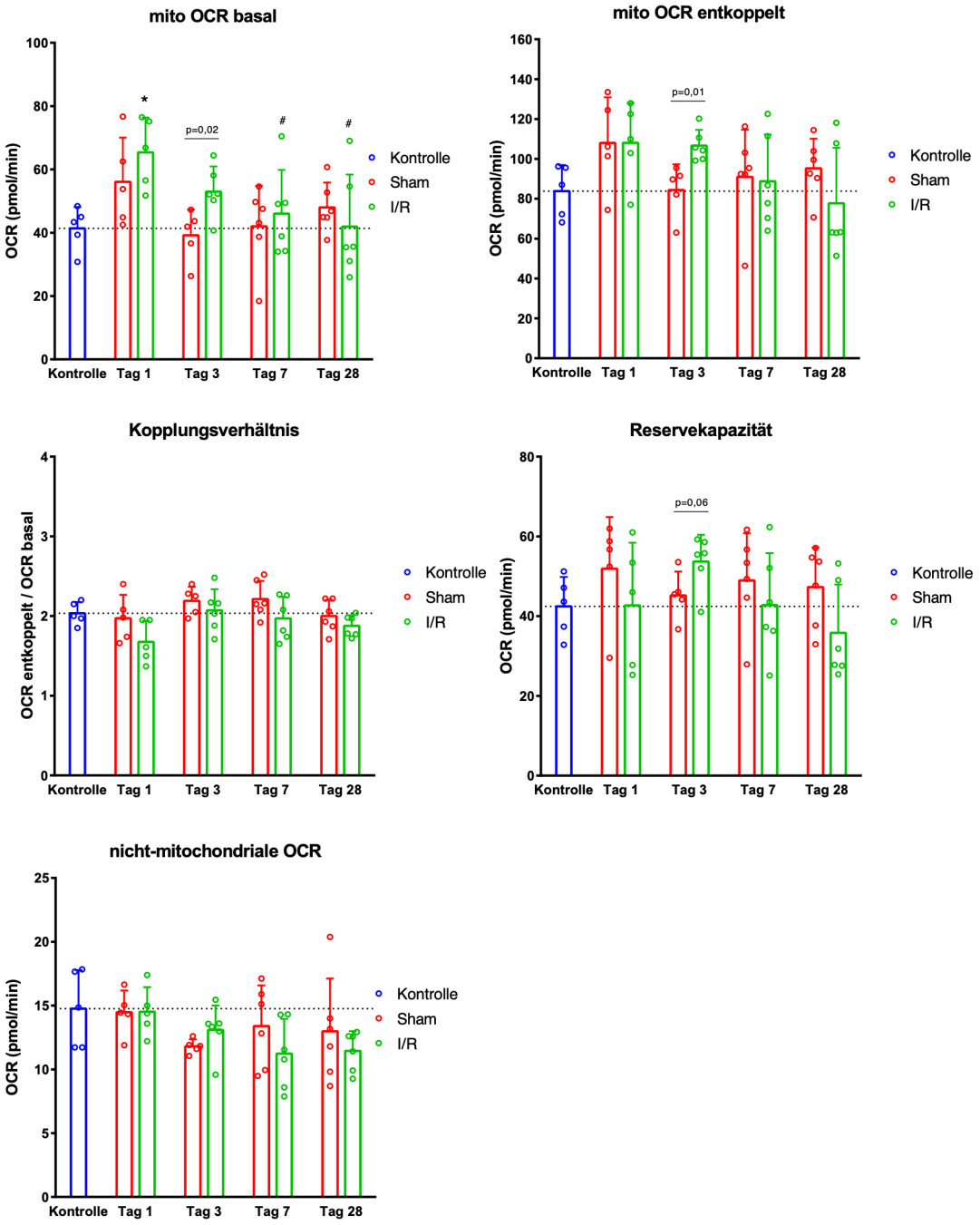


Abb. 11: Sauerstoffverbrauchsraten Sham vs. I/R. Die Grafiken stellen die statistische Auswertung der Ergebnisse der *Extracellular Flux Analysis* dar. Dargestellt sind die Mittelwerte der Versuchsgruppen in Form von Balken, inklusive Standardabweichungen. Die Mittelwerte der einzelnen Versuchstiere sind in Form von Kreisen eingezeichnet. Zum vereinfachten Vergleich mit der Kontrollgruppe ist eine gepunktete Linie auf Höhe des Mittelwertes der Kontrollgruppe eingezeichnet. Die Versuchsgruppen bestehen aus n = 5 (Kontrolle, Sham Tag 1, I/R Tag 1, Sham Tag 3) und n = 6 (I/R Tag 3, Sham Tag 7, I/R Tag 7, Sham Tag 28 und I/R Tag 28). Die p-Werte der Gruppeneffekte zwischen Sham- und I/R-Gruppe sind genau angegeben, während die Zeiteffekte durch Symbole markiert sind. * $p \leq 0{,}1$ vs. Kontrolle; # $p \leq 0{,}1$ vs. Tag 1.

3.2 Veränderungen im myokardialen Fettsäure- und Glukosemetabolismus im Zeitverlauf

Um Veränderungen im Fettsäure- und Glukosemetabolismus zu charakterisieren, wurden die Effekte der CPT1- und MPC-Inhibierung auf die Sauerstoffverbrauchsrate untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 12 dargestellt.

Ähnlich wie die erhöhte basale und entkoppelte OCR am ersten postoperativen Tag in der Sham- und I/R-Gruppe wurde in beiden Gruppen auch ein verstärkter Effekt der CPT1-Inhibition zu diesem Zeitpunkt beobachtet.
Ab dem dritten Tag war wie bei den bereits genannten Grundparametern ein vergleichbarer Effekt der CPT1-Inhibierung in der Sham-Gruppe und der Kontrollgruppe zu beobachten. In der I/R-Gruppe war der Effekt der CPT1-Inhibierung am dritten Tag im Vergleich zur Sham-Gruppe um ca. 26 % stärker. Dagegen war der Effekt der CPT1-Inhibierung in der I/R-Gruppe am 28. Tag im Vergleich zur Sham-Gruppe um ca. 36 % geringer. Aus den Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass der Anteil des Fettsäuremetabolismus in der Akutphase nach dem Myokardinfarkt erhöht ist, während sein Anteil in der chronischen Phase abnimmt.

Dagegen zeigte die MPC-Inhibierung keinen relevanten Zeiteffekt. Die I/R-Gruppe unterschied sich nicht von der Sham-Gruppe. Folglich konnten keine Veränderungen im Glukosemetabolismus festgestellt werden.

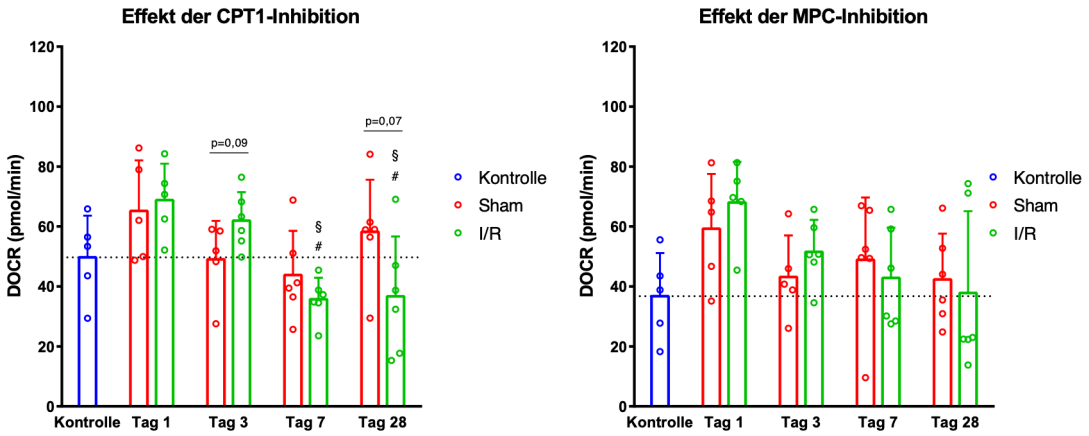


Abb. 12: Effekt der CPT1- bzw. MPC-Inhibierung Sham vs. I/R. Die Grafiken stellen die statistische Auswertung der Ergebnisse der *Extracellular Flux Analysis* dar. Dargestellt sind die Mittelwerte der

Versuchsgruppen in Form von Balken, inklusive Standardabweichungen. Die Mittelwerte der einzelnen Versuchstiere sind in Form von Kreisen eingezeichnet. Zum vereinfachten Vergleich mit der Kontrollgruppe ist eine gepunktete Linie auf Höhe des Mittelwertes der Kontrollgruppe eingezeichnet. Die Versuchsgruppen bestehen aus n = 5 (Kontrolle, Sham Tag 1, I/R Tag 1, Sham Tag 3) und n = 6 (I/R Tag 3, Sham Tag 7, I/R Tag 7, Sham Tag 28 und I/R Tag 28). Die p-Werte der Gruppeneffekte zwischen Sham- und I/R-Gruppe sind genau angegeben, während die Zeiteffekte durch Symbole markiert sind. # $p \leq 0{,}1$ vs. Tag 1; § $p \leq 0{,}1$ vs. Tag 3.

