

**DIE ROLLE DES PEROXISOME
PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR- α -
IN DER KARDIOPROTEKTION UND IN DER
HERZINSUFFIZIENZ BEIM KANINCHEN**

HEIDI-MARIA DUWENSEE

INAUGURAL DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2006

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2006

© 2006 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der
Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: Prof. Dr. E. Petzinger
und
der Indikationsgruppe Herz-Kreislauf-Erkrankungen der
Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
Betreuer: Prof. Dr. W. Linz

**Die Rolle des Peroxisome proliferator-activated receptor- α / γ
in der Kardioprotektion und in der
Herzinsuffizienz beim Kaninchen**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet. beim Fachbereich
Veterinärmedizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

HEIDI-MARIA DUWENSEE
geb. Rauch
Tierärztin aus Offenbach (Hessen)

Gießen 2006

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

Gutachter: Prof. Dr. E. Petzinger
Prof. Dr. W. Linz

Tag der Disputation: 27.04.2006

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis

2. Einleitung

2.1	Allgemein	14
2.2	Die Herzinsuffizienz	14
2.2.1	Definition und Klassifikation der Herzinsuffizienz	14
2.2.2	Pathomechanismen der Herzinsuffizienz	17
2.2.3	Symptomatik und Diagnose der Herzinsuffizienz	21
2.2.4	Therapie der Herzinsuffizienz.....	22
2.3	Der Myokardinfarkt	25
2.3.1	Definition und Pathogenese des Myokardinfarktes	25
2.3.1.1	Ischämische Herzmuskelnekrose	27
2.3.1.2	Reperfusionsschaden	28
2.3.2	Symptomatik und Diagnose des Myokardinfarktes	29
2.3.3	Therapie des Myokardinfarktes	30
2.4	PPAR	32
2.4.1	PPAR- α / γ in der Herzinsuffizienz.....	35
2.4.2	NF- κ B Regulation.....	37
2.5	Zielsetzung der Arbeit	39
2.5.1	Vergleich der per os versus i.v. Verabreichung eines PPAR- Agonisten im akuten I/R-Modell.....	40
2.5.2	Vergleich der Wirkung des PPAR- α Agonisten A2406 mit dem PPAR- γ Agonisten Rosiglitazon in der chronischen Herzinsuffizienz.....	41

3. Material und Methoden

3.1	Tiere und deren Haltungsbedingungen	42
3.2	Verwendete Substanzen	42
3.2.1	A2406	42

Inhaltsverzeichnis

3.2.2	Rosiglitazon	43
3.3	Untersuchungen	44
3.3.1	Versuchsplan	44
3.3.2	Gruppenzusammensetzungen	46
3.3.3	Ischämie/Reperfusionstudie	48
3.3.3.1	Ischämie/Reperfusion-OP	48
3.3.3.2	Bestimmung des Körpergewichts und Blutprobenentnahmen	50
3.3.3.3	CK-, LDH-, Blutfettwerte-und Plasmakonzentrations- Bestimmungen	51
3.3.3.4	in vivo Hämodynamikmessung	52
3.3.3.5	Herzentnahme und Infarktgrößenbestimmung	52
3.3.3.6	Bestimmung der NF-κB Aktivierung	53
3.3.4	Herzinsuffizienzstudie	54
3.3.4.1	Experimenteller Myokardinfarkt	54
3.3.4.2	Bestimmung des Körpergewichts und Blutprobenentnahme	55
3.3.4.3	proANP-Bestimmung, Aldosteron-Bestimmung, Plasmakonzentrationsnachweis	56
3.3.4.4	Echokardiographie	56
3.3.4.4.1	Methodik	57
3.3.4.4.2	Durchführung der Echokardiographie und Messparameter	58
3.3.4.5	Abschließende Untersuchung	60
3.3.4.5.1	Messung der hämodynamischen Parameter	60
3.3.4.5.2	Herz-, Aorten- und Leberentnahme, Gewichts- und Infarktgrößenbestimmung	61
3.4	Statistik	61

4. Ergebnisse

4.1	Ischämie-/Reperfusionstudie	63
4.1.1	Mortalitätsrate und Gruppengröße	63
4.1.2	Ermittlung der Pharmakokinetik	64
4.1.3	Ergebnisse der Infarktgrößenbestimmung	66
4.1.3.1	Per os Studie	66

Inhaltsverzeichnis

4.1.3.2	Intravenöse Studie	68
4.1.4	Ergebnisse der Blutparameter	70
4.1.4.1	Ergebnisse der Bestimmung von Creatinkinase (CK)	70
4.1.4.2	Ergebnisse der Bestimmung von Lactatdehydrogenase (LDH)....	71
4.1.4.3	Ergebnisse der Bestimmung von Cholesterin, Triglyceriden und HDL-/LDL-Fraktionen.....	71
4.1.5	Ergebnisse der Hämodynamik.....	72
4.1.6	Ergebnisse der NF- κ B Aktivierung	74
4.2.	Herzinsuffizienzstudie.....	77
4.2.1	Mortalitätsrate und Gruppengröße	77
4.2.2	Ergebnisse der Echokardiographie	78
4.2.3	Bestimmung der Blutparameter.....	80
4.2.3.1	Ergebnisse der Bestimmung von Creatinkinase (CK)	80
4.2.3.2	Ergebnisse der Bestimmung von Cholesterin, Triglyceriden und HDL-/LDL-Fraktion	81
4.2.3.3	Ergebnisse der Bestimmung von Aldosteron	84
4.2.3.4	Ergebnisse der Bestimmung von proANP	84
4.2.4	Ergebnisse der Hämodynamik	85
4.2.4.1	Ergenbisse des Linksventrikulären systolischen Druck.....	85
4.2.4.2	Ergebnisse der maximalen Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) und der maximalen Druckerfallsgeschwindigkeit (dp/dt_{min})	86
4.2.4.3	Ergebnisse der Herzfrequenz (HR).....	88
4.2.5	Körper-, Herz- und Ventrikelgewichte	88
4.2.6	Ergebnisse der Infarktgrößenbestimmung.....	90
4.2.7	Ergebnisse der NF- κ B Aktivierung.....	90

5. Diskussion

5.1	Das Modell des hypercholesterin gefütterten, myokardinfarzierten und herzinsuffizienten Kaninchen	92
5.2	Einfluss der PPAR- α/γ Agonisten auf das kardiovaskuläre System - kontroverse Wirkungsweisen	93

Inhaltsverzeichnis

5.3	Pharmakokinetik von A2406 und Rosiglitazon im Kaninchen	94
5.4	Einfluss von A2406 und Rosiglitazon auf das infarzierte und reperfundierte Herz	96
5.5	Einfluss von A2406 und Rosiglitazon auf das insuffiziente Herz	100
5.6	Abschließende Betrachtung	106
6. Zusammenfassung		109
7. Summary		111
8. Anhang		112
9. Literaturverzeichnis		114
10. Danksagung		144
11. Erklärung		146

1. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie
AAR	Area at risk
Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme/Angiotensin-Konversions-Enzym
Ang I	Angiotensin I
Ang II	Angiotensin II
ANP	atriales natriuretisches Peptid
apoA1	apolipoprotein A1 (Tiermodell für high-density lipoprotein (HDL) cholesterol Metabolismus)
ASS	Acetylsalicylsäure
ath.	atherogen
atm	Atmosphäre
BNP	brain natriuretisches Peptid
BP	Blutdruck
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
Ca ²⁺	Kalzium
ca.	circa
CHF	Congestive heart failure
CK	Creatinkinase
Cmax	maximale Konzentration
cm	Zentimeter
CRP	C-reaktives Protein
CNP	kardiale natriuretische Peptide
CO ₂	Kohlendioxid
COX2	Cyclooxygenase 2
d	day/Tag
DecdT	deceleration time/Abstiegszeit
DG	Disease Group
d.h.	das heißt

Abkürzungsverzeichnis

dP/dt _{max}	maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit
dP/dt _{min}	maximale Druckabfallsgeschwindigkeit
Dr.	Doktor
EC	Effektivkonzentration des Wirkstoffes
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz-Dihydrat
EF l.a.	Ejection fraction/Auswurfraction lange Achse
EMSA	Electromobility shift assay
eNOS	endotheliale NO-Synthase
et al.	“et alii”
F	French
Fa.	Firma
FAO	Fettsäuren β -Oxidation
FS	Fractional shortening/Verkürzungsfraction
g	Gramm
Gr.	Größe
H	Wasserstoff
h	hour/Stunde
HDL	„high density lipoprotein“
HG	Herzgewicht
Hg	Quecksilber
HM	Hämodynamik-Messung
HR	Herzfrequenz
Hz	Hertz
HZV	Herzzeitvolumen
IACS	Inhibitor des Apoptosis Factor
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
IFN- γ	Interferon- γ
IL-1/-6	Interleukin-1/-6
i.m.	intramuskulär
Inf.%	Infarktgebiet in %
iNOS	induzierbare NO-Synthase
i.v.	intravenös

Abkürzungsverzeichnis

KCl	Kaliumchlorid
Kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
l	Liter
LDL	„low density lipoprotein“
li.	links
LPS	Lipo-Poly-Saccharide
LV	linker Ventrikel
LVDed	linksventrikulärer Diameter enddiastolisch
LVDsys	linksventrikulärer Diameter systolisch
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVSP	linksventrikulärer systolischer Druck
LVSed	linksventrikuläres Septum enddiastolisch
LVV	linksventrikuläres Volumen
LWV	Gewicht des linken Ventrikel
M.	Musculus
max.	maximal
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
MI	Myokardinfarkt
Min.	Minute
min.	minimal
ml	Milliliter
M-Mode	Motion display Modus
MnSOD	Magnesium-Superoxid-Dismutase
MW	Mittelwert
n	Anzahl
Na ⁺	Natrium
NF-κB	Nuclear factor-kappaB
NHE	Na ⁺ -H ⁺ -exchanger/Na ⁺ -H ⁺ -Austauscher
nNOS	neuronale NO-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxidsynthase

Abkürzungsverzeichnis

NYHA	New York Heart Association
o.a.	oben angeführt
oD	optische Dichte
O ₂	Sauerstoff
OP	Operation
p	Irrtumswahrscheinlichkeit/Signifikanz
pH	potentia Hydrogenii „Stärke des Wasserstoffs“ (negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration)
PPAR	Peroxisom proliferator activator receptor
PPRE	PPAR-Response-Elements
Prof.	Professor
PWed	posteriore Wand enddiastolisch
PWes	posteriore Wand endsystolisch
RAAS	Renin Angiotensin Aldosteron System
re.	rechts
Risc.%	Risikogebiet in %
RXR	Retinoid X Receptor
S.	Seite
SAS	sympathisch adrenerges System
s.c.	subcutan
Sek.	Sekunde
SEM	Standard error of mean / Mittlerer Fehler des Mittelwertes
Sham	Scheinoperiert
s.o.	siehe oben
sog.	sogenannt
t	time/Zeit
Tab.	Tabelle
Tmax	Zeitpunkt der maximalen Konzentration
TNF- α	Tumor necrosis factor-alpha
t-Test	statistischer Test
u.a.	unter anderem

Abkürzungsverzeichnis

Vcf	velocity of circumferential fiber shortening/wandspannungsabhängige zirkumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit
vgl.	vergleiche
vs.	versus
WHO	World Health Organization/ Weltgesundheitsorganisation
Wo.	Woche
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

2. Einleitung

2.1 Allgemein

Die Prävalenz von Herz-Kreislaufkrankungen ist trotz der Fortschritte in Forschung und Entwicklung neuer Arzneistoffe in den letzten Jahren stetig angestiegen. Übergewicht, ungesunde Ernährung, Bewegungsmangel und Tabakkonsum werden als typische Merkmale der Wohlstandsgesellschaft betrachtet (American Heart Association, 2005) und sind für einen erheblichen Teil des kardiovaskulären Risikos verantwortlich.

Herz-Kreislaufkrankungen sind bereits die häufigste Todesursache in den westlichen Industrienationen und werden voraussichtlich 2020 die häufigste Todesursache weltweit sein. Bei nahezu jedem zweiten Verstorbenen in Deutschland wurde der Tod durch eine Erkrankung des Kreislaufsystems ausgelöst. Infolge von Kreislaufkrankungen starben insbesondere ältere Menschen, ca. 90% dieser Verstorbenen waren >65 Jahre alt (Statistisches Bundesamt, Pressemitteilung Februar 2005).

Der Bedarf an neuen Wirkstoffen für Therapie und Prophylaxe kardiovaskulärer Ereignisse ist daher größer denn je.

Die Fortschritte in der akuten Therapie führen zwar zu einer Senkung der Mortalität im akuten Krankheitsgeschehen, jedoch erhöht sich dadurch die Zahl der Patienten, die im Anschluss eine intensive therapeutische Betreuung benötigen.

2.2 *Die Herzinsuffizienz*

2.2.1 Definition und Klassifikation der Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz ist ein klinisches Syndrom, das gekennzeichnet ist durch die Unfähigkeit des Herzens, trotz ausreichenden Blutangebotes und Füllungsdruckes den Organismus in Ruhe und unter Belastung ausreichend mit Blut zu versorgen und den venösen Rückfluss wieder voll aufzunehmen

(Roskamm & Reindell, 1996). Sie kann akut oder chronisch auftreten. Als Ursachen einer akuten Herzinsuffizienz kommen akute Myokarditis, Asphyxie oder Kammer- und Vorhoffarrhythmie in Frage. Eine chronische Herzinsuffizienz hingegen entwickelt sich idiopathisch im Rahmen einer dilatativen Kardiomyopathie oder infolge koronarer Herzkrankheit, Myokardinfarkt, Hypertonie, Klappenfehlern oder chronischen Vergiftungen (Roskamm & Reindell 1996). Sie sollte nicht als ein Endstadium, sondern als ein dynamischer Prozess betrachtet werden, in dem verschiedene mechanische, molekulare, immunologische, ischämische, arrhythmogene, vaskuläre und skelettmuskuläre Prozesse zu Symptomen und zu einer Verschlechterung des Krankheitszustandes führen (Kamran Baig et al., 1998).

Die Charakterisierung der Herzinsuffizienz bezieht demnach nicht nur die Pathophysiologie des Herzens mit ein, sondern auch konsekutive Veränderungen in der Peripherie.

Des Weiteren wird, je nach dem ob der linke oder rechte Ventrikel maßgebend am Pumpversagen beteiligt ist, eine Linksherzinsuffizienz von einer Rechtsherzinsuffizienz differenziert, wobei auch eine Kombination aus beiden, die sogenannte Globalherzinsuffizienz, auftreten kann.

Die Rechtsherzinsuffizienz ist häufig Folge einer chronischen Überbelastung oder entsteht durch eine myokardiale Schädigung. Eine chronische Druck- und / oder Volumenbelastung des rechten Ventrikels tritt bei einer Insuffizienz des linken Ventrikels, beim Vorliegen einer Mitralisstenose, bei der Pulmonalstenose und bei der pulmonalen Hypertonie auf (Roskamm & Reindell, 1996).

Die Linksherzinsuffizienz entwickelt sich ebenfalls infolge einer akuten myokardialen Schädigung oder einer chronischen Überbelastung. Die häufigste akute Schädigung stellt der Myokardinfarkt dar, der in der Regel die freie Wand des linken Ventrikels betrifft. Einer chronischen, sich langsam über Jahre hin entwickelnden Linksherzinsuffizienz hingegen liegen insbesondere eine koronare Herzerkrankung oder arterielle Hypertonie zugrunde. Seltener sind Kardiomyopathien, Klappenfehler, Herzrhythmusstörungen und angeborene bzw. erworbene Herzfehler sowie toxische Schädigungen (z.B. Alkohol) ursächlich für eine chronische Herzinsuffizienz verantwortlich (Mutschler et al., 1997).