3.3 Der Einfluss von IGF-1 auf die Sauerstoffverbrauchsrate

Um einen Effekt der IGF-1-Applikation auf den Substratstoffwechsel zu untersuchen, wurde die I/R-Gruppe mit der I/R + IGF-1-Gruppe am dritten und siebten Tag postoperativ verglichen. Die Ergebnisse sind in Abb. 13 dargestellt.

Am dritten Tag unterschied sich die basale OCR der I/R + IGF-1-Gruppe nicht von der OCR der I/R-Gruppe. Am siebten Tag stieg diese jedoch deutlich an und war um 49 % höher im Vergleich zur I/R-Gruppe (I/R + IGF-1 68,5 ± 11,6 pmol/min vs. I/R 46,0 ± 12,6 pmol/min, $p = 0{,}02$). Folglich führte die IGF-1-Behandlung zu einem höheren Sauerstoffverbrauch am siebten Tag nach dem akuten Myokardinfarkt.

Die mitochondriale entkoppelte OCR unterschied sich nicht signifikant von der I/R-Gruppe. Sowohl das Kopplungsverhältnis als auch die Reservekapazität waren vergleichbar mit denen der I/R-Gruppe. Auch bei der nicht-mitochondrialen Sauerstoffverbrauchsrate konnte kein relevanter Unterschied festgestellt werden.

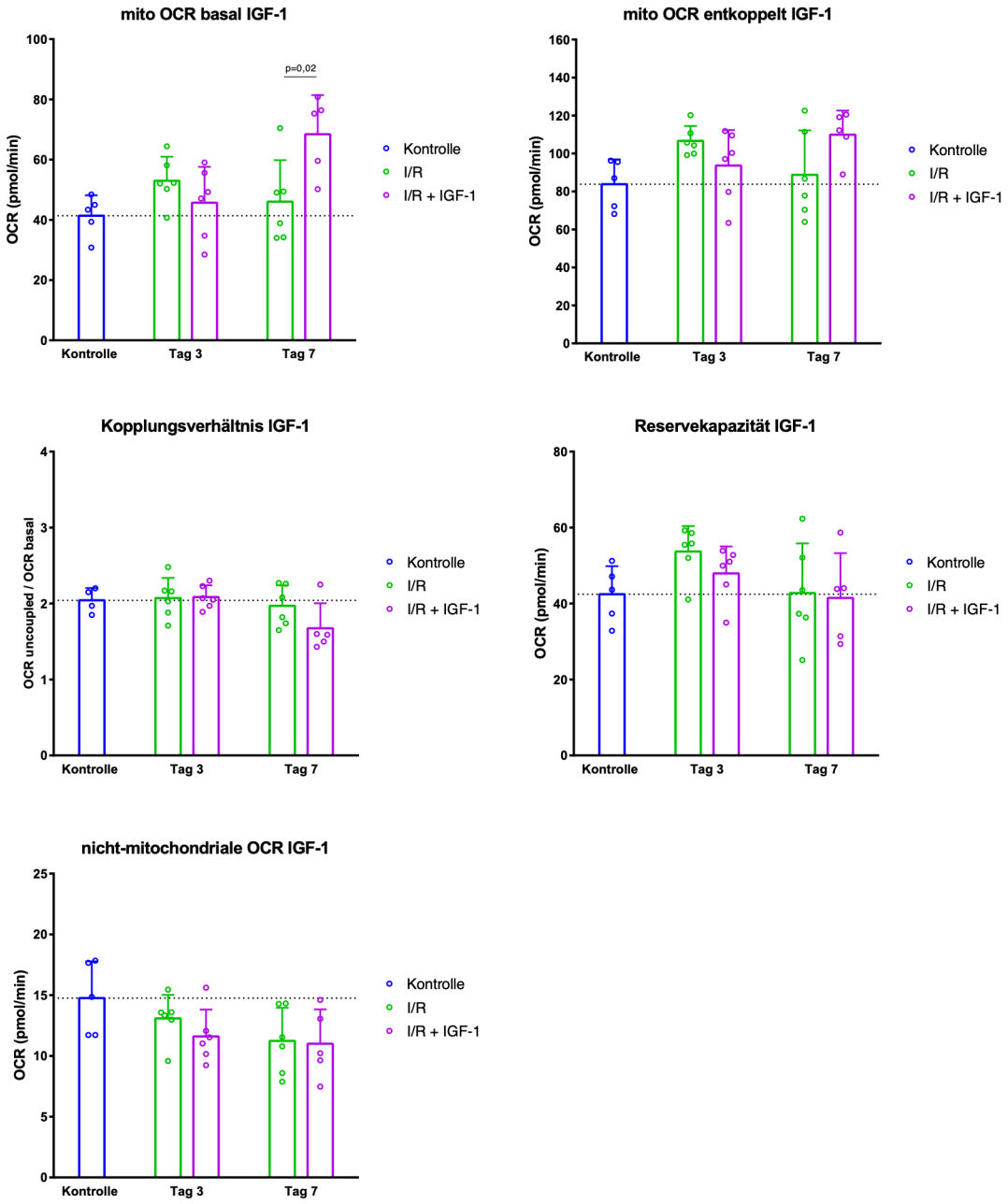


Abb. 13: Sauerstoffverbrauchsrate I/R vs. I/R + IGF-1. Die Grafiken stellen die statistische Auswertung der Ergebnisse der Extracellular Flux Analysis dar. Dargestellt sind die Mittelwerte der Versuchsgruppen in Form von Balken, inklusive Standardabweichungen. Die Mittelwerte der einzelnen Versuchstiere sind in Form von Kreisen eingezeichnet. Zum vereinfachten Vergleich mit der Kontrollgruppe ist eine gepunktete Linie auf Höhe des Mittelwertes der Kontrollgruppe eingezeichnet. Die Versuchsgruppen bestehen aus n = 5 (Kontrolle, I/R + IGF-1 Tag 7) und n = 6 (I/R Tag 3, I/R Tag 7, I/R + IGF-1 Tag 3). Sowohl bei der Kontroll- als auch bei der I/R-Gruppe handelt es sich um die gleichen Gruppen wie zuvor beschrieben, d.h. die Balken und Werte der beiden Gruppen sind die gleichen wie in Abbildung 11 und 12, hier nur im Vergleich mit der I/R + IGF-1-Gruppe. Die p-Werte der Gruppeneffekte zwischen der I/R- und I/R + IGF-1-Gruppe sind genau angegeben, während die Zeiteffekte durch Symbole markiert sind.

3.4 Der Einfluss von IGF-1 auf den Fettsäure- und Glukosemetabolismus

Die CPT1-Inhibierung führte am dritten Tag bei der mit IGF-1 behandelten Versuchsgruppe zu einer geringeren Reduktion der OCR im Vergleich zur I/R-Gruppe (siehe Abb. 14). Interessanterweise zeigte die I/R + IGF-1 Gruppe am siebten Tag jedoch einen um 80 % stärkeren Effekt der CPT1-Inhibierung im Vergleich zur I/R-Gruppe (I/R + IGF-1 64,4 ± 21,3 pmol/min vs. I/R 35,7 ± 6,5 pmol/min, p = 0,02). Demzufolge hatte die IGF-1-Behandlung einen zeitabhängigen stimulierenden Effekt auf den Fettsäuremetabolismus, wobei die IGF-1-Behandlung in der Akutphase zu einer Normalisierung des durch den Myokardinfarkt gesteigerten Fettsäuremetabolismus führte, während die IGF-1-Behandlung zu einer signifikanten Steigerung des Fettsäuremetabolismus in der chronischen Phase führte.

Demgegenüber wurden weder am dritten noch am siebten Tag Unterschiede in der Wirkung einer MPC-Inhibierung im Vergleich zur I/R-Gruppe nachgewiesen, was darauf hindeutet, dass IGF-1 keinen Einfluss auf den Glukosemetabolismus in den ersten sieben Tagen nach dem akuten Myokardinfarkt hat.

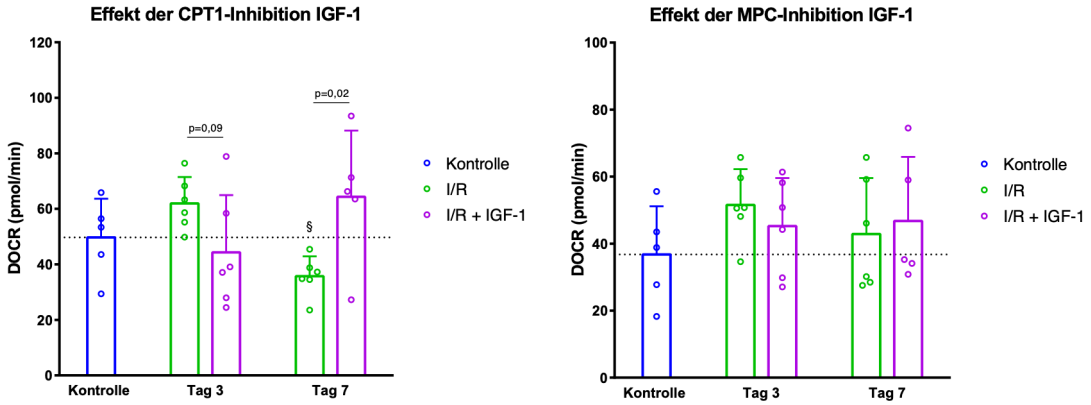


Abb. 14: Effekte der CPT1- bzw. MPC-Inhibierung I/R vs. I/R + IGF-1. Die Grafiken stellen die statistische Auswertung der Ergebnisse der *Extracellular Flux Analysis* dar. Dargestellt sind die Mittelwerte der Versuchsgruppen in Form von Balken, inklusive Standardabweichungen. Die Mittelwerte der einzelnen Versuchstiere sind in Form von Kreisen eingezeichnet. Zum vereinfachten Vergleich mit der Kontrollgruppe ist eine gepunktete Linie auf Höhe des Mittelwertes der Kontrollgruppe eingezeichnet. Die Versuchsgruppen bestehen aus n = 5 (Kontrolle, I/R + IGF-1 Tag 7) und n = 6 (I/R Tag 3, I/R Tag 7, I/R + IGF-1 Tag 3). Sowohl bei der Kontroll- als auch bei der I/R-Gruppe handelt es sich um die gleichen Gruppen wie zuvor beschrieben, d.h. die Balken und Werte der beiden Gruppen sind die gleichen wie in Abbildung 11 und 12, hier nur im Vergleich mit der I/R + IGF-1-Gruppe. Die p-Werte der Gruppeneffekte zwischen der I/R- und I/R + IGF-1-Gruppe sind genau angegeben, während die Zeiteffekte durch Symbole markiert sind.

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurden zeitabhängige Veränderungen im Fettsäuremetabolismus nach dem akuten Myokardinfarkt nachgewiesen, während der Glukosemetabolismus unverändert blieb. Die IGF-1-Behandlung führte zu Veränderungen im Fettsäuremetabolismus, während kein Einfluss auf den Glukosemetabolismus festgestellt wurde. Im Folgenden werden die Ergebnisse im Kontext vorhandener Studien diskutiert.

4.1 Veränderungen im myokardialen Fettsäuremetabolismus

In dieser Arbeit konnte in der Akutphase nach dem Myokardinfarkt ein gesteigerter Fettsäuremetabolismus festgestellt werden, während dessen Anteil am Gesamtmetabolismus in der chronischen Phase abnahm.

Im Vergleich dazu beobachteten andere experimentelle Studien abweichende Ergebnisse. So konnten experimentelle Studien, in denen eine nachlastbedingte Myokardhypertrophie infolge einer Aortenkonstriktion herbeigeführt wurde, keine zeitabhängigen Veränderungen im Fettsäuremetabolismus feststellen. Weder drei Wochen postoperativ bei Mäusen (55) noch vier (56) und sechs Wochen (81) postoperativ bei Ratten wurden Veränderungen im Fettsäuremetabolismus beobachtet. Auch in einem von Zhabyeyev et al. (81) durchgeführten I/R-Protokoll bei herzinsuffizienten Ratten blieb die Fettsäureoxidation unverändert. Ähnliche Befunde ergaben sich im Stadium der kompensierten Myokardhypertrophie mit erhaltener systolischer Herzfunktion: Weder in tierexperimentellen Studien mit Ratten (40) noch in klinischen Studien mit Patienten (41) ließ sich eine Veränderung der Fettsäureaufnahme nachweisen. Im Gegensatz dazu konnte bei Patienten mit systolischer Herzinsuffizienz ein Anstieg der Fettsäureaufnahme beobachtet werden (52, 53). Eine erhöhte Fettsäureaufnahme bei Herzinsuffizienz könnte Folge der durch die Katecholamine gesteigerten Spiegel freier Fettsäuren sein (19, 35, 52). Außerdem könnte die parallel zur Herzinsuffizienz beobachtete Insulinresistenz zur erhöhten Fettsäureoxidation beitragen, da der inhibitorische Effekt des Insulins auf die Fettsäureoxidation abnimmt (27).

Mehrere Studien stützen jedoch unsere Beobachtung einer Reduktion des Fettsäuremetabolismus im Zeitverlauf. Heather et al. (50) beschrieben in chronisch

infarzierten Rattenherzen sechs Monate nach LAD-Ligatur eine reduzierte Palmitat-Oxidation sowie eine verminderte Aktivität des Enzyms Medium-Chain-Acyl-CoA-Dehydrogenase (MCAD) das am Fettsäureabbau beteiligt ist. Auch Rosenblatt-Velin et al. (48) beobachteten eine verminderte MCAD-Aktivität sowohl in der Periinfarktregion als auch im Septum von Rattenherzen mit großem Myokardinfarkt im Stadium der fortgeschrittenen Herzinsuffizienz, die mit einer deutlich reduzierten Ejektionsfraktion assoziiert war. Mit zunehmendem Schweregrad der Herzinsuffizienz konnte bei Mäusen nach Koronararterienligatur (37), sowohl bei Mäusen (45) als auch bei Ratten (34) nach Aortenkonstriktion und bei Hunden mit einer dilatativen Kardiomyopathie (46, 47) eine verminderte Fettsäureoxidation festgestellt werden. Kato et al. (40) beobachteten bei herzinsuffizienten salzsensiblen Dahl-Ratten zwar im Stadium der kompensierten Myokardhypertrophie mit erhaltener systolischer Herzfunktion keine Unterschiede in der Fettsäureaufnahme, im Stadium der systolischen Herzinsuffizienz allerdings eine deutliche Reduktion. Auch bei Patienten mit idiopathisch dilatativer Kardiomyopathie mit reduzierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion konnte ein verminderter Fettsäuremetabolismus festgestellt werden (42-44).

Mögliche Ursachen für die Abnahme des Fettsäurestoffwechsels könnte eine reduzierte Expression oder Aktivität von Genen, die die Transkription der Fettsäureoxidation regulieren (z.B. PPARα), oder eine eingeschränkte Funktion von Transportern und Enzymen wie CPT1 und MCAD sein. Diese Veränderungen wurden in Studien im Zusammenhang mit einer reduzierten Fettsäureoxidationsrate beobachtet (40, 48-51). Beispielsweise konnte bei Ratten mit einem großen Myokardinfarkt eine Assoziation zwischen dem Fortschreiten der Herzinsuffizienz und einer Herunterregulierung von MCAD sowohl in der Periinfarktregion als auch im Septum beobachtet werden (48).