Der linksventrikulären Dysfunktion ist eine größere Bedeutung zuzusprechen, jedoch kann sie in ihrem Verlauf oft zu der Entwicklung einer Rechtsherzinsuffizienz führen.

Schließlich können Funktionsstörungen des Herzens sowohl die Diastole als auch die Systole betreffen, wonach man pathophysiologisch eine diastolische von einer systolischen Dysfunktion unterscheidet.

Die häufiger auftretende linksventrikuläre systolische Dysfunktion entspricht einer Einschränkung der Entleerung des linken Ventrikels und wird in der Regel definiert durch eine Auswurffraktion $<40\%$. Als Ursachen hierfür können ischämische (koronare Herzkrankheit) sowie nichtischämische (z.B Hypertonie) in Frage kommen, wobei die koronare Herzkrankheit (KHK) etwa zwei Drittel aller Fälle ausmacht (Gomberg-Maitland et al., 2001).

Die linksventrikuläre diastolische Dysfunktion ist charakterisiert durch Abnormalitäten in der diastolischen Relaxation des Ventrikels mit veränderten Flussparametern in der Füllungsphase und einer verringerten Compliance des linken Ventrikels. Sie liegt bei etwa einem Drittel der Patienten, häufig auch kombiniert mit einer systolischen Funktionsstörung vor (Waggoner, 2000).

Eine praktische Einteilung der Herzinsuffizienz in verschiedene Schweregrade wird anhand der funktionellen Klassifikation gemäss den Richtlinien der New York Heart Association (NYHA I-IV) durchgeführt (Siegenthaler, 2000).

- **NYHA-Stadium I:** völlige Beschwerdefreiheit bei normaler körperlicher Belastung
- **NYHA-Stadium II:** leichte Einschränkung der körperlichen Belastbarkeit; in Ruhe und bei leichter körperlicher Belastung besteht Beschwerdefreiheit
- **NYHA-Stadium III:** starke Einschränkung der Belastbarkeit, Wohlbefinden in Ruhe, aber Beschwerden schon bei leichter körperlicher Tätigkeit
- **NYHA-Stadium IV:** der Patient hat schon in Ruhe Beschwerden, zu körperlicher Belastung ist er kaum noch fähig, Bettlägerigkeit.

2.2.2 Pathomechanismen der Herzinsuffizienz

Nach einer initialen myokardialen Schädigung durch Druck-/Volumenüberlastung oder Gewebeverlust infolge einer akuten Ischämie bzw. Infarkt kommt es - mit dem Ziel der Aufrechterhaltung eines bedarfsgerechten Schlagvolumens – kompensatorisch zu einem ventrikulären Remodeling mit Myozytenhypertrophie und anschließender ventrikulärer Dilatation (Cohn et al., 2000). Die ventrikuläre Dilatation führt über einen dehnungsinduzierten programmierten Zelltod (Apoptose) zu einer weiteren Dilatation und somit zu einer progredienten Myokardschädigung (Anversa et al., 1996). Zur Kompensation der reduzierten kardialen Pumpleistung und als Folge der Minderperfusion lebenswichtiger Organe kommt es zudem systemisch zu einer neuroendokrinen Aktivierung; es erfolgt die Aktivierung des sympathischen Nervensystems und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), eine erhöhte Freisetzung von NO, Vasopressin und Zytokinen und eine Erhöhung des Plasmaendotelinspiegels (Middelkauff, 1997). Die Konsequenzen der neuroendokrinen Aktivierung sind eine periphere Vasokonstriktion, Flüssigkeitsretention, eine erhöhte Arrhythmieeigung und Katecholaminrefraktärität des Herzens sowie klinisch eine Verschlechterung der Symptomatik des Patienten (Schrier et al., 1999). Darüber hinaus begünstigen Angiotensin II und eine β_1 -Adrenorezeptorenstimulation weiterhin einen Zelltod durch Apoptose und Nekrose (Sabbah & Sharova, 1998). Neben diesen Prozessen sind in den Kardiomyozyten auch Störungen des Kalzium-Stoffwechsels zu beobachten, die zu Störungen im Ablauf von Kontraktion und Relaxation im Myokard führen. Im remodelten Myokard ist der Gehalt des sarkoplasmatischen Retikulums und der Ca^{2+} -Kanäle und Ca^{2+} -Pumpen relativ zur Masse erniedrigt (Arai et al., 1993; Beuckelmann et al., 1992). Aufgrund der Kalziumüberladung der Zellen ist eine Dysfunktion des Herzens die Folge. Die chronische Herzinsuffizienz stellt somit einen dynamischen Prozess dar, bei dem Kompensationsmechanismen in einem Circulus vitiosus zu einer weiteren kardialen Funktionsverschlechterung und damit Progression der Erkrankung beitragen.

Das sympathische Nervensystem wird bei der Herzinsuffizienz sehr früh aktiviert, wodurch es zu einer zwei- bis dreifachen Erhöhung der

Sympathikusaktivität kommt (Böhm, 2002). Diese Aktivierung erfolgt über sog. Barorezeptoren, die Druck-, Volumen- oder Frequenzveränderungen in großen Gefäßen oder im Herzen wahrnehmen und an das zentrale Nervensystem mitteilen. Durch die reaktiv erhöht zirkulierenden Katecholamine kommt es zu systemischer und renaler Vasokonstriktion, positiv inotroper und chronotroper Wirkung, gesteigerter Natrium-Reabsorption in der Niere und Aktivierung des RAAS mit Anstieg von Renin, Angiotensin II und Aldosteron. Angiotensin II bewirkt an Gefäßen und der Niere ähnliche Effekte wie Noradrenalin. Das biologisch aktive Angiotensin II wird durch das Angiotensin-Konversions-Enzym (ACE) aus Angiotensin I gebildet. Angiotensin II bewirkt die Freisetzung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde, das zu einer verstärkten Natrium- und Wasserretention in den Nieren führt und somit zu einer Zunahme des Blutvolumens, was wiederum einen Blutdruckanstieg sowie eine Erhöhung der Vor- und Nachlast mit sich bringt (Jackson et al., 2000). Neben der systemisch hämodynamischen Wirkung des Angiotensin II übt es auch die Rolle eines auto- und parakrinen Hormons aus, indem es auf zelluläre Funktionen wie Wachstum und Differenzierung Einfluss nimmt (Dell'Italia et al., 1997; Studer et al., 1994). Es konnten des Weiteren für Angiotensin II ein Einfluß auf Myozyten- und Fibroblasten-Hypertrophie, eine differenzierte Regulation vieler Faktoren des Kollagenstoffwechsels (Brilla et al., 1994), die Stimulation der Synthese proinflammatorischer Zytokine und die Induktion der Apoptose (Kajstura et al., 1997) gezeigt werden. Neben der Aktivierung von Angiotensin II katalysiert das ACE auch die Inaktivierung von Bradykinin, welches als Vasodilatator fungiert und für eine Vielzahl kardioprotektiver Funktionen verantwortlich gemacht wird (Linz et al., 1995). Dieser vermehrte Abbau unterstützt folglich zusätzlich den Prozess der Herzinsuffizienz, da das normalerweise herrschende Gleichgewicht zwischen Kontraktion und Relaxation nicht aufrecht gehalten werden kann, sondern zu Gunsten der Vasokonstriktion verschoben ist (Drexler, 1998; Zelis & Flaim, 1982).

Endothelin-1 (ET-1), ein potenter Vasokonstriktor, wird vom vaskulären Endothel und Myokard produziert und ist ebenfalls an der Regulation von Myokardfunktionen, Gefäßtonus und peripherem Widerstand bei der

Herzinsuffizienz wesentlich beteiligt. Klinische und experimentelle Studien haben gezeigt, dass bei schwerer Herzinsuffizienz die Endothelinspiegel bei den Patienten um das zwei- bis dreifache ansteigen können (Wei et al., 1994; Pacher et al., 1993). ET-1 greift zusätzlich in das Zusammenspiel von Kollagensynthese und -abbau ein, wobei erste tierexperimentelle Studien mit Endothelin-Rezeptor-Antagonisten eine Reduktion des Remodelings zeigen (Fuchs & Drexler, 2000). Klinisch konnte jedoch kein Effekt gezeigt werden.

Schliesslich ist, vermittelt über Barorezeptoren, auch die Freisetzung des Polypeptides Vasopressin (antidiuretisches Hormon, ADH) bei Herzinsuffizienz erhöht und trägt zu Flüssigkeitsretention und peripherer Widerstandserhöhung und somit zu einem fördernden Einfluss auf die Progression der Erkrankung bei (Rickenbacher, 2001).

Diese neuroendokrin, vasokonstriktorischen und flüssigkeitsretinierenden Systeme werden unter physiologischen Bedingungen durch antagonistische Systeme über komplexe Interaktionen in einem empfindlichen Gleichgewicht gehalten. Aus der Gruppe der natriuretischen Peptide spielen vor allem das atriale natriuretische Peptid (ANP) und das brain natriuretische Peptid (BNP) bei Herzinsuffizienz eine Rolle. ANP wird primär aus den Vorhöfen, BNP aus den Ventrikeln bei Vorhofdehnung bzw. erhöhtem Füllungsdruck freigesetzt (Boland et al., 1998).

Natriuretische Peptide bewirken eine Vasodilatation, erhöhen die renale Natrium-Ausscheidung und haben antiproliferative Effekte am Myokard. Sie werden deshalb als physiologische Antagonisten von Angiotensin II angesehen. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass die Konzentrationen der natriuretischen Peptide sehr gut negativ mit der linksventrikulären Ejektionsfraktion des Herzens korrelieren. BNP zeigt hierbei eine deutlichere Abhängigkeit von der klinischen Schwere der Herzinsuffizienz als ANP (Mair et al., 2001) und wird heute als Hauptmarker zur Überwachung des Therapieerfolges und der Prognose der Herzinsuffizienz verwendet (Maisel et al., 2002).

Die chronische Herzinsuffizienz geht mit endothelialer Dysfunktion und verminderter endothelvermittelter Vasodilatation einher, welche zumindest teilweise durch verminderte Synthese und Freisetzung als auch durch erhöhte

Deaktivierung von Stickstoffmonoxid (NO) zu erklären ist. Die Bildung von NO aus L-Arginin wird durch drei NO-Synthetasen (NOS) katalysiert: die neuronale NO-Synthetase (nNOS), die endotheliale NO-Synthetase (eNOS) und die induzierbare NO-Synthetase (iNOS) (Förstermann et al., 1991; Moncada & Higgs, 1993). Im kardiovaskulären System sind besonders die eNOS und die iNOS von Bedeutung. Die NO-Produktion durch die iNOS führt über Peroxynitrit und andere toxische Metaboliten zu Apoptose, zytotoxischen Effekten und Veränderungen der Kontraktilität (Csont et al., 2005). Die im Herz vorherrschende Form ist die eNOS, welche im vaskulären Endothel und in Kardiomyozyten exprimiert wird.

Das von der eNOS gebildete NO reguliert physiologischerweise die Vasorelaxation, hemmt die Plättchenaggregation und -adhäsion, die Monozytenadhäsion, die Proliferation glatter Muskelzellen, die Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle sowie die ET-1-Produktion (Taddei et al., 2000). Weiterhin konnte die eNOS als ein wichtiger Regulator des myokardialen Sauerstoffverbrauchs identifiziert werden (Trochu et al., 2003). Eine Studie mit eNOS-Knockout Mäusen zeigte, dass durch eine erniedrigte eNOS-Expression in der Herzinsuffizienz das ventrikuläre Remodeling verstärkt wird, bzw. dass NO das Remodeling nach Myokardinfarkt limitiert (Scheerer-Crosbie et al., 2001).

Immer mehr Aufmerksamkeit haben in den letzten Jahren die Zytokine im Zusammenhang mit der Herzinsuffizienz erhalten. In Untersuchungen konnten erhöhte Plasmaspiegel im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz von einigen proinflammatorischen Zytokinen, dem Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β), -2 (IL-2) und -6 (IL-6) nachgewiesen werden (Fuchs & Drexler, 2000). Ähnlich wie die Zytokine scheint oxidativer Stress, der durch verminderte Aktivität antioxidativer Systeme und vermehrte Produktion von Sauerstoffspezies in der chronischen Herzinsuffizienz erhöht ist, funktionelle und strukturelle Veränderungen am Myokard auszuüben und am Prozeß des Remodeling beteiligt zu sein. (Rauchhaus & Müller-Werdau, 2001).

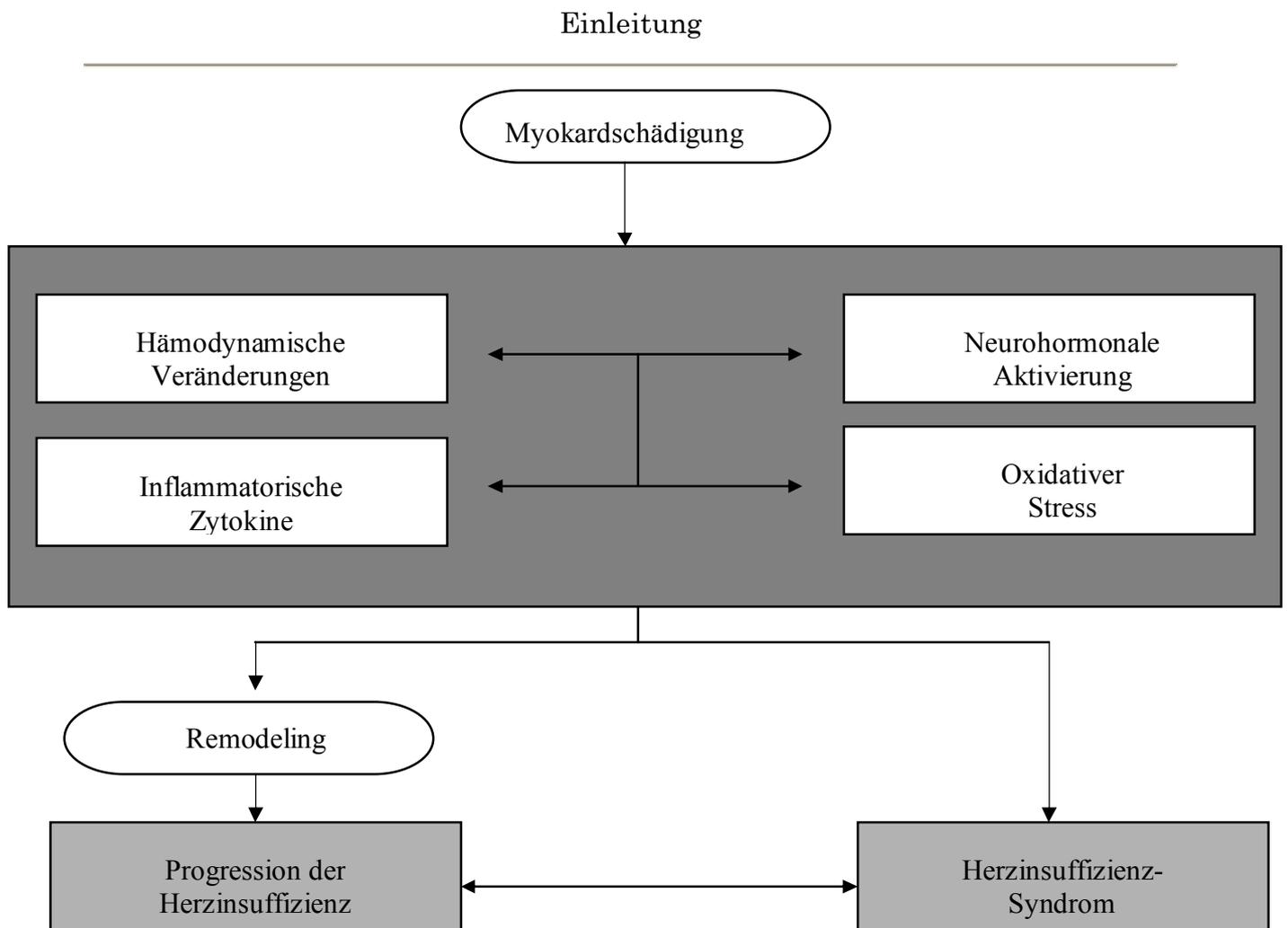


Abb.1: Circulus vitiosus bei chronischer Herzinsuffizienz

2.2.3 Symptomatik und Diagnose der Herzinsuffizienz

Die Sicherung der Diagnose einer chronischen Herzinsuffizienz beruht auf der typischen Symptomatik des Patienten, wobei es zu einer Leistungsminderung, Belastungsdyspnoe sowie paroxysmaler nächtlicher Dyspnoe mit eventuellem Husten kommen kann. Begleitend können klinische Befunde wie Ödeme abhängiger Körperpartien, Tachykardie, Hepatomegalie, hepatojugulärer Reflux, Aszites, Jugularvenenstauung, pulmonale Rasselgeräusche, Kardiomegalie oder ein 3. Herzton erhoben werden. Das klinische Bild der Herzinsuffizienz kann in seinem Schweregrad stark variieren und korreliert nicht immer mit der kardialen Funktion.