Insgesamt legen diese Befunde nahe, dass der Schweregrad der Herzinsuffizienz bzw. das Vorliegen einer eingeschränkten systolischen Herzfunktion mit der Abnahme des Fettsäuremetabolismus assoziiert ist.

4.2 Veränderungen im myokardialen Glukosemetabolismus

Im Glukosemetabolismus konnten keine signifikanten Unterschiede nach dem akuten Myokardinfarkt festgestellt werden.

Zu den Veränderungen im Glukosemetabolismus gibt es in vergangenen Studien über die Herzinsuffizienz unterschiedliche Beobachtungen. Einige Studien berichten von einer Reduktion der Glukoseoxidation. So konnten Zhabyeyev et al. (81) und Zhang et al. (45) bei der nachlastbedingten Myokardhypertrophie im Mausmodell verringerte Glukoseoxidationsraten feststellen. Die Durchführung eines zusätzlichen I/R-Protokolls führte bei herzinsuffizienten Mäusen zu einer weiteren Reduktion der Glukoseoxidationsrate (81). Auch im Schweinemodell mit dilatativer Kardiomyopathie konnte eine reduzierte Glukoseoxidation festgestellt werden (57).
Dagegen beobachteten Riehle et al. (55) einen Anstieg der Glukoseoxidationsrate drei Wochen nach nachlastbedingter Myokardhypertrophie im Mausmodell. Auch bei chronisch instrumentierten Hunden mit einer dekompensierten Herzinsuffizienz durch einen Herzschrittmacher wurde eine erhöhte Glukoseoxidationsrate festgestellt (47, 58).

Unsere Ergebnisse einer unveränderten Glukoseoxidationsrate stimmen mit Studien überein, die zeigen, dass sich die Glukoseoxidation erst im späten Verlauf der Erkrankung verändert. So wurde eine unveränderte Rate der Glukoseoxidation in einem Rattenmodell mit einer nachlastbedingten Myokardhypertrophie im Stadium der kompensierten Myokardhypertrophie beobachtet. Erst 20 Wochen nach Aortenkonstriktion und dem Auftreten einer systolischen Dysfunktion wurde eine Abnahme der Glukoseoxidation festgestellt (34). Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Nikolaidis et al. (46) überein, die bei Hunden mit dilatativer Kardiomyopathie eine erhaltene Glukoseaufnahme beobachteten und erst bei schwerer, fortschreitender Kardiomyopathie eine Abnahme der Glukoseaufnahme feststellten. In einer in vivo Studie mit Ratten, denen ein Myokardinfarkt induziert wurde, konnte bis zu sechs Wochen nach Myokardinfarkt trotz beobachteter funktioneller Einschränkungen keine Veränderung in der Glukoseoxidation festgestellt werden. Erst 22 Wochen nach dem Infarkt war die Verwendung von Pyruvat zur Acetyl-CoA-Erzeugung und anschließendem Acetyl-CoA-Abbau im Citratzyklus proportional zum Grad der funktionellen Beeinträchtigung reduziert (36). Ebenso konnte in einer in vivo Studie mit Mäusen, denen ein Myokardinfarkt induziert wurde, vier Wochen nach Infarkt eine unveränderte Glukoseoxidationsrate festgestellt werden. Um die Effizienz des myokardialen Substratmetabolismus zu untersuchen, wurde die Glukoseoxidationsrate auf die linksventrikuläre Arbeit (mmol/J) normiert. Interessanterweise ergab sich hieraus eine erhöhte Glukoseoxidationsrate pro Einheit

linksventrikulärer Arbeit, was auf eine ineffiziente Nutzung der Substrate für mechanische Funktionen hindeutet (37).

Zusammenfassend lässt sich die Diskrepanz der Ergebnisse vermutlich auf mehrere studienabhängige Faktoren zurückführen, darunter Unterschiede in den verwendeten Modellen, den Zeitpunkten der Messung und den Krankheitsstadien. Unsere Ergebnisse stimmen mit Masoud et al. (37) überein, die ebenfalls keine Veränderungen in der Glukoseoxidationsrate zwischen den I/R-Tieren und den Sham-Tieren beobachteten. Darüber hinaus deuten andere Studien darauf hin, dass sich Veränderungen im Glukosemetabolismus erst im späten Krankheitsverlauf, etwa 20 bis 22 Wochen nach einem Infarkt oder nach einer Aortenkonstriktion, manifestieren (34, 36).

Neben diesen Beobachtungen berichten einige Studien insbesondere von einer gesteigerten anaeroben Glykolyse sowohl bei der nichtischämischen als auch bei der ischämischen Herzinsuffizienz.
In experimentellen Studien über die nichtischämische Herzinsuffizienz sowohl bei Mäusen (55) als auch bei Ratten (56) mit nachlastbedingter Myokardhypertrophie wurde drei bis vier Wochen nach Aortenkonstriktion eine erhöhte Glykolyserate festgestellt.
Bei der ischämischen Herzinsuffizienz kommt es infolge der reduzierten mitochondrialen oxidativen Phosphorylierung zur Erhöhung der anaeroben Glykolyse (19, 33).
Im Rahmen dieser Dissertation wurde lediglich der Effekt der MCP-Inhibierung auf die Sauerstoffverbrauchsrate untersucht, wodurch nur eine Aussage bezüglich der aeroben Weiterverwertung von Pyruvat getroffen werden kann.

4.3 Die Beeinflussung des myokardialen Substratmetabolismus durch IGF-1

Zahlreiche epidemiologische (64-66) und experimentelle Studien belegen die kardioprotektive Wirkung des IGF-1. In experimentellen Studien konnte nachgewiesen werden, dass eine IGF-1-Therapie nach dem akuten Myokardinfarkt zu einem Erhalt der kardialen Pumpfunktion (70, 72, 73, 75), zu einer Reduktion der Infarktnarbe (72, 73, 75), zu einer gesteigerten Angiogenese (72, 75) und zu einer verringerten Apoptose führte

(69, 71-75). Über welchen Mechanismus IGF-1 zu einer Kardioprotektion führt, ist bisher nicht eindeutig geklärt.

Die IGF-1-Behandlung führte in der Akutphase (Tag drei) nach dem Myokardinfarkt tendenziell zu einer Reduktion des Fettsäuremetabolismus, während in der chronischen Phase (Tag sieben) eine deutliche Steigerung beobachtet wurde. Ein ähnliches Muster zeigte sich in Studien mit gesunden Probanden: Kurz nach der Gabe von IGF-1 kam es zu einer vorübergehenden Hemmung der Fettsäureoxidation (84-86). Bei längerfristiger IGF-1-Verabreichung (fünf Tage) wurde hingegen eine erhöhte Fettsäureoxidationsrate am fünften Tag festgestellt (88). Dies weist auf den zeitabhängigen Einfluss von IGF-1 auf den Fettsäuremetabolismus hin.
Hinsichtlich des Spiegels freier Fettsäuren wurde in Studien gezeigt, dass IGF-1 im Menschen, ähnlich wie Insulin, eine Reduktion freier Fettsäuren bewirken kann, während im Rattenmodell häufig keine signifikante Veränderung des Spiegels freier Fettsäuren durch IGF-1 beobachtet wurde (87). Diese Unterschiede könnten darauf hindeuten, dass IGF-1 beim Menschen stärkere insulinähnliche Effekte zeigt als im Rattenmodell.