Zur Einleitung der adäquaten, gegebenenfalls kausalen Therapie ist es entscheidend, die Ätiologie der Herzinsuffizienz zu klären und den Schweregrad einzuschätzen (siehe Einteilung der NYHA Stadien; Siegenthaler, 2000).

Die Anamnese kann bereits einen Anhalt für eine kardiale Erkrankung geben wie z.B. früherer Myokardinfarkt, Angina pectoris, Hypertonie, rheumatisches Fieber, Alkoholabusus, etc..

Zur exakten Diagnostik sollten bei jedem Patienten Laboruntersuchungen, ein EKG zur Beurteilung des Herzrhythmus (z.B. Zeichen des abgelaufenen Infarkts, Myokardhypertrophie) und gegebenenfalls Röntgen-Thorax-Aufnahmen für den Nachweis einer eventuellen pulmonalen Stauung, Kardiomegalie oder Pleuraerguss, durchgeführt werden. Als besonders hilfreich zur Diagnosestellung, Schweregradbeurteilung und Verlaufskontrolle hat sich die zweidimensionale Echokardiographie einschließlich Dopplersonographie erwiesen. Weitere Untersuchungsmethoden sind die Radionuklidventrikulographie zur Beurteilung der Ventrikelfunktion sowie die (Spiro-) Ergometrie als Belastungstest und die Magnetresonanztomographie, um eine Darstellung der kompletten Morphologie des Herzens, seiner benachbarten Strukturen und der intrakardialen und intravasalen Volumina zu erhalten (Kindermann et al., 2002). Die Messung von BNP verspricht außerdem in der Diagnose der Herzinsuffizienz zur Abschätzung der Prognose und des Therapierfolges einige wichtige Hinweise zu geben.

2.2.4 Therapie der Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz-Therapie hat das vordringliche Ziel, die Letalität zu senken, aber auch die Progression einer bestehenden kardialen Funktionsstörung bereits im asymptomatischen Stadium zu vermeiden bzw. zu verlangsamen, die Symptome und damit Lebensqualität der Patienten zu verbessern, die Hospitalisationsrate zu vermindern und hämodynamische Parameter zu verbessern. Hierzu stehen medikamentöse und nicht-medikamentöse therapeutische Maßnahmen zur Verfügung.

Liegt eine behebbare Herzinsuffizienzursache vor, ist die kausale Therapie (medikamentös, katheterinterventionell, operativ) vordringlich. Nichtmedikamentöse Maßnahmen (Reduktion von Übergewicht, Begrenzung der Kochsalzzufuhr auf <3 g pro Tag, Vermeidung von Alkoholkonsum und Rauchen, Normalisierung der Cholesterinwerte, in schweren Fällen Limitierung der

Flüssigkeitszufuhr und ausreichend viel Bewegung) sind auf jeden Fall unterstützend zu den verschiedenen Therapiemöglichkeiten zu ergänzen. (Osterziel & Dietz, 2000).

Eine adäquate medikamentöse Versorgung der herzinsuffizienten Patienten muss auf ein therapeutisches Kurz- und Langzeitziel ausgerichtet sein. Während früher hauptsächlich positiv inotrope Substanzen (Digitalis) eingesetzt wurden, um die Pumpleistung des Herzens zu verstärken, hat sich aufgrund der eindeutigen Ergebnisse klinischer Studien der letzten 20 Jahre ein Wandel in dem therapeutischen Konzept vollzogen (Mutschler et al., 1997). Heute werden vorwiegend Wirkstoffgruppen eingesetzt, die zum einen die Herzarbeit ökonomisieren und zum anderen die einsetzenden Kompensationsreaktionen des Körpers wie die erhöhte Aktivität des Sympathikus und des RAAS vermindern oder sogar aufheben (Mutschler et al., 1997).

Zur Basistherapie gehören ACE-Hemmer, Diuretika und Digitalis (Gheorghide et al., 1998) und seit kurzem auch die β -Rezeptorenblocker. Die American Heart Association empfiehlt als Therapie der Herzinsuffizienz die 4er-Kombination der o.g. Wirkstoffgruppen.

Diuretika sind bei jeder Form der Herzinsuffizienz, die mit einer Flüssigkeitsretention einhergeht (z.B. periphere Ödeme, Lungenstauung) indiziert (Richardson et al., 1987).

Digitalis (Herzglykoside) wirken über eine Hemmung der Na^+/K^+ -ATPase positiv inotrop, senken die Herzfrequenz und vermindern die neurohormonale Aktivierung bei Patienten mit Herzinsuffizienz (Gheorghide et al., 1995; Krum et al., 1995).

ACE-Hemmer inhibieren nicht nur die Konversion von Angiotensin I zu Angiotensin II, sondern auch den Abbau von Kininen. Eine Hemmung der Kininase II = ACE beinhaltet daher eine doppelte Wirkung, nämlich die Abschwächung der Wirkung des Vasokonstriktors Angiotensin II und die Verstärkung der Wirkung des Vasodilatators Bradykinin. Somit ergibt sich die Blutdrucksenkung und konsekutiv die Senkung der Vor- und Nachlast des Herzens als Hauptwirkung der ACE-Hemmer (Wollert et al., 1994).

Das sympathische Nervensystem wird unabhängig von dem auslösenden Faktor schon sehr früh im Verlauf der Herzinsuffizienz aktiviert (Abraham, 2000).

Während dies kurzzeitig zu einer Verbesserung der Herzfunktion führt, gibt es heute keine Zweifel mehr darüber, dass die chronische Erhöhung des Sympathikustonus entscheidend zur Verschlechterung des Krankheitsbildes beiträgt. Dies macht deutlich, warum β -Blocker ein wichtiger Teil der Therapie der Herzinsuffizienz sind.

β -Adrenorezeptorenblocker hemmen kompetitiv β -Adrenorezeptoren und heben durch Blockade der β_1 -Rezeptoren die positiv inotrope und chronotrope Wirkung am Herzen und durch partielle Stimulation der β_2 -Rezeptoren die vasodilatierende Wirkung der Katecholamine an der glatten Muskulatur auf (Mutschler et al., 1997). Man unterscheidet zwischen β_1 -selektiven und nichtselektiven β -Blockern. Allen β -Blockern ist gemein, dass sie initial negativ inotrop wirken und zunächst zu einer Verschlechterung der Symptomatik führen können (Steering Comitee in Heart Failure, 1998). Die positiven Effekte der adrenergen Inhibitoren sind teilweise erst nach ein bis zwei Monaten feststellbar (Hall et al., 1995).

In der 2003 veröffentlichten EPHEBUS-Studie (Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study) konnte der positive Nutzen von Eplerenon, einem Aldosteronantagonisten, zu dem einer optimierten Standardtherapie mit ACE-Hemmern und Betablockern gezeigt werden. Der seit September 2004 in Deutschland zugelassene Aldosteronantagonist verringert das Risiko der kardiovaskulären Mortalität und Morbidität bei stabilen Patienten mit linksventrikulärer Dysfunktion und klinischen Zeichen einer Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt (Pit et al., 2003).

Eplerenon hemmt dabei kompetitiv die Bindung von Aldosteron an den zytoplasmatischen Rezeptor, woraus eine verminderte Kaliumausscheidung und eine verringerte Natriumrückresorption resultiert. Durch die damit verbundene vermehrte Ausscheidung von Wasser wird eine Senkung der Vorlast erreicht. Als weiterer Wirkungsmechanismus wird eine verminderte Kollagenbildung und ein verminderter Umbau der Muskulatur postuliert (Overbeck, 2004).

Trotz dieser etablierten medikamentösen Therapie bei herzinsuffizienten Patienten muß weiter untersucht werden, inwieweit der Einsatz neuer Therapeutika in Kombination mit den vorhandenen Standardtherapeutika sinnvoll sein kann.

2.3 Der Myokardinfarkt

2.3.1 Definition und Pathogenese des Myokardinfarktes

Unter Myokardinfarkt (MI) bzw. Herzinfarkt versteht man die Zerstörung mehr oder weniger ausgedehnter, begrenzter Gebiete des Herzmuskels. Ein Herzinfarkt ist die Folge einer Unterbrechung der Blutversorgung im Kranzadergebiet, welche durch Verschluss der Blutgefäße durch Embolie, Blutpfropfbildung oder Verkalkungsprozesse sowie durch länger andauernde Verkrampfungen eines Gefäßgebietes ausgelöst werden kann. Er kann durch Vernarbung ausheilen oder zum Tod durch plötzlichen Herzstillstand führen (Hort, 2000).

Das entscheidende morphologische Kriterium eines Herzinfarktes ist der irreversible Untergang von Herzmuskelzellen, der erst nach dem Überschreiten der Wiederbelebungszeit des Myokards beginnt. Die Zelluntergänge beginnen im Myokard an jenen Stellen, die von den zuführenden Arterien am weitesten entfernt sind, im Subendokard. Von dessen Zentrum breiten sie sich langsam in die seitlichen subendokardialen Partien und senkrecht ins Myokard in Richtung zum Epikard aus (Hort, 2001). Je nach Lokalisation des Infarktes unterscheidet man einen Vorder-, Seiten- oder Hinterwand-Infarkt sowie einen transmuralen Infarkt, welcher mehr als die Hälfte der gesamten Dicke der Ventrikelwand betrifft und im Versorgungsgebiet einer okkludierten Koronararterie liegt, und weiterhin einen nichttransmuralen Innenschichtinfarkt, der sich auf das Subendokard bzw. die innere Hälfte der Ventrikelwand beschränkt und aus disseminierten, kleinen Nekrosebezirken besteht.

Nach der bisherigen Definition der WHO müssen für einen Infarkt zwei der drei nachfolgenden Kriterien vorliegen:

1. typische Angina pectoris
2. Anstieg der Aktivität oder Konzentration kardialer Enzyme im Blut mit typischer Kinetik nach Schmerzsymptomatik
3. typische EKG-Veränderungen (monophasische ST-Streckenerhebungen mit nachfolgendem Umbau des QRS-Komplexes).

Der Wunsch nach einer präziseren klinischen Definition des akuten Myokardinfarktes und die Verfügbarkeit neuer biochemischer Marker der

Myokardnekrose haben zu einer Revision der WHO-Definition Anlass gegeben, welche das Troponin als biochemischen Marker ins Zentrum rückt. In dieser neuen Definition wurden folgende Kriterien hervorgehoben, die für die Diagnose des Myokardinfarktes vorhanden sein müssen:

Typischer Anstieg und gradueller Abfall (Troponin) oder schneller Anstieg und Abfall (CK-MB, Creatinkinase Myokardtyp) der biochemischen Marker der Myokardnekrose mit mindestens einem der folgenden Kriterien: *a) ischämische Symptome, b) Entwicklung pathologischer Q-Zacken im EKG, c) ST-Hebung oder -Senkung im EKG, d) Koronarintervention* (ESC/ACC, 2000).

Die Pathogenese des akuten Myokardinfarktes wird überwiegend auf eine intravasale Thrombusbildung in Folge der Ruptur einer atherosklerotischen Plaque im Bereich der Koronararterien zurückgeführt (Stary, 1989). Die früheste atherosklerotische Gefäßläsion besteht aus Schaumzellen, den sog. „fatty streaks“. Lipide werden hierbei durch aktiven Transport in die Gefäßwand aufgenommen, vermutlich durch Endothelverletzungen initiiert; das dabei oxidierte LDL (Low density Lipoprotein) löst entzündliche Veränderungen aus (Fuster et al., 1992). Im Folgenden werden monozytäre Zellen angezogen, als Makrophagen in die Gefäßwand aufgenommen, welche das oxidierte LDL dann speichern. Atherogene Risikofaktoren wie Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus oder auch eine genetische Prädisposition können bei der Endothelverletzung mitwirken, zumindest aber beschleunigen sie die Entwicklung der Läsion. Diese Läsionen führen im weiteren Verlauf zu Reaktionen der Gefäßmedia und -intima (Proliferation der glatten Muskelzellen, Inflammation, Matrix-Degeneration) und sind die Vorboten der atherosklerotischen Plaque. Diese besteht aus einem lipidreichen Kern, der durch eine fibröse Membran zum Gefäßlumen hin abgegrenzt ist (Stary, 1989). Durch eventuelle Größenzunahme kann die Plaque zum einen das betroffene Gefäßlumen einengen, was zu einer Unterversorgung des angeschlossenen Gewebes führt. Zum anderen kann aber auch ihre fibröse Membran instabil werden und rupturieren. Thrombogene Plaquebestandteile werden freigesetzt, was zu einer Thrombozytenaggregation und akuten konsekutiven Thrombusbildung führen kann. Als Ursachen für die Plaqueruptur werden Herzfrequenzanstiege, Änderungen der Katecholaminkonzentrationen im Serum,

Entzündungsvorgänge sowie abnorme physische und psychische Belastungen diskutiert (Strauer, 2001). Koronarsklerotische Plaques und entsprechende Myokardthrombosen können nun eine zeitweilige oder chronische Unterversorgung des Herzmuskels verursachen, die sog. Ischämie, welche zum klinischen Syndrom der Angina pectoris oder bei schweren Durchblutungsstörungen zum Herzinfarkt führt.

Inzwischen konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, dass bei mehr als der Hälfte der Myokardinfarkte die zugrundeliegende Koronarstenose eine Durchmesserverminderung von weniger als 50% verursacht. Anzahl und Struktur der vorhandenen Plaques, korrelieren mit der Infarktgefährdung (Rosenberg et al., 1999).