Die Glukoseoxidation nach dem akuten Myokardinfarkt wurde durch die IGF-1-Behandlung in unserer Studie nicht beeinflusst. Dies steht im Widerspruch zu mehreren Studien mit gesunden Probanden, bei denen ein insulinähnlicher Effekt von IGF-1 auf den Glukosestoffwechsel beschrieben wurde. Sowohl IGF-1 als auch Insulin steigerten in Studien mit gesunden Probanden die Glukoseaufnahme, die Glukoseoxidation und die Hemmung der hepatischen Glukoseproduktion in vergleichbarem Maße (84-86). Beispielsweise beobachteten Russell-Jones et al. (82) eine erhöhte Glukoseverwertungsrate und Hypoglykämien nach IGF-1-Infusionen bei gesunden Probanden. Im Rattenmodell zeigen sich jedoch Unterschiede: Während IGF-1 dort ebenfalls die periphere Glukoseaufnahme steigert, bleibt die hepatische Glukoseproduktion unverändert (87).
Ein möglicher Erklärungsansatz für die fehlende Wirkung von IGF-1 auf die Glukoseoxidation in unserer Studie könnte in pathologiebedingten Veränderungen der IGF-1-Signalwege liegen, beispielsweise in einer veränderten Anzahl von Hybridrezeptoren. Es ist bekannt, dass die Anzahl dieser Rezeptoren in pathologischen

Zuständen variieren kann, was dazu führen könnte, dass IGF-1 in bestimmten Situationen nicht mehr in der Lage ist, den Glukosestoffwechsel zu beeinflussen (90).
Bei gesunden Probanden blieb die Glukoseoxidation unverändert, wenn sie IGF-1 über fünf Tage erhielten (88). Dies wurde darauf zurückgeführt, dass eine mehrtägige IGF-1-Behandlung die basale Insulin- und GH-Sekretion verringere (88).

Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass IGF-1 beim Menschen sowohl über IGF-1-Rezeptoren als auch über Insulinrezeptoren (79, 86) und trotz einer gleichzeitigen Hemmung der Insulinsekretion insulinähnliche Effekte zeigt (84, 85, 87). Diese Effekte treten im Rattenmodell jedoch nur teilweise auf.
Diese Studie analysierte ausschließlich den Einfluss von IGF-1 auf den myokardialen Substratstoffwechsel nach dem akuten Myokardinfarkt. Zukünftige Untersuchungen könnten klären, inwiefern IGF-1 den myokardialen Substratstoffwechsel auch unter physiologischen Bedingungen beeinflusst.
Ob die Steigerung des Fettsäuremetabolismus infolge der IGF-1-Behandlung lediglich ein Nebeneffekt des IGF-1 ist oder im Zusammenhang mit seiner kardioprotektiven Wirkung steht, lässt sich im Rahmen dieser Studie nicht beantworten. Da in einigen Studien eine Reduktion des Fettsäuremetabolismus bei der Herzinsuffizienz zu einer Verbesserung der Herzfunktion führte (60-62), war hinsichtlich der kardioprotektiven Wirkung des IGF-1 eher eine Reduktion des Fettsäuremetabolismus zu erwarten. So führte die Gabe des CPT1-Inhibitors Etomoxir in klinischen Studien zu einer Verbesserung der Ejektionsfraktion (60), während die Gabe des CPT1-Inhibitors Perhexilin zu einer Verbesserung der *New-York-Heart Association* (NYHA) Klasse (Schema zur Einteilung der Herzinsuffizienz) führte (61). Klinisch führte auch Trimetazidin, ein Inhibitor der langkettigen 3-Ketoacyl-CoA-Thiolase (ein Enzym der β-Oxidation), zu einer Verbesserung der linksventrikulären Funktion (62). Die ESC-Guidelines von 2016 zur Diagnose und Behandlung der akuten und chronischen Herzinsuffizienz (63) enthalten eine Empfehlung der Klasse IIb (Effektivität ist wenig evidenzbasiert und kann in Erwägung gezogen werden) zur Behandlung mit Trimetazidin zur Therapie persistierender Angina Pectoris Beschwerden trotz Betablockern. Eine weitere Möglichkeit ist der Einsatz von Malonyl-CoA-Decarboxylase-Inhibitoren, die zu einem erhöhten Malonyl-CoA-Level führen, wodurch CPT1 und folglich die Fettsäureoxidation gehemmt werden (83, 84). Behandlungsstrategien, die auf der direkten

Hemmung der Fettsäureoxidation basieren, sollten jedoch kritisch evaluiert werden, da die Hemmung eines energieliefernden Stoffwechselweges bei bereits eingeschränkter ATP-Produktion die Herzfunktion potenziell negativ beeinflussen könnte (35).
Möglicherweise ist die Beeinflussung des myokardialen Substratstoffwechsels lediglich ein Nebeneffekt des IGF-1 und spielt bei der Kardioprotektion keine entscheidende Rolle. Frühere Studien zeigten, dass die kardioprotektive Wirkung des IGF-1 auch bei einer Inaktivierung des IGF-1-Rezeptors in Myokardzellen erhalten bleibt. Dies deutet darauf hin, dass Kardiomyozyten vermutlich nicht das primäre Ziel der IGF-1-vermittelten Kardioprotektion sind (72).

Aufgrund seiner kardioprotektiven Wirkung stellt IGF-1 eine neue Therapieoption dar. Die Nebenwirkungen einer IGF-1-Therapie können die klinische Anwendung jedoch einschränken. In einer kleinen Studie mit gesunden Probanden führte eine intravenöse Gabe von 60 µg/kg KG IGF-1 kurzfristig zu Hypoglykämien (82). Dagegen wurden in einer Studie mit einer subkutanen Gabe von IGF-1 und einer Dosierung von 60 µg/kg KG IGF-1 in kleinen gesunden Patientenkollektiven keine Nebenwirkungen festgestellt (85). Zur Therapie des Kleinwuchses sind bei Kindern auch schon höhere Dosen von IGF-1 als subkutane Therapie für einen längeren Zeitraum zugelassen (86). Die subkutane Gabe scheint dementsprechend die zu bevorzugende Applikation zu sein.

4.4 Methodenkritik

Zur Charakterisierung der Veränderungen im Substratmetabolismus nach dem akuten Myokardinfarkt und der Beeinflussung durch IGF-1 wurde im Rahmen dieser Studie eine neu entwickelte Methode verwendet, die eine Untersuchung des myokardialen Substratmetabolismus an frischen Herzgewebeschnitten ermöglichte (80). Durch die Verwendung von Gewebeschnitten blieb der Zellverband intakt. Mithilfe des *Seahorse XF Extracellular Flux Analyzer* war es möglich, die Sauerstoffverbrauchsrate zu messen und auf zelluläre Stoffwechselwege zurückzuschließen. Eine Limitation dieser Studie ist die ausschließliche Messung der Sauerstoffverbrauchsrate; es wurden keine Substrate oder Intermediärprodukte der Stoffwechselwege gemessen. So konnte hinsichtlich des Glukosemetabolismus lediglich die Glukoseoxidation, nicht jedoch die anaerobe Glykolyse beurteilt werden.

Da in vergangenen Studien bereits eine kurzzeitige IGF-1-Behandlung zu einem Funktionserhalt führte (70, 72), wurde auch in dieser Studie eine kurzzeitige dreitägige IGF-1-Behandlung gewählt. O'Sullivan et al. (73) zeigten in ihrem Schweinemodell, dass sogar eine einmalige intrakoronare Applikation von IGF-1 in niedriger Dosis zu einer langfristig verbesserten Herzfunktion führte. Studien mit einer längerfristigen endogenen IGF-1-Überexpression zeigten im Zeitverlauf keine wesentliche Verbesserung der Herzfunktion im Vergleich zur kurzzeitigen IGF-1-Applikation (71, 87, 88). Delaughter et al. (89) gehen aufgrund von Langzeitstudien im Tiermodell von keinem Vorteil, sondern sogar von einem Überwiegen von Nebenwirkungen, wie der Ausbildung einer hypertrophen Kardiomyopathie, infolge einer langfristigen IGF-1-Therapie aus.

Zur Beurteilung der Beeinflussung des Substratstoffwechsels durch IGF-1 wurden der dritte und siebte Tag nach I/R ausgewählt. Die Messungen am ersten postoperativen Tag zeigten in den vorherigen Experimenten Stresseffekte der Operation, weshalb an diesem Tag keine Messungen mit dieser Versuchsgruppe durchgeführt wurden. Die Messungen am dritten postoperativen Tag untersuchten die frühen Effekte einer IGF-1-Therapie. Es wurden Messungen am siebten Tag durchgeführt, da in vergangenen Studien ein kardioprotektiver Effekt des IGF-1 bereits am siebten Tag nach Ischämie im Mausmodell beobachtet wurde (72, 87, 88). In einer tierexperimentellen Studie konnte sieben Tage nach einem akuten Myokardinfarkt keine weitere Verbesserung der Herzfunktion beobachtet werden (88). Die Wirkung des IGF-1 scheint daher früh einzutreten.