2.3.1.1 Ischämische Herzmuskelnekrose

Durch das Vorhandensein von „funktionellen Endarterien“ im Herzen kommt es beim Koronarverschluß zum ischämischen Infarkt. Im Gebiet distal des Gefäßverschlusses folgen nach Unterbrechung der Blutzufuhr, abhängig von der Dauer der Ischämie, zunehmend schwere Gewebsschäden, was eine Umstellung des Zellstoffwechsels auf die anaerobe Glykolyse zur Folge hat. Die Energieausbeute ist nun vergleichsweise minimal, so dass die energieabhängigen Systeme (z.B. die Ionenpumpe und die kontraktilen Elemente des Cytoskeletts und der Muskelzellen insbesondere) ihre Funktion verlieren. Der anaerobe Stoffwechsel führt außerdem zu Laktatproduktion, folgender Gewebeazidose und Störungen der Membranintegrität (Jennings & Reimer, 1991). In diesem Zustand können die genannten Schädigungen noch reversibel sein. Kommt es jedoch durch die gestörte Membranintegrität zu starkem Ionen- und Flüssigkeitseinstrom in die Zelle, kann diese durch zu starkes Anschwellen rupturieren. Dies ist der Übergang zu einer irreversiblen Zellschädigung. Die irreversiblen Schädigungen sind durch den Austritt von Enzymen aus dem Zytosol, wie z.B. Kreatinkinase und Laktatdehydrogenase gekennzeichnet (Walter et al., 1999). Weiterhin werden durch die Ischämie eine Abfolge von Reaktionen eingeleitet wie u.a. die Freisetzung von inflammatorischen Mediatorstoffen, die Obstruktion der Kapillaren durch die Granulozyten und die

Formation von Sauerstoffradikalen. Dauert die Ischämie an, entwickelt sich ein Nekrosebezirk, neutrophile Granulozyten werden chemotaktisch angezogen, wandern ins geschädigte Herzmuskelgewebe ein und erfüllen ihre Funktion in der Beseitigung der nekrotischen Zellen. Parallel zu dieser ablaufenden Entzündungsreaktion beginnt eine Reparaturphase mit Bildung von kollagenen Fasern, Fibroblastenvermehrung bis hin zur Entwicklung eines Narbenbezirks. Auf klinischer Ebene kommt es hiernach zu Veränderungen im Aktionspotential und damit zu Abweichungen im EKG, wie Hebungen oder Senkungen der ST-Strecke (ECC Guidelines, 2000).

Im postischämischen Herzmuskelgewebe unterscheidet man theoretisch zwischen reversibel und irreversibel geschädigten Myozyten. Im Optimalfall erholen sich erstere durch die rechtzeitig erfolgte Reperfusion, und der Nekrosebezirk beschränkt sich auf irreversibel geschädigte Herzmuskelzellen.

2.3.1.2 Reperfusionsschaden

Reperfusion („Reflow“) ist die einzige Möglichkeit, beim Infarkt „langfristig“ das Gewebe vor der Nekrotisierung zu retten. Im Optimalfall wird dadurch das Myokard rechtzeitig wieder mit Sauerstoff versorgt, und die Herzmuskelzellen erholen sich von der kurzzeitigen Ischämie vollständig. Sehr gut sind die Aussichten auf Regeneration, wenn das ischämische Areal durch Reperfusion innerhalb der ersten 2 Stunden wieder durchblutet wird. Durch die Reperfusion werden Zellprodukte, die sich während des Gefäßverschlusses im azidotischen Milieu anhäufen konnten, ausgewaschen. Die Reperfusion des ischämischen Herzmuskelbereichs hat u.a. die Reoxygenation, Substratzufuhr, Normalisierung des Gewebs-pH und der Osmolarität zur Folge. Zum anderen gelangen beim „Reflow“ mit dem Blutstrom zellige Blutkomponenten in den der Ischämie ausgesetzten Myokardbezirk. Die Leukozyten, speziell die neutrophilen Granulozyten, erfüllen dann ihre physiologische Funktion, indem sie nach Emigration nekrotische Zellen oder durch die Ischämie (irreversibel) beschädigte Zellen mittels Phagozytose abräumen. Bei der Diskussion um den Reperfusionsschaden misst man u.a. den neutrophilen Granulozyten und den von ihnen gebildeten Sauerstoffradikalen eine entscheidende Bedeutung bei (Sawa et

al., 1990; Siminiak & Ozawa, 1993). Zusätzlich sind weitere Blutzellen miteinbezogen, wie Monozyten und Thrombozyten, aber auch weitere Systeme im Sinne der Komplementaktivierung, Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine, Leukotrienbildung und prothrombotische Veränderungen des Gerinnungsstatus (Hill, 1998; Becker et al., 2000).

Die Theorie des Reperfusionsschadens postuliert, dass bei der Reperfusion „Faktoren“ in das der Ischämie ausgesetzte Gewebe eingebracht werden, welche durch die Ischämie geschädigte Myokardzellen zusätzlich schädigen, so dass diese Zellen nicht mehr zur Regeneration fähig wären. Black bezeichnet den Reperfusionsschaden als Syndrom verschiedener negativer pathologischer Vorgänge, welche Gefäßschädigung, Arrhythmien, myokardiales Stunning (reversible postischämische Dysfunktion des Herzens bei wiederhergestellter Durchblutung) und Ausbreitung des Gewebeschadens beinhalten (Black, 2000). In Anbetracht der negativen Auswirkungen, die eine Reperfusionstherapie mit sich zieht, muss das Risiko einer zusätzlichen Schädigung des Myokards in einem vertretbaren Verhältnis zum therapeutischen Nutzen der Revaskularisierungsmaßnahme stehen.

2.3.2 Symptomatik und Diagnostik des Myokardinfarktes

Das klinische Bild des akuten Herzinfarktes ist durch unterschiedliche, zum Teil stark wechselnde Symptome charakterisiert. In der Mehrzahl der Fälle lässt sich eine sog. Myokardinfarkt-Trias nachweisen: heftige retrosternale Schmerzen, Blutdruckabfall und Tachykardie. Die Schmerzintensität kann hierbei zu- und abnehmen, eventuell vorübergehend sogar ganz verschwinden (Hausmann & Drexler, 1998). Herzinfarkt-Patienten klagen des Weiteren über ein Enge- oder Druckgefühl, teilweise verbunden mit Luftnot, Unruhe, Angst und Schwitzen (Hausmann & Drexler, 1998). Die Schmerzen können in beide Arme, den Hals, den Unterkiefer, den Rücken oder den Oberbauch ausstrahlen. Im Gegensatz zum Angina pectoris-Anfall sind vor allem die Brustschmerzen stärker, von längerer Dauer und nach Nitroglycerin-Gabe nicht wesentlich verbessert. Je nach Ausmaß der Größe des Infarktes können bei manchen Patienten Schocksymptome wie Blässe, Tachykardie und Hypotonie hinzukommen, etwa

30% haben zudem gastrointestinale Symptome wie Übelkeit und Erbrechen. Teilweise kollabieren die Patienten und bleiben bewusstlos.

Die Diagnose des akuten Myokardinfarktes wird zum einen anhand der Symptome, außerdem durch EKG-Untersuchungen und dem zeitlich etwas verzögerten Anstieg der Herzenzyme CK-MB und Troponin I und T im Blutserum gestellt.

2.3.3 Therapie des Myokardinfarktes

Basis der Therapie ist die Elimination der Risikofaktoren Rauchen und Übergewicht sowie die Einstellung von Hypertonie und Diabetes. Bei der Therapie des akuten Myokardinfarktes besteht ein enges Zeitfenster. Die Ziele der Infarkttherapie sind die Wiedereröffnung des verschlossenen Gefäßes sowie die rasche Wiederherstellung der Durchblutung des Herzmuskels. Je schneller dies gelingt (möglichst innerhalb von vier bis sechs Stunden), desto größer sind die Chancen, den Schaden am Herzmuskel in Grenzen zu halten. Allein 37% der betroffenen Personen sterben bereits vor Erreichen des Krankenhauses (Löwel et al., 1999). Die Akuttherapie, die meist als Erstmaßnahme vom Notarzt durchgeführt wird, entspricht den üblichen Regeln der Notfallmedizin (Angst- und Schmerzbekämpfung, Sauerstoffgabe). Weiterhin werden in diesem Stadium zur symptomatischen und hämodynamischen Therapie Nitrate sowie zur antithrombotischen Therapie Acetylsalizylsäure verabreicht. Laut der ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) ist die sofortige Verabreichung von Acetylsalizylsäure in einer Dosis von 150-500 mg i.v., gegebenenfalls mit Heparin, ein absolutes Muss (ISIS-2, 1992). Durch die Gabe von β -Blockern wird der myokardiale Sauerstoffbedarf gesenkt (Hausmann & Drexler, 1998). Ist der Schmerz nach Gabe der Nitrate refraktär, so ist der zusätzliche Einsatz von Opioiden, bevorzugt Morphin, angezeigt.

Eine Reperfusion der thrombotisch verschlossenen Gefäße geht mit einer Letalitätssenkung einher, wobei die frühe Wiedereröffnung sogar zu einem überproportionalen Rückgang der Letalität führt (Boersma et al., 1996). Daraus ergeben sich folgende Forderungen an eine optimale Reperfusionstrategie: die Therapie der Koronarperfusion sollte möglichst schnell, vollständig, dauerhaft

und mit geringen Nebenwirkungen erfolgen. Diese Reperfusionstherapie erfolgt entweder mit Hilfe von Thrombolytika oder interventionellen Verfahren wie einer Ballongefäßdilataion, sogenannter PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplasty) und Stent-Implantation bzw. einer Bypass-Operation. Der adjuvante Einsatz von Stents nach vorausgegangener PTCA des Infarktgefäßes hat zu einer weiteren Senkung der Frühsterblichkeit geführt (Antoniucci et al., 1998; Rodriguez et al., 1998; Stone et al., 1998; Suryapranata et al., 1998). Aus heutiger Sicht könnte die Thrombolysetherapie der Zukunft aus einer Kombinationstherapie von Thrombolytika in reduzierter Dosierung mit Glykoprotein-IIb/IIIa-Blockern bestehen und bei Bedarf mit einer koronaren Angioplastie kombiniert werden (Nordt et al., 2001). GP-IIb/IIIa-Blocker verhindern die direkte Plättchen-Plättchen-Interaktion und damit die Aggregatbildung im arteriellen Stromgebiet. Sie können sowohl prophylaktisch bei der PTCA als auch in Kombination mit Fibrinolytika gegeben werden (Antman et al., 1999).

Für die systemische Thrombolysetherapie stehen je nach Indikationsstellung Streptokinase und deren Abkömmling APSAC, Urokinase, Alteplase und Reteplase zur Verfügung (Martens, 2001). Obwohl diese Therapieform bei der weit überwiegenden Zahl der Patienten mit akutem Myokardinfarkt zum Einsatz kommt, gibt es einen hohen Prozentsatz von Patienten, die aufgrund verschiedener Kriterien von einer Lysebehandlung ausgeschlossen werden müssen. Hier bietet sich die alternative Anwendung der primären PTCA an.

Neben dieser Akuttherapie ist auch die Therapie nach einem akuten Myokardinfarkt bedeutungsvoll. Insbesondere die medikamentöse Therapie hinsichtlich der Prävention des ventrikulären Remodelling und der Sekundärprävention erneuter atherothrombotischer Ereignisse ist als Grundlage essentiell.

Falls keine spezifischen Kontraindikationen vorliegen, beinhaltet demnach eine optimale medikamentöse Therapie nach Myokardischämie neben Acetylsalicylsäure einen ACE-Inhibitor, einen HMG-CoA-Reduktase Hemmer (Statin) und einen β -Blocker.

Trotz der bestehenden Therapiemöglichkeiten im akuten Infarktgeschehen besteht ein großer medizinischer Bedarf nach neuen Therapieansätzen. Bis dato

existiert keine direkte kardioprotektive Therapie, ein Ansatz, der direkt die Kardiomyozyten vor dem irreversiblen Zelltod schützt. Da nach dem heutigen wissenschaftlichen Stand die Entzündung eine wesentliche Rolle beim akuten Herzinfarkt spielt, wurden verschiedene anti-inflammatorische Ansätze zur Verhinderung des Zelltodes verfolgt und diese auch in klinischen Studien getestet. Hier sind zum einen LVMIT-AMI und FESTIVAL zu nennen, in denen monoklonale anti-CD18 Antikörper bei Infarktpatienten getestet wurden (Porter et al., 2005; Rusnak et al., 2001). Allerdings konnte keine dieser Studien einen signifikanten Effekt hinsichtlich Reduktion von Infarktgröße oder Mortalität nachweisen, obwohl präklinische Tierstudien dies zeigten (Arai et al., 1996).

2.4 PPAR

Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARs) gehören zur Familie der Hormonrezeptoren. Sie sind Mitglieder der nukleären Rezeptorfamilie und gehören der Superfamilie der Ligand-aktivierten Transkriptionsfaktoren an, welche die Expression spezifischer Zielgene regulieren (Schoonjans et al., 1996). PPARs besitzen eine Liganden- sowie eine DNA-Bindungsdomäne. Nach Aktivierung durch ihre Liganden bilden sie Heterodimere mit dem Retinoid X Rezeptor (RXR) und binden an definierte PPAR-Response Elements (PPRE) in der Promotorregion ihrer Zielgene. Bisher sind drei PPAR-Unterformen bekannt: PPAR- α , PPAR- δ (auch bekannt als PPAR- β) und PPAR- γ (Lemberger et al., 1996), die eine 60-80% Homologie in ihren Liganden- und DNA-Bindungsdomänen besitzen (Schoonjans et al., 1996) und sich somit sowohl in den Liganden unterscheiden, durch die sie aktiviert werden, als auch in den Zielgenen, deren Expression sie regulieren. PPARs spielen eine wichtige Rolle in vielen Zellfunktionen, einschließlich der Zellproliferation, Zelldifferenzierung, Adipogenese und in Entzündungskaskaden. Sie interagieren mit einer Vielzahl endogener Lipide und Substanzen bei der Behandlung von metabolischen Erkrankungen.

PPAR- α ist hauptsächlich in Leber und Fettgewebe exprimiert und reguliert den Fettsäureabbau in der Leber. Des Weiteren konnte PPAR- α in einem relativ hohen Level im Herzen und Gefäßen nachgewiesen werden, wobei es zur

Aufrechterhaltung der metabolischen Homöostase im Herzen trägt sowie einen Einfluß auf anti-inflammatorische Aktivitäten ausübt (Yue et al., 2003). Als natürliche Liganden hat man mehrfach-ungesättigte Fettsäuren (FS) wie Eicosanoide charakterisiert (Forman et al., 1999). Synthetische Liganden sind unter anderem lipidsenkende Fibrat-Derivate wie Fenofibrat (Guerre-Millo et al., 2000; Matthaie et al., 2001), aber auch andere Substanzgruppen wurden als Agonisten identifiziert (Ye et al., 2001). Via PPAR- α -Aktivierung wird die Expression von Genen, die in den Lipid- und Lipoproteinstoffwechsel der Leber involviert sind, modifiziert (Peters et al., 1997; Kersten et al., 2000). Die veränderte Genexpression resultiert in einer gesteigerten hepatischen FS-Oxidation und in einer verminderten Synthese und Freisetzung von Triglyzeriden (Staels et al., 1998 (a)). Daneben gibt es auch erste präklinische Daten, wonach PPAR- α -Agonisten zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität führen (Ye et al., 2001).

Die Bedeutung von PPAR- δ (auch bekannt als PPAR- β) erscheint noch relativ unklar. Es aktiviert den Fettsäureabbau in den Adipozyten und Muskelzellen und verhindert somit eine Gewichtszunahme (Fredenrich et al., 2005). Des Weiteren hat PPAR- δ wichtige Funktionen in der myokardialen Fettsäureoxidation, und es ist bei der Aufrechterhaltung der Energiebalance sowie den normalisierten Herzfunktionen nach Herzinsuffizienz essentiell (Cheng et al., 2004).

Der Rezeptorsubtyp γ ist vor allem in der Leber, im Fettgewebe und in Zellen des Immunsystems exprimiert. In geringem Maß wird er außerdem im Herzen und vaskulären Zellen sowie in der Skelettmuskulatur exprimiert (Marx, 2002). PPAR- γ kann einerseits durch natürlich vorkommende Substanzen wie Prostaglandine oder Glucocorticoide, andererseits durch die synthetischen Thiazolidindione wie Pioglitazon, Troglitazon oder Rosiglitazon, aktiviert werden (Lehmann et al., 1995). Diese Substanzen, die mittlerweile in den USA und Europa in klinischer Anwendung sind, erhöhen die Insulinsensitivität in peripheren Organen und senken so die Blutglukose- und Triglyzeridspiegel (Schoonjans et al., 2000). In Deutschland sind Rosiglitazon und Pioglitazon im Handel und stehen zur Kombinationstherapie mit Sulfonylharnstoffen oder Metformin bei Typ-II-Diabetikern zur Verfügung. Gegenwärtige

Behandlungsstrategien für Erkrankungen im Herz-Kreislauf-System, welche meist durch Arteriosklerose verursacht werden, fokussieren auf eine Senkung des Cholesterinspiegels und eine Hemmung von Entzündungsvorgängen. Die Verringerung der entzündlichen Antwort im Myokardinfarkt-Geschehen stellt eine zentrale Rolle zum Schutz vor Reperfusionsschäden dar. PPAR- α / γ zeigen hierbei durch ihre Einwirkung auf den oxidativen und nitrativen Stress sowie durch ihre metabolischen und anti-inflammatorischen Mechanismen eine unspezifische Hemmung auf die im Infarktgeschehen ausgelöste NF- κ B (nuclear factor-kappa B)-Aktivierung (Yue et al., 2003; Tao et al., 2003). Sie könnten künftig die Statin-Therapie im Kampf gegen entzündliche Reaktionen bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen ergänzen (Barbier et al., 2002; Francis et al., 2003; Neue Zürcher Zeitung, Forschung und Technik, 08/2005).

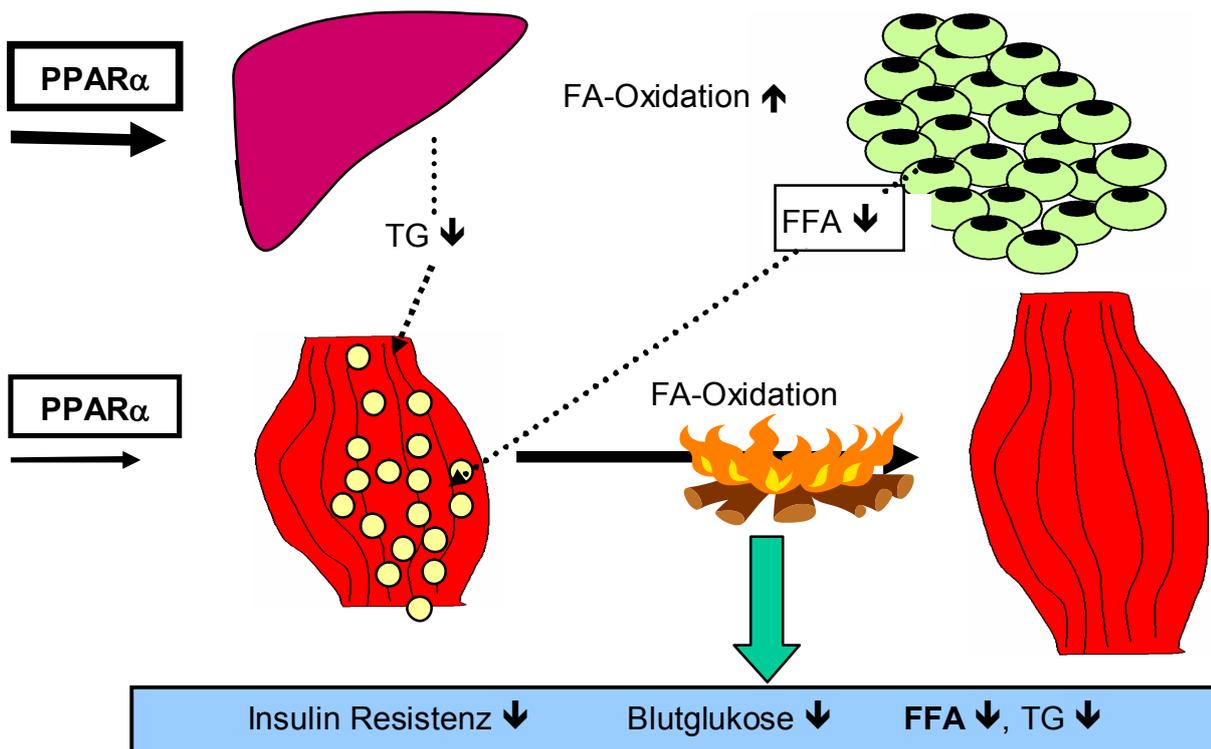


Abb. 2: Pharmakologische Effekte von PPAR- α Agonisten
FFA = freie Fettsäuren, TG = Triglyceride

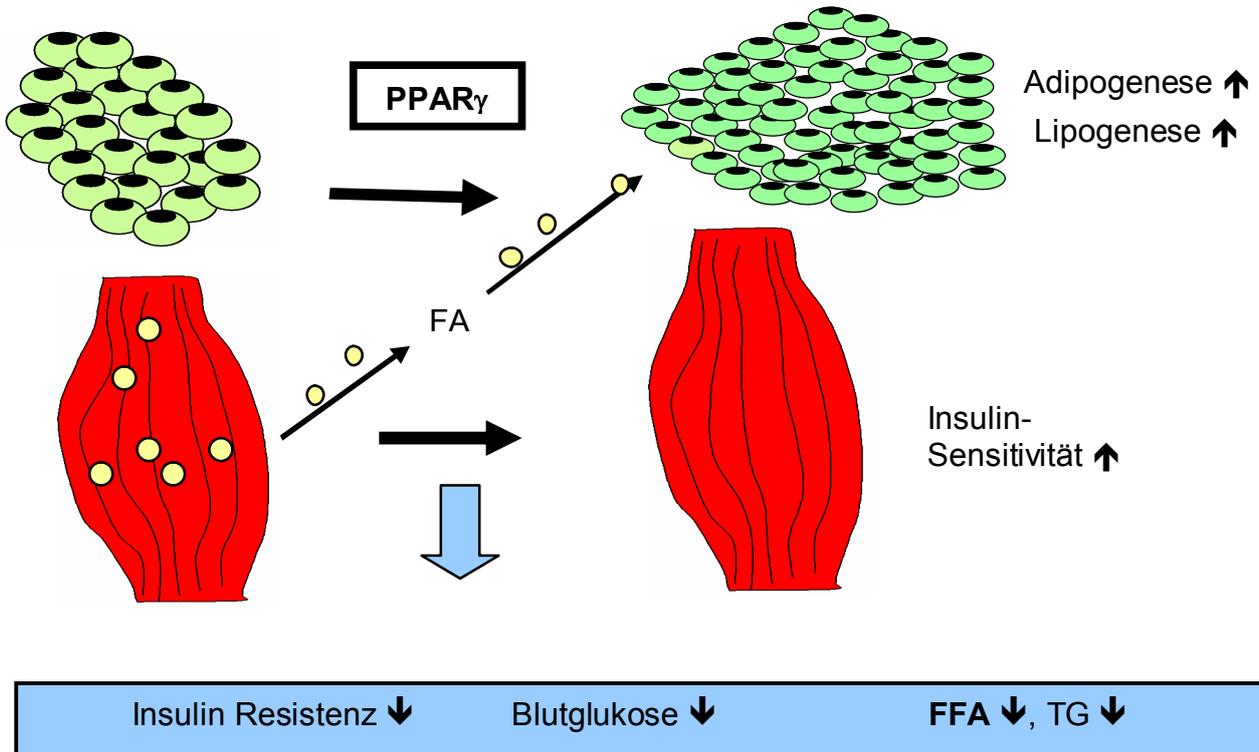


Abb.3: Pharmakologische Effekte von PPAR- γ Agonisten
 FA = Fettsäuren, FFA = Freie Fettsäuren, TG = Triglyceride

2.4.1 PPAR- α / γ in der Herzinsuffizienz

Veränderungen im metabolischen Herzenergiestoffwechsel treten sowohl als normale Antwort in diversen physiologischen sowie diätätischen Verläufen als auch in pathophysiologischen Prozessen wie Hypertrophie, Herzinsuffizienz und myokardialer Ischämie auf (Barger et al., 2000). Die Kapazität zur Energieproduktion mittels FS-Oxidation im postnatalen Säugetierherz wird durch die Enzyme bestimmt, die in die mitochondriale Fettsäuren- β -Oxidation (FAO) involviert sind (Brandt et al., 1998; Djouadi et al., 1999). Diese wiederum werden in ihrer Expression durch spezifische Gene kontrolliert bzw. reguliert. PPAR- α ist der hauptsächliche Regulator der FAO-Enzyme (Lehmann et.al., 2000). Eine erhöhte Aufnahme von Fettsäuresubstraten in Herzmyozyten induziert eine transkriptionelle Antwort in Form einer erhöhten Expression von FAO-Enzymen (Disch et al., 1996). Eine Regulierung durch PPAR- α Aktivierung

erfolgt in der postnatalen Entwicklung, nach kurzzeitigen Hungerperioden und als Antwort auf Bewegungstraining. Konträr dazu führt eine durch Hypertonie bedingte Hypertrophie zu einer Deaktivierung von PPAR- α und anschließender Dysregulation der FAO-Enzym-Expression, wodurch Abnormalitäten in der Homöostase des kardialen Lipidstoffwechsels auftreten (Barger et al., 2000).

Im Gegensatz dazu zeigten Studien an Nagern (Yue et al., 2003), dass die Aktivierung von PPAR- α schädlich für das Herz sein kann. Die Ergebnisse belegten, dass die Herunterregulation von PPAR- α notwendig für die Erhaltung der kontraktilen Funktion des hypertrophen Herzens ist und dass die Reaktivierung von PPAR- α und PPAR- α - regulierten Genen mit PPAR- α Agonisten in einer schweren Depression der Herzfunktion resultiert. Diese Effekte sind sehr wahrscheinlich auf die Bildung freier Sauerstoffradikale zurückzuführen, die die Herzfunktion negativ beeinflussen (Teissier et al., 2004).

PPAR- γ ist ebenso im Herzen exprimiert, jedoch in geringerem Maße als PPAR- α . PPAR- γ reguliert vor allem die Expression bestimmter Zielgene im Glukosestoffwechsel und in der Adipogenese (Schoonjans et al., 2000). Der Transkriptionsfaktor verhindert im insuffizienten Herzen die Hypertrophie und schützt das ischämische Myokard vor Nekrosen (Asakawa et al., 2002). Die Aktivierung von PPAR- γ in vaskulären Zellen moduliert außerdem wichtige Vorgänge der Arterioskleroseentstehung durch Hemmung der Expression von Zytokinen sowie durch Modulation von Chemokinen in der Gefäßwand (Marx et al., 2002 (a)). Jedoch berichten andere Autoren von einer konträren Wirkung unter dem Einsatz von PPAR- γ Agonisten. Hiernach traten einerseits unter der PPAR- γ Behandlung Effekte einer Flüssigkeitsretention, die sich negativ auf das herzinsuffiziente Herz auswirkt auf, andererseits häufen sich Hinweise aus zell-, tierexperimentellen und ersten klinischen Studien, dass PPAR- γ Agonisten die Herzfunktion möglicherweise positiv beeinflussen (Wang et al., 2003).

Die Arbeitsgruppe von Goya et al. konnte erstmals zeigen, dass in vitro an vaskulären endothelialen Zellen PPAR-Agonisten (Fenofibrat und Rosiglitazon) durch unterschiedliche Mechanismen eNOS regulieren. Dabei zeigte sich eine Erhöhung der mRNA Expression, eine Erhöhung der Proteinspiegel (nur nach Fenofibrat-Behandlung) sowie der Enzymaktivität von eNOS durch eine

dosisabhängige PPAR-Agonisten Behandlung (Goya et al., 2004). Regulierende Einwirkungen auf die Entwicklung von endothelialen Dysfunktionen, welche einer klinischen kardiovaskulären Erkrankung hervorgehen, könnten somit ebenfalls auf PPAR-Agonisten zurückzuführen sein (Vita & Keaney, 2002). Desweiteren konnte durch die Behandlung mit Rosiglitazon an Ratten eine auf die vasodilatierenden Effekte zurückzuführende Verminderung des mittleren arteriellen Blutdruckes und einer daraus resultierenden Erhöhung der Na⁺- sowie Wasser-Retention gezeigt werden (Komers & Vrana, 1998).

Die Rolle von PPAR-Agonisten im Herzen ist folglich noch nicht eindeutig geklärt, und es scheint, dass die Funktion des Transkriptionsfaktors in den verschiedenen Herzerkrankungen oder verschiedenen Stadien des Herzleidens nicht die Gleiche ist.

2.4.2 NF-κB Regulation

NF-κB (Nuclear factor-kappa B) ist ein Redox-sensitiver Transkriptionsfaktor, welcher auf verschiedene Stimuli wie Zytokine, Endotoxine und oxidativen Stress schnell reagiert. Zellprodukte, welche über NF-κB reguliert werden, erhalten die Zell-Homöostase nach Stress und vermitteln ein Gleichgewicht zwischen Zellüberleben und Zelltod. NF-κB ist ein aus zwei Untereinheiten zusammengesetzter Proteinkomplex, bestehend aus einer 65 kDa DNA-Bindungsuntereinheit und einem 50 kDa Protein. Die Aktivierung von NF-κB findet, über Liganden-Bindung an entsprechenden Zellrezeptoren und anschließende Phosphorylierungsschritte vermittelt, über Proteinkinasen statt. Im Zytoplasma ist dieses Dimer weiterhin mit einem inhibitorischen Protein, dem IκB, assoziiert, welches NF-κB in seiner inaktiven Form hält. Durch die Phosphorylierung von IκB kommt es zu seiner Ablösung von NF-κB. Dieses gelangt daraufhin in den Zellkern und bindet an die Promotor-Region des Targetgens und reguliert somit dessen Transkription. Targetgene des IκB / NF-κB-Signalübertragungsweg sind: iNOS (induzierbare NO-Synthetase), COX2 (Cyclooxygenase 2), MnSOD (Mn-Superoxid-Dismutase), Antiapoptotic Proteins,

IAPs (Inhibitor des Apoptosis Factors), Zytokine (IL-1, -6, TNF- α), Zelladhäsionsmoleküle sowie andere Transkriptionsfaktoren (Kis et al., 2003).

Der Zellstress sowie -untergang während des I/R-Geschehens aktiviert zum einen verschiedene Entzündungskaskaden und induziert weiterhin einen „metabolic shift“ im Energiestoffwechsel des Herzens, welcher mit einer verminderten Expression von FAO Enzym-Genen einhergeht.

Es wird postuliert, dass die entstehenden entzündlichen Prozesse im reperfundierten Myokard und im chronischen Herzremodeling eine bedeutende Rolle spielen (Jordan et al., 1999; Park et al., 1999). I/R fördert die Entstehung von oxidativem Stress und bedingt dadurch die Expression von Adhäsionsmolekülen, was wiederum die Infiltration von neutrophilen Leukozyten, Monozyten und Makrophagen ins Myokard vermittelt (Jordan et al., 1999). Die eingewanderten Leukozyten führen zu einer weiteren Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine und der Bildung freier Radikale, welche eine Myokardschädigung bewirken.

Die anti-inflammatorischen Wirkungen von PPAR-Agonisten konnten in zahlreichen in vitro (Jiang et al., 1998; Ricote et al., 1998; Takano et al., 2000) und in vivo (Nakajima et al., 2001; Takehiro et al., 2004; Wayman et al., 2002; Yue et al., 2001; Yue et al., 2003) Modellen gezeigt werden. PPAR-Agonisten agieren hierbei als unspezifische Inhibitoren der NF- κ B-Aktivierung, womit sie der Bildung NF- κ B-regulierter Genprodukte entgegenwirken.