Der Zeitpunkt des IGF-1-Wirkeintritts ist in Studien mit Schweinemodellen deutlich später, jedoch sollte hierbei auch die längere Lebensdauer von Schweinen im Vergleich zu Mäusen berücksichtigt werden und die Zeiträume relativ zur Tierart interpretiert werden. Kotlyar et al. (70) wiesen zwei Wochen nach Ischämie noch keinen kardioprotektiven Effekt bei Schweinen nach. Erst vier Wochen nach Ischämie konnte ein Funktionserhalt festgestellt werden. Ebenso beobachteten O'Sullivan et al. (73) sogar erst zwei Monate nach akuter Ischämie eine verbesserte linksventrikuläre Funktion nach einer IGF-1-Therapie. Auch wenn der Vergleich der Studien aufgrund verschiedener IGF-1-Applikationen sowie verschiedener Tier- und Infarktmodelle erschwert ist, zeigt sich ein tendenziell zeitlich früher kardioprotektiver Wirkeintritt des IGF-1 infolge einer kurzzeitigen Behandlung.

4.5 Schlussfolgerungen

Im Rahmen dieser Dissertation konnten zeitabhängige Veränderungen des Fettsäuremetabolismus nach dem akuten Myokardinfarkt nachgewiesen werden. In der frühen Phase nach dem akuten Myokardinfarkt war der Anteil des Fettsäuremetabolismus erhöht, während dessen Anteil in der chronischen Phase abnahm. Veränderungen im Glukosemetabolismus wurden in den ersten 28 Tagen nach dem akuten Myokardinfarkt nicht beobachtet.

In zahlreichen Studien konnte eine langfristige Verbesserung der Herzfunktion nach einer IGF-1-Therapie nachgewiesen werden, sodass die IGF-1-Gabe nach dem akuten Myokardinfarkt eine neue Therapieoption darstellt. Hierbei stellten Studien eine kardioprotektive Wirkung bereits nach einmaliger oder kurzzeitiger IGF-1-Gabe fest. Über welchen Mechanismus IGF-1 seine kardioprotektive Wirkung ausübt, ist bislang ungeklärt.

In dieser Studie konnte ein Einfluss einer kurzzeitigen IGF-1-Therapie auf den Fettsäuremetabolismus festgestellt werden. So führte die IGF-1-Behandlung in der frühen Phase nach dem akuten Myokardinfarkt zu einem tendenziell geringeren Fettsäuremetabolismus und sieben Tage nach Myokardinfarkt zu einer deutlichen Steigerung des Fettsäuremetabolismus. Ob die durch IGF-1 hervorgerufenen Veränderungen im myokardialen Substratmetabolismus mit der kardioprotektiven Wirkung des IGF-1 zusammenhängen, kann in dieser Studie nicht abschließend geklärt werden und erfordert weitere Folgeexperimente.

5 Literatur- & Quellenverzeichnis

1. Robert-Koch-Institut. Gesundheit in Deutschland. Journal of Health Monitoring. 2015:24-6, 38-43.

2. Herold G. Innere Medizin2022.

3. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). European Heart Journal. 2018;40(3):237-69.

4. Robert-Koch-Institut. 12-Monats-Prävalenz einer koronaren Herzkrankheit in Deutschland. Journal of Health Monitoring 2017 2(1). 2017:64-8.

5. Anderson JL, Morrow DA. Acute Myocardial Infarction. N Engl J Med. 2017;376(21):2053-64.

6. White HD, Chew DP. Acute myocardial infarction. The Lancet. 2008;372(9638):570-84.

7. Löwel H. Koronare Herzkrankheit und akuter Myokardinfarkt. In: Robert Koch-Institut B, editor. Gesundheitsberichtersttatung des Bundes2006.

8. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2018;39(2):119-77.

9. Karam N, Bataille S, Marijon E, Tafflet M, Benamer H, Caussin C, et al. Incidence, Mortality, and Outcome-Predictors of Sudden Cardiac Arrest Complicating Myocardial Infarction Prior to Hospital Admission. Circ Cardiovasc Interv. 2019;12(1):e007081.

10. Mehta SR, Wood DA, Storey RF, Mehran R, Bainey KR, Nguyen H, et al. Complete Revascularization with Multivessel PCI for Myocardial Infarction. N Engl J Med. 2019;381(15):1411-21.

11. O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, Casey DE, Jr., Chung MK, de Lemos JA, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol. 2013;61(4):485-510.

12. Collet J-P, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-

segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). European Heart Journal. 2020;42(14):1289-367.

13. Kolwicz SC, Jr., Purohit S, Tian R. Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes. Circ Res. 2013;113(5):603-16.

14. Pape H, Kurtz A, Silbernagl S. Physiologie. Thieme, editor2019.

15. Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD, Jaswal JS, Stanley WC. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. Physiol Rev. 2010;90(1):207-58.

16. Tuunanen H, Ukkonen H, J. K. Myocardial Fatty Acid Metabolism and Cardiac Performance in Heart Failure. Current Cardiology Reports. 2008:142-8.

17. Stanley WC, Lopaschuk GD, Hall JL, McCormack JG. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions - Potential for pharmacological interventions. Cardiovascular Research. 1997;33(2):243-57.

18. Zuurbier CJ, Bertrand L, Beauloye CR, Andreadou I, Ruiz-Meana M, Jespersen NR, et al. Cardiac metabolism as a driver and therapeutic target of myocardial infarction. J Cell Mol Med. 2020;24(11):5937-54.

19. Rosano G, Fini M, Caminiti G, Barbaro G. Cardiac Metabolism in Myocardial Ischemia. Current Pharmaceutical Design. 2008;14(25):2551-62.

20. Qu Q, Zeng F, Liu X, Wang QJ, Deng F. Fatty acid oxidation and carnitine palmitoyltransferase I: emerging therapeutic targets in cancer. Cell Death Dis. 2016;7(5):e2226.

21. Houten SM, Wanders RJ. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid beta-oxidation. J Inherit Metab Dis. 2010;33(5):469-77.

22. Casademont J, Miro O. Electron transport chain defects in heart failure. Heart Fail Rev. 2002(7):131-9.

23. Houten SM, Violante S, Ventura FV, Wanders RJ. The Biochemistry and Physiology of Mitochondrial Fatty Acid β-Oxidation and Its Genetic Disorders. Annu Rev Physiol. 2016;78:23-44.

24. Heinrich P, Müller M, Graeve L. Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie. L. G, editor2014.

25. Tahri-Joutey M, Andreoletti P, Surapureddi S, Nasser B, Cherkaoui-Malki M, Latruffe N. Mechanisms Mediating the Regulation of Peroxisomal Fatty Acid Beta-Oxidation by PPARα. Int J Mol Sci. 2021;22(16).

26. Judge A, Dodd MS. Metabolism. Essays Biochem. 2020;64(4):607-47.

27. Karwi QG, Uddin GM, Ho KL, Lopaschuk GD. Loss of Metabolic Flexibility in the Failing Heart. Front Cardiovasc Med. 2018;5:68.

28. Kierans SJ, Taylor CT. Regulation of glycolysis by the hypoxia-inducible factor (HIF): implications for cellular physiology. The Journal of Physiology. 2021;599(1):23-37.

29. Jiang G, Zhang BB. Glucagon and regulation of glucose metabolism. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2003;284(4):E671-E8.

30. Aragón JJ, Sols A. Regulation of enzyme activity in the cell: effect of enzyme concentration. Faseb j. 1991;5(14):2945-50.

31. Vercellino I, Sazanov LA. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain. Nat Rev Mol Cell Biol. 2022;23(2):141-61.

32. Sousa JS, D'Imprima E, Vonck J. Mitochondrial Respiratory Chain Complexes. Subcell Biochem. 2018;87:167-227.

33. Lopaschuk GD, Karwi QG, Tian R, Wende AR, Abel ED. Cardiac Energy Metabolism in Heart Failure. Circ Res. 2021;128(10):1487-513.

34. Doenst T, Pytel G, Schrepper A, Amorim P, Färber G, Shingu Y, et al. Decreased rates of substrate oxidation ex vivo predict the onset of heart failure and contractile dysfunction in rats with pressure overload. Cardiovascular Research. 2010;86:461-70.