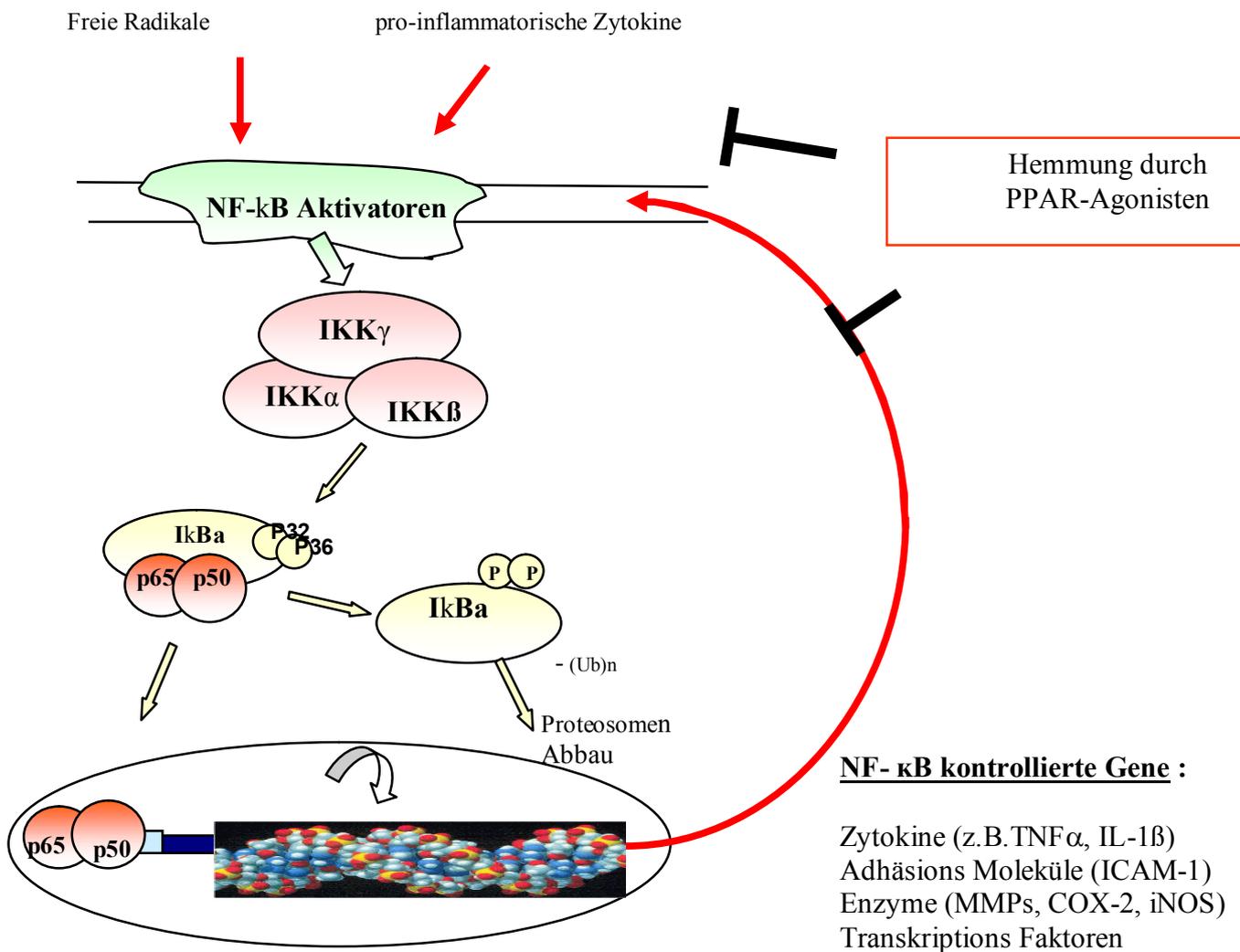


Abb. 2: NF-κB Pathway und dessen Hemmung mittels PPAR-Agonisten

2.5 Zielsetzung der Arbeit

Die Lebenserwartung der Patienten mit symptomatischer Herzinsuffizienz ist trotz Therapie mit Digitalis, ACE-Hemmern, β -Blockern und Diuretika erheblich eingeschränkt. Es gilt, zusätzliche Therapiemöglichkeiten der Herzinsuffizienz per se zu finden, um die Standardtherapie zu ergänzen bzw. zu verbessern.

Verschiedene klinische Studien konnten zeigen, dass eine Therapie mit PPAR- γ Aktivatoren bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung günstige Effekte hat. Dagegen zeigen andere Untersuchungen, dass der Einsatz von PPAR- γ Agonisten zu Flüssigkeitsretention bei behandelten Patienten zu führen scheint (Borman-

Balfour et al., 1999) und sie somit bei Patienten mit Herzinsuffizienz kontraindiziert sind.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die Wirkung von A2406, einem PPAR- α Agonisten, auf den I/R-Schaden sowie im Herzinsuffizienzgeschehen im Vergleich zu Rosiglitazon, einem PPAR- γ Agonisten, zu untersuchen.

Das gemeinsame Konzept dieser Studie ist, dass die Substanzen zum einen Einfluss auf die Dyslipidämie des Herz-Kreislauf-Patienten ausüben, zum anderen die inflammatorische Reaktion beschränken und somit auch das Ausmaß der Zellschädigung sowohl in der Reperfusion als auch in dem folgenden Remodelingprozess vermindern können.

2.5.1 Vergleich der *per os* versus *i.v.* Applikation eines PPAR-Agonisten im akuten I/R-Modell

Mit den o.g. Studien werden eventuelle kardioprotektive Effekte im Tierexperiment nach der Verabreichung der PPAR-Agonisten zur Reperfusion untersucht. Hierbei sollen mögliche Effekte auf die Entzündungskaskade (im besonderen NF- κ B-Hemmung), auf Veränderungen im Fettstoffwechsel sowie auf den I/R-Schaden insgesamt untersucht werden. In der akuten Ischämie/Reperfusionstudie wurden der PPAR- α Agonist A2406 sowie Rosiglitazon (PPAR- γ Agonist) vor der eingeleiteten Reperfusion gegeben. Zum einen wurden die Substanzen 3 Tage vor I/R *per os* (Gavage) verabreicht, um die transkriptionsunabhängigen Effekte der PPARs zu untersuchen, andererseits die Substanz während der Ischämie, 5 Minuten vor Reperfusion, *i.v.* appliziert bzw. Kontrolltieren das Lösungsmittel der Substanzen injiziert.

Besonders entscheidend ist die Frage nach dem Behandlungsbeginn, inwiefern sich die Aktivierung der PPARs vor Ischämie und Reperfusion (Gavage Gruppen) oder nur vor Reperfusion (*i.v.* behandelte Gruppen) in ihrem Effekt auf die Myokardschädigung unterscheiden.

2.5.2 Vergleich der Wirkung des PPAR- α Agonisten A2406 mit dem PPAR- γ Agonisten Rosiglitazon in der chronischen Herzinsuffizienz

In dieser Studie soll der Effekt des PPAR- α Agonisten A2406 im Vergleich zu Rosiglitazon auf die morphologischen, funktionellen und molekularbiologischen Veränderungen des Herzens während der Herzinsuffizienz infolge des Myokardinfarkts untersucht werden. Weiterhin sollte geklärt werden, ob der Zeitpunkt des Behandlungsbeginns wesentlichen Einfluss auf die Wirkung der Substanzen hat. Zu diesem Zweck erfolgte bei einer Gruppe die Behandlung bereits vor dem Myokardinfarkt, in der anderen Behandlungsgruppe erst eine Woche nach Myokardinfarkt.

3. Material und Methoden

3.1 Tiere und deren Haltungsbedingungen

Zur Durchführung der Versuche wurden männliche Kaninchen der Rasse Weiße Neuseeländer aus der Versuchstierzucht Harlan Winkelmann, USA, verwendet. Die Tiere stammten aus homogenen Zuchten, so dass bei diesen Tieren ein interindividueller Vergleich sehr gut möglich war. Die Tiere wogen zu Versuchsbeginn 2,2-3,0 kg.

Sie wurden einzeln in normierten Käfigen ohne Einstreu gehalten. Es wurde Standardfutter (Fa. Ssniff, Soest) gegeben und Wasser ad libitum angeboten. Im Rahmen der Studien wurde nach einer gewissen Zeit abweichendes Futter, sogenanntes Cholesterin-reiches Futter (= atherogene Diät) bei einem Teil der Tiere verwendet. Es handelte sich dabei um fettangereichertes Standardfutter, welches mit 0,3% Cholesterin und 4,7% Kokosfett angereichert wurde (Fa. Ssniff, Soest). Dem anderen Teil der Tiere wurde eine Substanzfutmischung, welche aus der Grundlage des Standardfutters mit Rosiglitazon (2280 mg Rosiglitazon/kg Substanzfutter) bestand, verabreicht. Der Tag-Nacht-Zyklus war auf 12 Stunden eingestellt, wobei die Tagphase von 06.00 Uhr bis 18.00 Uhr andauerte. Die Raumtemperatur war auf 19-22°C und die relative Luftfeuchtigkeit auf 50-55 % eingestellt.

3.2 Verwendete Substanzen

3.2.1 A2406

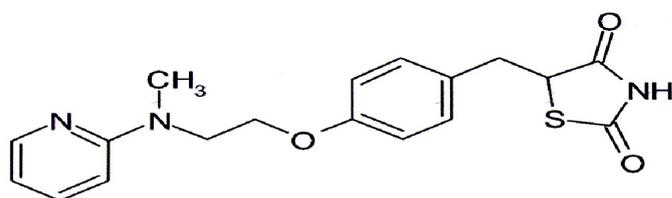
A2406 zählt zu der Gruppe der PPAR- α Agonisten (Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha). PPAR- α Agonisten erhöhen die Fettsäure-Oxidation in der Leber und in der Muskulatur und verbessern dabei die Insulinsensitivität und die Blutglukosespiegel.

PPAR- α Agonisten könnten daher in den Indikationen Typ 2 Diabetes mellitus und der gemischten Dyslipidämie von Nutzen sein. Der erhoffte therapeutische Nutzen liegt in der Kontrolle der Blutglukose, zumindest ähnlich gute Ergebnisse wie mit PPAR- γ Agonisten (Glitazone) sollen erzielt werden.

Aus patentrechtlichen Gründen können keine weiteren pharmakologischen Aussagen über die Substanz gemacht werden.

3.2.2 Rosiglitazon

Rosiglitazon, mit Handelsnamen AVANDIA®, ist ein Produkt der Fa. GlaxoSmithKline-Unternehmensgruppe. Die chemische Bezeichnung lautet 5-[4-[2-[N-methyl-N-(2-Pyridinyl)Amino]Ethoxy]Benzyl]2,4-Thiazolidindion. Die chemische Summenformel ist $C_{18}H_{19}N_3O_3S$, und das Molekulargewicht beträgt 357,43 g/mol.



Rosiglitazon ist ein PPAR- γ (Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma) Agonist. Er gehört zu einer neuen Klasse von oralen Antidiabetika, den Glitazonen, bei denen es sich chemisch um Thiazolidindione handelt. Glitazone wirken als Liganden des Kernrezeptors PPAR- γ und aktivieren die Transkription von Genen, die am Glukose- und Lipidmetabolismus beteiligt sind.

Dadurch nehmen in Leber-, Fett- und Muskelzellen die Insulinrezeptoren zu, und es erhöht sich die Empfindlichkeit gegenüber Insulin („Insulinsensitizer“) (Olefsky & Saltiel, 2000). Sie führen zu einer Hemmung der hepatischen Glukoseproduktion, Steigerung von Glukoseaufnahme und Glykogensynthese bei gleichzeitiger Senkung des Insulinspiegels; zudem hemmen sie die Triglyzeridsynthese und die Freisetzung von freien Fettsäuren. Sie sollen u.a. die Differenzierung von Präadipozyten zu Adipozyten fördern und die zur Arteriosklerose führende Proliferation glatter Muskelzellen der Arterienwand hemmen.

Rosiglitazon wird rasch resorbiert, so dass therapeutisch relevante Plasmaspiegel nach 1 Std. erreicht sind. Die biologische Verfügbarkeit wird mit 99% angegeben. Die Halbwertszeit liegt zwischen 3 und 4 Stunden. Zur

intravenösen Behandlung wurde Rosiglitazonmaleate in 20 %iger Cyclodextrin-Lösung gelöst.

3.3 Untersuchungen

3.3.1 Versuchsplan

Ischämie/Reperusionsstudie (I/R)

Per Os Behandlung

Die Tiere wurden 4 Wochen vor Versuchsbeginn auf atherogene Diät gesetzt. Nach diesen 4 Wochen wurden die Tiere per Gavage 3 Tage vor I/R mit einer Dosierung von 3 mg/kg/Tag bzw. 10 mg/kg/Tag mit A2406 oder mit 10 mg/kg/Tag Rosiglitazon AVANDIA® bzw. Placebo behandelt. 1 Stunde nach der letzten Behandlung wurden die Kaninchen operiert. In Abb. 5 ist das Versuchsprotokoll graphisch dargestellt.

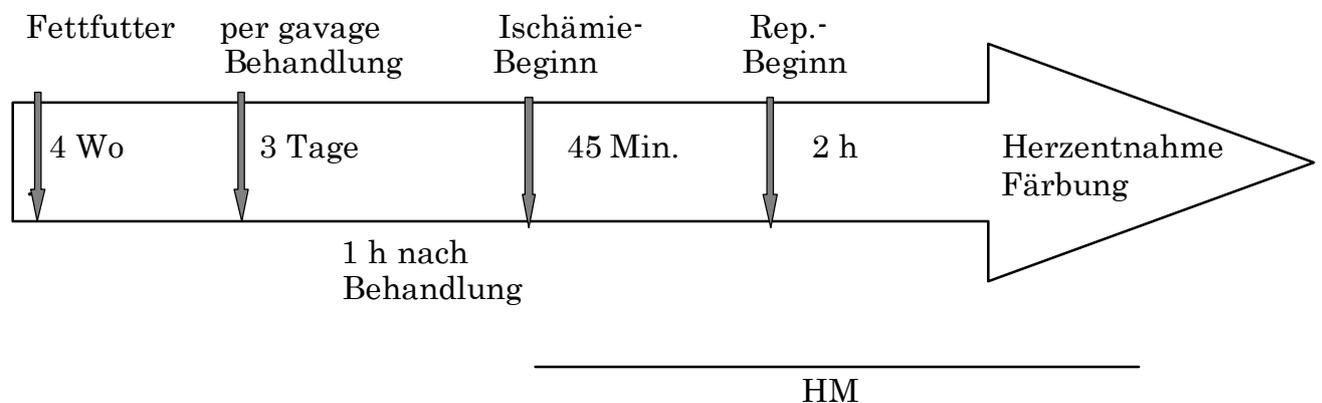


Abb. 5: Graphische Darstellung des Versuchsprotokoll I/R der per os Behandlung der Kaninchen mit Zeitpunkt der hämodynamischen Messung (HM).

Intravenöse Behandlung

Die Tiere wurden ebenfalls 4 Wochen vor Versuchsbeginn auf atherogene Diät gesetzt. Nach 4 Wochen erhielten sie eine 45 minütige Ischämie und wurden 5 min. vor Reperfusion mit 3 mg/kg A2406 i.v. oder mit 10 mg/kg Rosiglitazon i.v. bzw. Placebo i.v. behandelt. Abb. 6 zeigt den zeitlichen Ablauf der Studie.

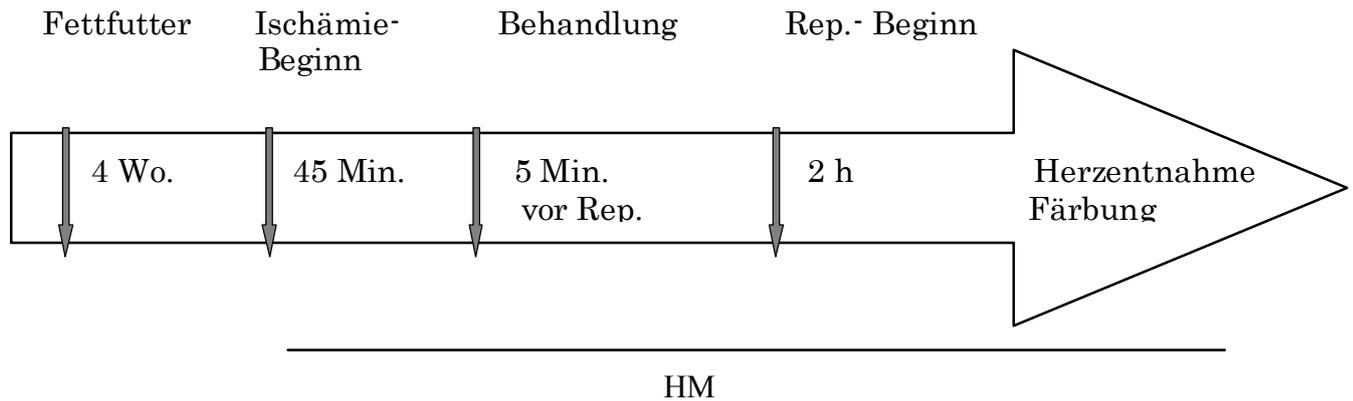


Abb. 6: Graphische Darstellung des Versuchsprotokoll I/R der i.v. Behandlung der Kaninchen mit Zeitpunkt der hämodynamischen Messung (HM).

In beiden unterschiedlichen Behandlungsstudien wurden ab OP-Beginn verschiedene hämodynamische Parameter invasiv gemessen. Zudem wurde den Tieren Blut vor OP, nach 45 Min. Ischämie, nach 15 Min. Reperfusion, nach 1 Stunde Reperfusion und zu Versuchsende (nach 2 Stunden Reperfusion) zur Bestimmung der Plasmakonzentrationen und der CK-, LDH-, CRP und Blutfettwert-Spiegel abgenommen. Nach Abschluss der Messungen wurde das Herz gefärbt bzw. für EMSA (Electromobility shift assay) – Untersuchungen entnommen.

Herzinsuffizienzstudie:

4 Wochen vor Versuchsbeginn bis zum Versuchsende (– 13 Wochen) wurden die Tiere auf atherogene Diät gesetzt. Nach diesen 4 Wochen wurde eine Gruppe der Tiere 2 Stunden vor OP-Beginn mit A2406 10 mg/kg per Gavage behandelt. Anschließend wurde operativ ein LV (Links ventrikulärer) Infarkt gesetzt, oder die Tiere wurden einer Schein-OP unterzogen. Die Behandlung der bereits vorbehandelten Kaninchen wurde täglich fortgesetzt, bei dem restlichen Teil der Tiere begann die Behandlung 1 Woche nach MI / Schein-OP mit A2406 10 mg/kg/Tag per Gavage bzw. Rosiglitazon 10 mg/kg/Tag als Substanzfuttermischung oder Placebo. Mittels Echokardiographie wurden die Kaninchen unter Narkose vor OP, 4 Wochen nach OP und 8 Wochen nach OP am

Herzen untersucht. Gleichzeitig erfolgten zu diesen Zeitpunkten Blutabnahmen zur Blutfettbestimmung, CK und LDH, CRP, pro-ANP, Aldosteron und Plasma-Konzentrationsbestimmung. Während der Abschluss - OP wurden verschiedene hämodynamische Parameter invasiv gemessen. Nach Abschluss der Messungen erfolgte die Entnahme des Herzens und eines Teiles der thorakalen Aorta für weitere Untersuchungen. Abb.7 veranschaulicht graphisch den zeitlichen Versuchablauf.

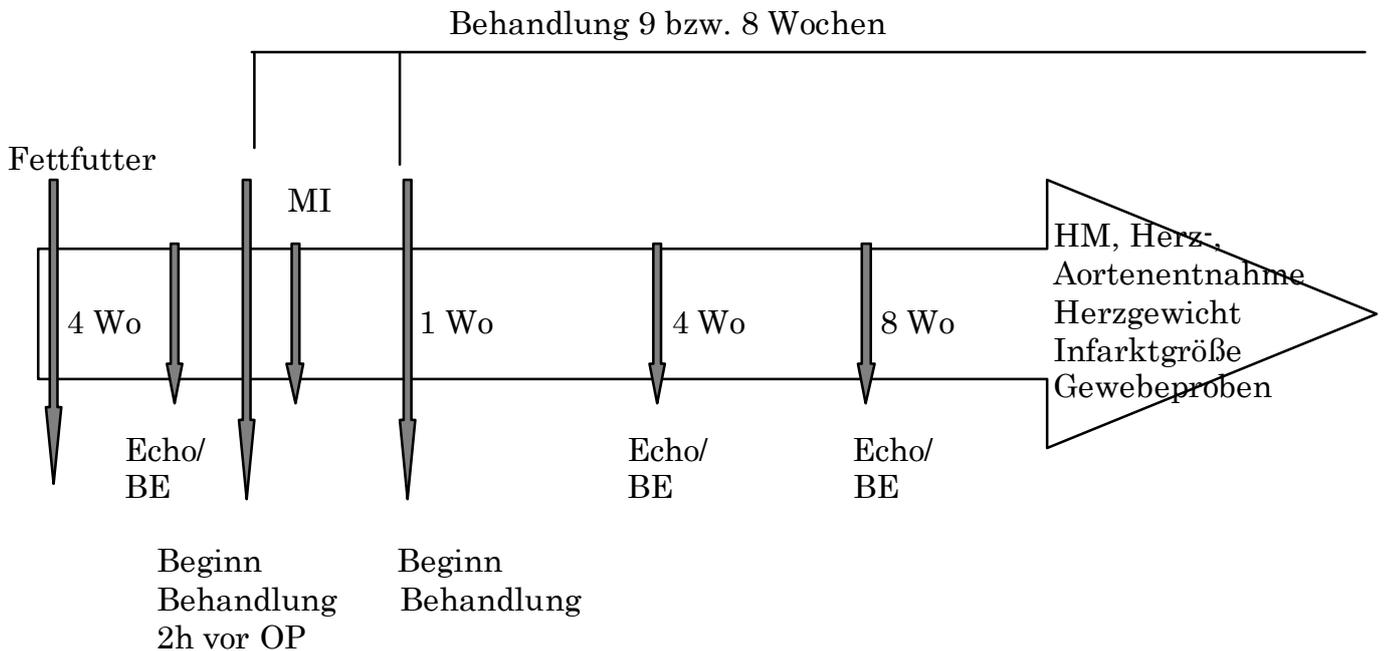


Abb. 7: Versuchsprotokoll der Herzinsuffizienzstudie mit Zeitpunkten der Behandlungsbeginne, Blutentnahmen (BE), Echokardiografie (Echo), Myokardinfarkt (MI), hämodynamischen Messungen (HM).

3.3.2 Gruppenzusammensetzungen

In der *Ischämie/Reperfusionstudie* wurden insgesamt 110 männliche Kaninchen eingesetzt. Die Einteilung der Tiere in die verschiedenen Gruppen erfolgte randomisiert.

Für die *per os* Studie erfolgte die Einteilung der Kaninchen je nach Behandlungszeit und Substanzgabe in 6 Gruppen.

	Kontrolle	Kontrolle	A2406	A2406	A2406	Rosigl.
--	-----------	-----------	-------	-------	-------	---------

Material und Methoden

	Solvent A2406 ath. Diät	Solvent Rosigl. ath. Diät	3mg/kg/d ath. Diät	10mg/kg/d ath. Diät	10mg/kg/d norm. Diät	10mg/kg/d ath. Diät
Tier- anzahl	9	9	10	13	10	12

Tab. 1: Gruppeneinteilung der *per os* Studie

Für die *intravenös behandelte* Studie erfolgte die Einteilung der Tiere in 4 Gruppen.

	Kontrolle Solvent A2406 ath. Diät	Kontrolle Solvent Rosigl. ath. Diät	A2406 3mg/kg ath. Diät	Rosigl. 10mg/kg ath. Diät
Tier- anzahl	8	10	9	11

Tab. 2: Gruppeneinteilung der *intravenösen* Studie

Auf Grund der geringen Abweichungen ($p \geq 0,95$) in den Ergebnissen der beiden Kontrollgruppen von Solvent A2406 und Solvent Rosiglitazon wurden die beiden Gruppen zusammengelegt.

Für die *Herzinsuffizienzstudie* wurden insgesamt 70 männliche Kaninchen verwendet. Sie wurden je nach OP, Behandlungsbeginn und Substanzverabreichung in 7 Gruppen eingeteilt, wobei alle Tiere die atherogene Diät bekamen.

	Kontroll e Sham	Kontroll e MI	A2406 10mg/k g Sham	A2406 10mg/k g MI 2 Std. prä OP	A2406 10mg/k g MI 1 Wo post OP	Rosigl. 10mg/k g Sham	Rosigl. 10mg/k g MI 1 Wo post OP
Tier- anzah l	8	11	8	11	10	8	10

Tab. 3: Gruppeneinteilung der *Herzinsuffizienzstudie*

3.3.3 *Ischämie/Reperfusionstudie*

3.3.3.1 *Ischämie/Reperfusion-OP*

Chirurgisches Instrumentarium

Das gesamte Operationsbesteck wurde von der Fa. Aesculap, Tuttlingen, bezogen. 1 Nadelhalter nach Mathieu, 1 Einmalskalpellklinge, 1 Wundspreizer nach Weitlaner, 1 chirurgische Pinzette, 1 anatomische Pinzette, 1 gebogene Pinzette, 1 feine Schere, 1 Präparierschere nach Metzenbaum, 1 Mini-Bulldogklemme gebogen 45 mm, 2 Arterienklemmen.

Zusätzlich benötigte Materialien:

2 Vasocan® Venenverweilkanülen, 22G1 der Firma B.Braun, Melsungen

2 ca. 10 cm lange Stücke Bindfaden

1 MILLAR® Mikro-Tip® Katheter der Stärke 3F (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten)

Online hämodynamische Datenerfassung mit NOTOCORD® Systems, Frankreich.

Die Tiere wurden randomisiert in Gruppen eingeteilt. Bei einem Teil der Tiere begann die per os Behandlung per Gavage bereits 3 Tage vor OP, 1 Stunde nach der letzten Verabreichung erfolgte die OP (Per os Studie). Dem anderen Teil der Tiere wurde während der OP nach 40 min. Ischämie die jeweilige Substanz über die Ohrvene verabreicht.

Den Tieren wurde zur Prämedikation eine Kombinationslösung aus 10 mg/kg KGW Xylazin (Rompun®, BayerVital, Leverkusen) und 50 mg/kg KGW Ketamin (Hostaket®, Intervet GmbH, Unterschleissheim) intramuskulär injiziert. Nach dem Erreichen ausreichender Narkosetiefe wurden die Tiere auf einem Kleintieroperationstisch (Heiland Vet GmbH, Hamburg) in Bauchlage gebracht, mit einem Trachealtubus Gr. 3,0 (Willy Rüscher AG, Kernen) intubiert und an die Atempumpe angeschlossen (NEMI Scientific, Medway, USA). Hierüber wurden sie mit reinem Sauerstoff beatmet. Die Atemfrequenz wurde je nach Größe des Kaninchens auf 28-33 Züge/Min. und das Atemvolumen auf 25-30 ml festgelegt. Die Überwachung der Atemgase erfolgte über einen Atemgasmonitor (5250 RGM,

Datex-Ohmeda, Louisville, USA). Der pO_2 lag dabei stets zwischen 80-100 mmHg, der pCO_2 zwischen 35-42 mmHg.

An der linken, äußeren Ohrfläche wurden die Haare gezupft und im Verlauf der A. auricularis und der V. auricularis gereinigt und desinfiziert. In beide Gefäße wurden Vasocan® Venenverweilkatheter für Blutabnahmen (Ohrrendarterie) und zur weiteren Anästhesie per Infusion (Ohrvene) gelegt. Die Infusion setzte sich aus 692 mg Ketamin, 35 mg Xylazin, 0,02mg Fentanyl (Fentanyl-Janssen, JANSSEN-CILAG, GmbH, Neuss) und 42,48 ml NaCl 0,9% (Isotonische Kochsalzlösung, Fresenius Kabi, Deutschland) zusammen und wurde in einer Perfusor-Spritze mittels Perfusor (PERFUSOR®F, B.Braun Melsungen) bei einer Pumprate von 7 ml/h/kg KGW verabreicht.

Ein ca. 5 cm großer Bereich der ventralen Halsseite wurde freirasiert. Die Haut wurde gesäubert und mittels eines Antiseptikums (Cutasept, BODE Chemie Hamburg) desinfiziert. Anschließend wurde ein ca. 3 cm langer Hautschnitt an der ventralen Halsseite median oberhalb des Oesophagus mit dem Skalpell gelegt und die A. carotis communis sinistra freipräpariert. Diese wurde so kranial wie möglich mit einem Bindfaden ligiert und kaudal temporär mittels Mini-Bulldogklemme abgeklemmt. Die A. carotis communis sinistra wurde inzisiert und ein Millar® Mikro Tip®-Katheter eingeführt, die Klemme und der Katheter bis in den linken Ventrikel vorgeschoben, um während des Versuchs verschiedene hämodynamische Parameter aufzeichnen zu können. Zur Befestigung des Katheters wurde der 2. Bindfaden um den Katheter in der A. carotis sinistra gelegt und festgebunden. Anschließend wurden die Kaninchen in die rechte Seitenlage gebracht. Das Fell der Tiere wurde aufgrund der folgenden linksseitigen Thorakotomie im umliegenden Bereich des 4.-5. Interkostalraum geschoren, die Haut gereinigt und desinfiziert. Ein etwa 5 cm langer Hautschnitt wurde ca. 1 cm kaudal des Ellbogengelenks mittels eines Skalpells in dorsoventraler Richtung gesetzt. Ebenfalls wurden die oberflächliche und tiefe Pektoralismuskulatur durchtrennt, um anschließend die Brusthöhle zwischen dem 4. und 5. Interkostalraum zu eröffnen. Nach Spreizung der Rippen mit einem Wundspreizer erfolgte die Eröffnung des Perikards mittels einer feinen Schere. Um das Herz sichtbar zu machen, wurde der linke Lungenflügel mit einem Rundtupfer nach dorsal in den Thorax verschoben.

Nun erfolgte die temporäre Unterbindung eines absteigenden Astes der A. coronaria circumflexa etwa 2-5 mm distal des linken Herzohres. Dieser kurzzeitige Verschluss konnte mittels eines unterstochenen Fadens und eines eingefädelt ca. 2 cm großen Gummiröhrchens, worauf eine Klemme gesetzt wurde, erzielt werden (siehe Abb. 26 im Anhang). Anschließend wurde der Tupfer aus dem Thorax wieder entnommen und die Lunge für 2 Atemzüge überbläht. Ein eventuell auftretendes Kammerflimmern konnte per Defibrillation (bei 2 Joule) behoben werden. 45 Min. nach Ischämiebeginn wurde der Verschluss wieder gelöst und damit die Reperfusion eingeleitet.

Nach 2-stündiger Reperfusion wurde der Katheter entfernt, der Faden am Koronargefäß wieder verschlossen und 8 ml Scribto^l®-Tusche (Pelikan, Hannover) mittels Kanüle in den linken Ventrikel von der Herzspitze aus injiziert. Die Tiere wurden sofort danach durch Herzentnahme getötet. Das Herz wurde für die weitere Infarktgrößenbestimmung (siehe 3.3.3.5) präpariert.