35. Fillmore N, Mori J, Lopaschuk GD. Mitochondrial fatty acid oxidation alterations in heart failure, ischaemic heart disease and diabetic cardiomyopathy. Br J Pharmacol. 2014;171(8):2080-90.

36. Dodd MS, Atherton HJ, Carr CA, Stuckey DJ, West JA, Griffin JL, et al. Impaired in vivo mitochondrial Krebs cycle activity after myocardial infarction assessed using hyperpolarized magnetic resonance spectroscopy. Circ Cardiovasc Imaging. 2014;7(6):895-904.

37. Masoud WG, Ussher JR, Wang W, Jaswal JS, Wagg CS, Dyck JR, et al. Failing mouse hearts utilize energy inefficiently and benefit from improved coupling of glycolysis and glucose oxidation. Cardiovasc Res. 2014;101(1):30-8.

38. Neubauer S. The Failing Heart - An Engine Out of Fuel. The New England Journal of Medicine. 2007(356):1140-51.

39. Tran DH, Wang ZV. Glucose Metabolism in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. J Am Heart Assoc. 2019;8(12):e012673.

40. Kato T, Niizuma S, Inuzuka Y, Kawashima T, Okuda J, Tamaki Y, et al. Analysis of metabolic remodeling in compensated left ventricular hypertrophy and heart failure. Circ Heart Fail. 2010;3(3):420-30.

41. Grover-McKay M, Schwaiger M, Krivokapich J, Perloff JK, Phelps ME, Schelbert HR. Regional myocardial blood flow and metabolism at rest in mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol. 1989;13(2):317-24.

42. Dávila-Román VG, Vedala G, Herrero P, De Las Fuentes L, Rogers JG, Kelly DP, et al. Altered myocardial fatty acid and glucose metabolism in idiopathic dilated cardiomyopathy. Journal of the American College of Cardiology. 2002;40(2):271-7.

43. Tuunanen H, Engblom E, Naum A, Scheinin M, Nagren K, Airaksinen J, et al. Decreased myocardial free fatty acid uptake in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: evidence of relationship with insulin resistance and left ventricular dysfunction. J Card Fail. 2006;12(8):644-52.

44. Neglia D, Caterina AD, Marraccini P, Natali A, Ciardetti M, Vecoli C, et al. Impaired myocardial metabolic reserve and substrate selection flexibility during stress in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2007;293(6):H3270-H8.

45. Zhang L, Jaswal JS, Ussher JR, Sankaralingam S, Wagg C, Zaugg M, et al. Cardiac insulin-resistance and decreased mitochondrial energy production precede the development of systolic heart failure after pressure-overload hypertrophy. Circ Heart Fail. 2013;6(5):1039-48.

46. Nikolaidis LA, Sturzu A, Stolarski C, Elahi D, Shen YT, Shannon RP. The development of myocardial insulin resistance in conscious dogs with advanced dilated cardiomyopathy. Cardiovasc Res. 2004;61(2):297-306.

47. Recchia FA, McConnell PI, Bernstein RD, Vogel TR, Xu X, Hintze TH. Reduced Nitric Oxide Production and Altered Myocardial Metabolism During the Decompensation of Pacing-Induced Heart Failure in the Conscious Dog. Circulation Research. 1998;83(10):969-79.

48. Rosenblatt-Velin N, Montessuit C, Papageorgiou I, Terrand J, Lerch R. Postinfarction heart failure in rats is associated with upregulation of GLUT-1 and downregulation of genes of fatty acid metabolism. Cardiovasc Res. 2001;52(3):407-16.

49. Sack MN, Rader TA, Park S, Bastin J, McCune SA, Kelly DP. Fatty Acid Oxidation Enzyme Gene Expression Is Downregulated in the Failing Heart. Circulation. 1996;94(11):2837-42.

50. Heather LC, Cole MA, Lygate CA, Evans RD, Stuckey DJ, Murray AJ, et al. Fatty acid transporter levels and palmitate oxidation rate correlate with ejection fraction in the infarcted rat heart. Cardiovasc Res. 2006;72(3):430-7.

51. Gupte AA, Hamilton DJ, Cordero-Reyes AM, Youker KA, Yin Z, Estep JD, et al. Mechanical unloading promotes myocardial energy recovery in human heart failure. Circ Cardiovasc Genet. 2014;7(3):266-76.

52. Taylor M, Wallhaus TR, DeGrado TR, Russell DC, Stanko P, Nickles RJ, et al. An Evaluation of Myocardial Fatty Acid and Glucose Uptake Using PET with [18F]Fluoro-6- Thia-Heptadecanoic Acid and [18F]FDG in Patients with Congestive Heart Failure. The Journal of Nuclear Medicine. 2001;42(1):55-62.

53. Voros G, Ector J, Garweg C, Droogne W, Van Cleemput J, Peersman N, et al. Increased Cardiac Uptake of Ketone Bodies and Free Fatty Acids in Human Heart Failure and Hypertrophic Left Ventricular Remodeling. Circ Heart Fail. 2018;11(12):e004953.

54. Opie LH. Myocardial ischemia—Metabolic pathways and implications of increased glycolysis. Cardiovascular Drugs and Therapy. 1990;4:770-90.

55. Riehle C, Wende AR, Zaha VG, Pires KM, Wayment B, Olsen C, et al. PGC-1beta deficiency accelerates the transition to heart failure in pressure overload hypertrophy. Circ Res. 2011;109(7):783-93.

56. Degens H, de Brouwer KF, Gilde AJ, Lindhout M, Willemsen PH, Janssen BJ, et al. Cardiac fatty acid metabolism is preserved in the compensated hypertrophic rat heart. Basic Res Cardiol. 2006;101(1):17-26.

57. Schroeder MA, Lau AZ, Chen AP, Gu Y, Nagendran J, Barry J, et al. Hyperpolarized (13)C magnetic resonance reveals early- and late-onset changes to in vivo pyruvate metabolism in the failing heart. Eur J Heart Fail. 2013;15(2):130-40.

58. Osorio JC, Stanley WC, Linke A, Castellari M, Diep QN, Panchal AR, et al. Impaired myocardial fatty acid oxidation and reduced protein expression of retinoid X receptor-alpha in pacing-induced heart failure. Circulation. 2002;106(5):606-12.

59. Liu Q, Docherty JC, Rendell JCT, Clanachan AS, Lopaschuk GD. High levels of fatty acids delay the recoveryof intracellular pH and cardiac efficiency inpost-ischemic hearts by inhibiting glucose oxidation. Journal of the American College of Cardiology. 2002;39(4):718-25.

60. Schmidt-Schweda S, Holubarsch C. First clinical trial with etomoxir in patients with chronic congestive heart failure. Clin Sci (Lond). 2000;99(1):27-35.

61. Beadle RM, Williams LK, Kuehl M, Bowater S, Abozguia K, Leyva F, et al. Improvement in cardiac energetics by perhexiline in heart failure due to dilated cardiomyopathy. JACC Heart Fail. 2015;3(3):202-11.

62. Fragasso G, Palloshi A, Puccetti P, Silipigni C, Rossodivita A, Pala M, et al. A Randomized Clinical Trial of Trimetazidine, a Partial Free Fatty Acid Oxidation Inhibitor, in Patients With Heart Failure. Journal of the American College of Cardiology. 2006;48(5):992-8.

63. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the

European Society of Cardiology (ESC)Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. Eur Heart J. 2016;37(27):2129-200.

64. Juul A, Scheike T, Davidsen M, Gyllenborg J, Jorgensen T. Low Serum Insulin-Like Growth Factor I Is Associated With Increased Risk of Ischemic Heart Disease: A Population-Based Case-Control Study. Circulation. 2002;106(8):939-44.

65. Janssen JA, Stolk RP, Pols HA, Grobbee DE, Lamberts SW. Serum total IGF-I, free IGF-I, and IGFBP-1 levels in an elderly population: Relation to cardiovascular risk factors and disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1998;18(2):277-82.

66. Ruidavets JB, Luc G, Machez E, Genoux AL, Kee F, Arveiler D, et al. Effects of insulin-like growth factor 1 in preventing acute coronary syndromes: The PRIME study. Artherosclerosis. 2011:464-9.

67. Bourron O, Le Bouc Y, Berard L, Kotti S, Brunel N, Ritz B, et al. Impact of Age-Adjusted Insulin-Like Growth Factor 1 on Major Cardiovascular Events After Acute Myocardial Infarction: Results From the Fast-MI Registry. J Clin Endocrinol Metab. 2015:1879-86.

68. Staerk L, Preis SR, Lin H, Lubitz SA, Ellinor PT, Levy D, et al. Protein Biomarkers and Risk of Atrial Fibrillation. Circulation: Arrythmia and Electrophysiology. 2020;13(2).

69. Buerke M, Murohara T, Skurk C, Nuss C, Tomaselli K, Lefer AM. Cardioprotective effect of insulin-like growth factor I in myocardial ischemia followed by reperfusion. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995;92(17):8031-5.

70. Kotlyar A-A, Vered Z, Goldberg I, Chouraqui P, Nas D, Fridman E, et al. Insulin-like growth factor I and II preserve myocardial structure in postinfarct swine. Heart. 2001;86(6):693-700.

71. Santini MP, Tsao L, Monassier L, Theodoropoulos C, Carter J, Lara-Pezzi E, et al. Enhancing repair of the mammalian heart. Circ Res. 2007;100(12):1732-40.

72. Heinen A, Nederlof R, Panjwani P, Spychala A, Tschaidse T, Reffelt H, et al. IGF1 Treatment Improves Cardiac Remodeling after Infarction by Targeting Myeloid Cells. Mol Ther. 2019;27(1):46-58.

73. O'Sullivan JF, Leblond AL, Kelly G, Kumar AH, Metharom P, Buneker CK, et al. Potent long-term cardioprotective effects of single low-dose insulin-like growth factor-1 treatment postmyocardial infarction. Circ Cardiovasc Interv. 2011;4(4):327-35.

74. Huang CL, Leblond AL, Turner EC, Kumar AH, Martin K, Whelan D, et al. Synthetic chemically modified mrna-based delivery of cytoprotective factor promotes early cardiomyocyte survival post-acute myocardial infarction. Mol Pharm. 2015;12(3):991-6.

75. Hynes B, Kumar AH, O'Sullivan J, Klein Buneker C, Leblond AL, Weiss S, et al. Potent endothelial progenitor cell-conditioned media-related anti-apoptotic,

cardiotrophic, and pro-angiogenic effects post-myocardial infarction are mediated by insulin-like growth factor-1. Eur Heart J. 2013;34(10):782-9.

76. Le Roith D. Insulin-Like Growth Factors. The New England Journal of Medicine. 1997:633-40.

77. Rinderknecht E, Humbel RE. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. Journal of Biological Chemistry. 1978;253(8):2769-76.

78. Delafontaine P, Song YH, Li Y. Expression, regulation, and function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 binding proteins in blood vessels. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2004;24(3):435-44.

79. Stewart CE, Rotwein P. Growth, Differentiation, and Survival: Multiple Physiological Functions for Insulin-Like Growth Factors. Physiological Reviews. 1996;76:1005-26.

80. Bottermann K, Spychala A, Eliacik A, Amin E, Moussavi-Torshizi SE, Klöcker N, et al. Extracellular flux analysis in intact cardiac tissue slices-A novel tool to investigate cardiac substrate metabolism in mouse myocardium. Acta Physiol (Oxf). 2023;239(2):e14004.

81. Zhabyeyev P, Gandhi M, Mori J, Basu R, Kassiri Z, Clanachan A, et al. Pressure-overload-induced heart failure induces a selective reduction in glucose oxidation at physiological afterload. Cardiovascular Research. 2013;97:676-85.

82. Russell-Jones DL, Bates AT, Umpleby AM, Hennessy TR, Bowes SB, Hopkins KD, et al. A comparison of the effects of IGF-I and insulin on glucose metabolism, fat metabolism and the cardiovascular system in normal human volunteers. Eur J Clin Invest. 1995;25(6):403-11.

83. Dyck JR, Cheng J-F, Stanley WC, Barr R, Chandler MP, Brown S, et al. Malonyl Coenzyme A Decarboxylase Inhibition Protects the Ischemic Heart by Inhibiting Fatty Acid Oxidation and Stimulating Glucose Oxidation. Circulation Research. 2004;94(9):78-84.

84. Stanley WC, Morgan EE, Huang H, McElfresh TA, Sterk JP, Okere IC, et al. Malonyl-CoA decarboxylase inhibition suppresses fatty acid oxidation and reduces lactate production during demand-induced ischemia. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2005;289:H2304-H9.

85. Donath MY, Jenni R, Brunner HP, Anrig M, Kohli S, Glatz Y, et al. Cardiovascular and metabolic effects of insulin-like growth factor I at rest and during exercise in humans. J Clin Endocrinol Metab. 1996;81(11):4089-94.

86. Collett-Solberg PF, Misra M. The role of recombinant human insulin-like growth factor-I in treating children with short stature. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(1):10-8.

87. Li Q, Li B, Wang X, Leri A, Jana KP, Liu Y, et al. Overexpression of insulin-like growth factor-1 in mice protects from myocyte death after infarction, attenuating ventricular dilation, wall stress, and cardiac hypertrophy. J Clin Invest. 1997;100(8):1991-9.

88. Gallego-Colon E, Sampson RD, Sattler S, Schneider MD, Rosenthal N, Tonkin J. Cardiac-Restricted IGF-1Ea Overexpression Reduces the Early Accumulation of Inflammatory Myeloid Cells and Mediates Expression of Extracellular Matrix Remodelling Genes after Myocardial Infarction. Mediators Inflamm. 2015;2015:484357.

89. Delaughter MC, Taffet GE, Fiorotto ML, Entman ML, Schwartz RJ. Local insulin-like growth factor I expression induces physiologic, then pathologic, cardiac hypertrophy in transgenic mice. Faseb j. 1999;13(14):1923-9.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die mich während meiner Doktorarbeit unterstützt und diese Arbeit ermöglicht haben.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Dr. André Heinen für die Bereitstellung des interessanten Themas sowie die enge wissenschaftliche Betreuung. Ich möchte mich insbesondere für die vielseitige Unterstützung, die wertvollen Anregungen und die angenehme Zusammenarbeit bedanken.

Ich danke dem Institutsleiter, Prof. Dr. Axel Gödecke, für die Förderung und Ermöglichung meines Projektes sowie dem gesamten Team des Instituts für Herz- und Kreislaufphysiologie für die bereichernde Zusammenarbeit und freundliche Atmosphäre.

Herzlichen Dank auch an meine Zweitgutachterin, Priv.-Doz. Dr. Anna Herminghaus, für die Begleitung dieser Arbeit.

Ein großes Dankeschön gilt Daniela Müller für ihren liebevollen Umgang und die geduldige Unterstützung. Ihre hilfsbereite Art und praktische Unterstützung haben die Arbeit im Labor stets bereichert und einen großen Beitrag zu dieser Arbeit geleistet.

Ich danke auch meiner Vorgängerin, Asena Eliacik, die mich liebevoll eingearbeitet und mir den Einstieg in das Projekt erleichtert hat.

Ich danke dem Programm SFB 1116 der Heinrich-Heine-Universität für die Förderung meiner Forschung.

Nicht zuletzt möchte ich von Herzen meiner Familie und meinen Freunden danken. Besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mich immer mit Liebe und großer Unterstützung jeglicher Art während des gesamten Studiums begleitet haben. Eure aufbauenden Worte, euer Vertrauen und euer Stolz haben mich immer wieder motiviert. Ich danke meinem Bruder für die stets aufbauende Anerkennung.

Ich danke vom Herzen meinem Verlobten für seine Aufmunterung in schlechten Zeiten und den emotionalen Halt. Er war in allen Phasen an meiner Seite und hat mir stets Ruhe und Zuversicht gegeben.

Meinen Freundinnen danke ich für den gemeinsamen Weg. Dass wir diese Zeit gleichzeitig erlebt, uns ausgetauscht und gegenseitig motiviert haben, hat vieles leichter gemacht.

Allen, die ich hier nicht namentlich erwähnen konnte, danke ich ebenfalls für ihre Hilfe und Unterstützung.