3.3.3.2 Bestimmung des Körpergewichts und Blutprobenentnahmen

Die Gewichtsbestimmung und Blutentnahme fand am Tag der OP statt. Die Proben für die Blutfettwert-, CK- und LDH- Bestimmung erfolgte in EDTA-Plasmaröhrchen vor OP-Beginn, nach 45 Min. Ischämie sowie nach 15 Min., 1 h und 2 h in der Reperfusion. Des Weiteren erfolgte in Li-Heparin-Röhrchen die Blutabnahme für die spätere Plasmakonzentrationsbestimmung der Substanzen zu den Zeitpunkten 45 Min. Ischämie, 15 Min. Reperfusion und 2 h Reperfusion. Das Blut wurde zentrifugiert und das Plasma abpipettiert. Bis zur späteren Messung der Creatinkinase (CK), Lactatdehydrogenase (LDH) und Blutfettwerte (Gesamtcholesterin, High-Density-Lipoprotein-Cholesterin (HDL-Cholesterin), Low-Density-Lipoprotein-Cholesterin (LDL-Cholesterin), Triglyceride) am selben Tag, wurde ein Röhrchen bei Raumtemperatur bewahrt, dasjenige zur Plasmakonzentrationsbestimmung tiefgefroren und am Ende der Versuchsreihe zur Messung gegeben.

3.3.3.3 CK-, LDH-, Blutfettwert- und Plasmakonzentrationsbestimmung

Die Creatinkinase (CK) ist ein Leitenzym für die Diagnose von Schädigungen der Herz- und Skelettmuskulatur. Dabei kann von der Höhe des CK-Anstiegs auf die Größe der Schädigung geschlossen werden (Thomson et al., 1995). Die CK katalysiert in der Muskulatur und im Gehirn die Phosphorylierung von Creatin mittels ATP. Durch post-synthetische Veränderungen entstehen die drei dimeren, zytoplasmatischen Isoenzyme: CK-MB (Myokardtyp), CK-MM (Skelettmuskeltyp), CK-BB (Hirntyp). Entscheidend für die Diagnose eines Herzinfarktes ist die Bestimmung des CK-MB Werts, dessen Anstieg beim Menschen bereits 2-4 Std. nach dem Infarkt ereignis nachweisbar ist. Der Referenzbereich liegt bei Männern bei weniger als 160 IU/L, bei Frauen bei weniger als 200 IU/L.

Die Laktat-Dehydrogenase (LDH) ist ebenfalls ein Enzym und kommt in unterschiedlichen Konzentrationen in fast allen Körperzellen vor. Sie ist daher zunächst ein unspezifischer Parameter, der bei einer Vielzahl von Erkrankungen erhöht sein kann. Die messbare Gesamt-LDH besteht aus 5 Unterenzymen (Isoenzymen), die für bestimmte Organe hinweisend sind. Beispielsweise kommen LDH-1 und LDH-2 vorwiegend in Herzmuskelzellen, Erythrozyten und Nieren vor, LDH-4 und LDH-5 in Leber und Skelettmuskel. Bei einem Herzinfarkt steigt der LDH-Wert nach sechs bis zwölf Stunden an und erreicht nach 24-60 Stunden seinen höchsten Wert. Daher dient LDH-1 vor allem der Spät Diagnostik eines Herzinfarkts. Für die Messung wurde ein UV-Test (Roche, Mannheim) verwendet, der CK und LDH quantitativ in Serum oder Plasma bestimmt.

In unseren Laboratorien erfolgte die Messung von Gesamt-CK und -LDH, keine selektive Messung von CK-MB und LDH-1.

Die quantitative Bestimmung von Gesamtcholesterin, High-density-Lipoprotein / Low-density-Lipoprotein (HDL-/LDL-Fraktion) und Triglyceriden erfolgte mit Hilfe eines klinisch-chemischen Analysenautomaten (Hitachi Typ 912 Automatic Analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim). Dazu wurde das Plasma unter Verwendung unterschiedlicher enzymatischer Tests (Roche Diagnostics, Mannheim) im Automaten photometrisch untersucht.

Die Messung der Arzneimittelkonzentration in Blut, Plasma oder Serum ist ein inzwischen allgemein akzeptiertes Hilfsmittel zur Optimierung der Therapie mit Arzneimitteln geworden („therapeutic drug monitoring“). Für die häufige interindividuelle Variabilität der Plasmakonzentration nach Gabe gleicher Dosen einer Substanz können zahlreiche physiologische bzw. pathologische Einflussgrößen und pharmakokinetische Faktoren verantwortlich sein, die sich wiederum wechselseitig beeinflussen können. Zur Bestimmung der freien Komponenten von A2406 wurden die Proben in der Bioanalytik mittels Liquid Chromography mit Tandem Mass Spectrometry analysiert.

3.3.3.4 *in vivo* Hämodynamikmessung

Die Messungen der hämodynamischen Parameter erfolgte über dem via A. carotis communis sinistra in den linken Ventrikel vorgeschobenen Millar® Mikro Tip® Katheter der Stärke 3F (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten). Gemessen wurde hiernach für 60 Sek. der *linksventrikuläre systolische Druck (LVSP)*, der *enddiastolische linksventrikuläre Druck (LVedP)*, die *max. Druckerhöhungsgeschwindigkeit* und *max. Druckabfallsgeschwindigkeit ($dP/dt_{min+max}$)*, die *Herzfrequenz (HR)* und die *isovolumetrische Relaxationsgeschwindigkeit (TAU)*.

Der Katheter war mit einem Druckumwandler (Biopac Systems, Santa Barbara, USA) verbunden, der den gemessenen Blutdruck in elektrische Signale umwandelte und diese an ein elektronisches Differenzierungssystem „Plugsys®“ (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten) übermittelte. Seine analogen Signale wurden schließlich digitalisiert und über eine spezielle Software (NOTOCORD, Croissy-sur-Seine, Frankreich) bearbeitet und gespeichert.

3.3.3.5 Herzentnahme und Infarktgrößenbestimmung

Zur Ermittlung der Infarktgröße wurde, wie in der I/R-OP beschrieben, das Herz mit Tinte gefärbt und die Tiere durch Herzentnahme getötet. Zur Spülung wurde das Herz für ca. 1 Min. in isotonische Kochsalzlösung gegeben, anschließend die

Vorhöfe und der rechte Ventrikel abgetrennt, wobei das Septum am linken Ventrikel blieb. Mit einer Skalpellklinge wurde der linke Ventrikel in 6 etwa gleich dicke Scheiben geschnitten und für die nachfolgende Färbung für 10 Min. in warme TTC-Lösung (10 mg/ml Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid) gelegt. Bei dieser Färbung kommt es zu einer reduktiven Umsetzung des farblosen TTC zu einem farbigen (rot) Triphenylformazansalz. Nur gesundes Gewebe besitzt die hierzu benötigten Enzyme (Dehydrogenasen). Aufgrund mangelnder Enzymaktivität findet im nekrotischem Gewebe keine Reaktion des TTC statt, so dass das Gewebe farblos erscheint und eine optische Unterscheidung vom gesunden Gewebe möglich ist.

Die gefärbten Herzscheiben wurden fotografiert und über ein Bildanalysesystem (Leica Qwin, Leica Imaging Systems, Cambridge, England) das nicht-ischämische Gebiet, die AAR (Area at risk, Risikogebiet) und die Infarktgröße planimetrisch ermittelt (siehe Abb. 29 im Anhang). Die Infarktgröße wurde als prozentualer Anteil der AAR und die AAR als prozentualer Teil des linken Ventrikels angegeben. In den verschiedenen Gruppen wurden randomisierte Tiere (insgesamt $n = 10$) ohne Herzfärbung für molekulare Untersuchungen der NF- κ B Aktivierung im Herzinfarktgeschehen verwendet. Dazu wurde das Herz ohne Färbung entnommen und der LV präpariert, wobei jeweils ein nicht-ischämischer Teil des Myokards und ein ischämischer Teil zur Untersuchung kam.

3.3.3.6 Bestimmung der NF- κ B Aktivierung

Der Nachweis des Transkriptionsfaktors NF- κ B (Nuclear factor-kappa B) erfolgte aus Herzgewebestücken des linken Ventrikels, dem ischämisch infarzierten Gebiet und dem nicht-ischämischen Gebiet.

Die Aktivierung von NF- κ B wurde in electromobility shift assays (EMSA) mit Extrakten nukleärer Proteine untersucht. Hierbei wurden die Untereinheiten p65 und p50 von NF- κ B als optische Dichte (oD) bei 450 nm Licht im Photometer nachgewiesen.

Die Gelretentionsanalyse, EMSA oder auch Gel-Shift Assay genannt, dient zur Bestimmung der Interaktion von DNA-bindenden Proteinen wie der Interaktion

von Transkriptionsfaktoren mit regulatorischen Regionen. Der Assay beruht auf der verringerten Migrationsgeschwindigkeit von DNA/RNA – Protein-Komplexen im nicht denaturierenden Polyacrylamidgel im Vergleich zur ungebundenen DNA/RNA. Bildet sich ein Multi-Protein-Komplex aus, so verringert sich die Migrationsrate mit jedem weiteren Protein. Bei dem zur Untersuchung benötigten Kit handelte es sich um einen NF- κ B p65/ NF- κ B p50 Transcription Factor Assay Kit, Version C (Active Motive Europe, Rixensart, Belgien, Katalog Nr. 410968 und 41596 p50; Katalog Nr. 40096 und 40596 p65), der nach den Spezifikationen des Herstellers verwendet wurde.

3.3.4 Herzinsuffizienzstudie

3.3.4.1 Experimenteller Myokardinfarkt

Da es sich bei dieser Studie um einen Versuch mit Wiedererwachsen handelte, wurden die Operationen in speziell dafür vorgesehenen aseptischen OP- Räumen durchgeführt. Bei dem verwendeten Instrumentarium handelte es sich um sterilisiertes Besteck.

a) Chirurgisches Instrumentarium:

1 Nadelhalter nach Hegar-Mayo, 1 Nadelhalter nach Mathieu,
1 Einmalskalpellklinge, 1 Wundspreizer nach Weitlaner, 1 chirurgische Pinzette,
1 anatomische Pinzette, 1 feine Schere, 2 Präparierscheren, 1 Arterienklemme.
Das Operationsbesteck wurde von der Firma Aesculap, Tuttlingen, bezogen.

b) Nahtmaterial:

Vicryl Stärke 2/0 geflochten für Muskelnähte

Vicryl Stärke 3/0 geflochten für Hautnaht

Prolene Stärke 5/0 monofil für Gefäßligatur

Das Nahtmaterial wurde von der Fa. Ethicon, Norderstedt, bezogen.

Die Kaninchen wurden randomisiert in Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe wurde bereits 2 Stunden vor OP Beginn mit A2406 10 mg/kg per Gavage behandelt und dies bis zum Ende des Versuchsvorhabens täglich fortgeführt. Bei einer weiteren Gruppe erfolgte die Behandlung mit gleicher Substanz und Dosis erst eine Woche nach OP, die Kontrollgruppe erhielt neben dem atherogenen Futter keine Behandlung.

Die Narkose stimmte mit der unter 3.3.3 beschriebenen überein. Vor OP-Beginn wurden den Tieren EKG (Elektrokardiogramm) Elektroden in der Gliedmaßenableitung nach Einthoven angelegt, um den Einfluß des Infarktes auf das EKG darzustellen und bei einem eventuellen Aufkommen eines Kammerflimmerns mittels Defibrillator eingreifen zu können (siehe Abb. 27 EKG-Bild eines Hinterwandinfarktes im Anhang).

Katheterisierung des linken Ventrikels über die A. carotis communis sinistra und Aufzeichnung der hämodynamischen Parameter erfolgte erst zur Abschluß-OP am Versuchsende. Die OP-Technik erfolgte wie in 3.3.3. beschrieben, bis zum Zeitpunkt des Wiederlösens der Ligatur. Hier blieb die Ligatur verschlossen, und der Thorax wurde durch Aneinanderfügen der vierten und fünften Rippe mittels Knopfnähte mit resorbierbarem Faden zugenäht. Ebenso wurden die Pektoralismuskulatur und die Haut mit Knopfheften adaptiert.

Die Infusionsnarkose wurde dann abgestellt und die Tiere bei vorhandenem Schluckreflex extubiert.

Zur Schmerzbehandlung wurde ihnen s.c. 20 mg/kg KGW Novalgin (Hoechst Roussel Vet, Unterschleißheim) und zur antibiotischen Versorgung s.c. 15 mg/kg KGW Terramycin (Pfizer, Karslsruhe) drei Tage lang verabreicht. Die OP-Wunde wurde mit Braunol® (Povidon-Jod- Lsg., B.Braun, Melsungen) versorgt.

3.3.4.2 Bestimmung des Körpergewichts und Blutprobenentnahme

Die Tiere wurden vor OP sowie vier und acht Wochen danach gewogen.

Weiterhin wurde ihnen vor OP, vier und acht Wochen nach der OP Blut aus der A. auricularis entnommen und sowohl in EDTA-Plasmaröhrchen als auch in Lithium-Heparinröhrchen und Citrat-Röhrchen aufgefangen. Das Blut wurde hiernach zentrifugiert, um danach den Plasmaüberstand abzupipettieren, wobei

das EDTA-Plasma zur CK, LDH und Blutfettwertbestimmung sofort im Labor analysiert wurde, die anderen beiden Proben wurden vorerst tiefgefroren.

3.3.4.3 proANP-Bestimmung, Aldosteron-Bestimmung und Blutwertebestimmung

Die Messung von proANP und Aldosteron erfolgte im Citrat-Plasma.

Das atriale natriuretische Peptid ist ein Peptid, das in den Myozyten des Vorhofes als Prohormon synthetisiert und gespeichert wird. Hauptstimulus zur Freisetzung ist das Strecken der Myozytenfibrillen. Zu diesem Zeitpunkt wird das Prohormon in das biologisch aktive α -ANP und den N-terminalen Teil von 98 Aminosäuren gespalten. α -ANP bindet an spezifischen Rezeptoren, es hat eine sehr kurze Halbwertszeit. Bis jetzt sind keine Rezeptoren für proANP bekannt; somit zirkuliert das Peptid länger und stellt so besser die Gesamtmenge des ausgeschütteten ANP dar.

Für die Messung wurde ein Sandwich Enzymimmunoassay (BIOMEDICA Wien, Österreich) verwendet, der das Prohormon direkt in biologischen Flüssigkeiten mißt.

Das Hormon Aldosteron ist ein Mineralkortikoid, das in der Nebennierenrinde produziert wird. Es regelt zusammen mit dem Renin-Angiotensin-System den Natrium-Kalium-Haushalt und ist an der Steuerung des Flüssigkeits- und Elektrolythaushaltes beteiligt. Im Rahmen der Herzinsuffizienz kann es als Marker für eine progrediente Volumenüberladung angesehen werden. Für die Messung wurde ein ^{125}I -Radioimmunoassay (Coat-A-Count®, DPC, Los Angeles, USA) verwendet, der das Aldosteron direkt im Plasma messen kann.

Die Bestimmung der Blutwerte erfolgte auf gleiche Art und Weise wie unter 3.3.3.3 beschrieben.

3.3.4.4 Echokardiographie

Die Tiere wurden vor OP, 4 Wochen nach OP und 8 Wochen nach OP sonographisch am Herzen untersucht.

3.3.4.4.1 Methodik

Die Echokardiographie ist eine Ultraschalluntersuchung des Herzens zur nichtinvasiven Darstellung und Messung von Herzmuskelfunktionen und Herzklappen. Sie findet Verwendung in der kardiovaskulären Diagnostik und bietet sich für den Dokumentationsverlauf einer Herzerkrankung an. Die kardiologischen Messparameter in der Echokardiographie sind das M-Mode Verfahren, die zweidimensionale (2-D-) Echokardiographie, der Spektral-Doppler, der farbkodierte Doppler, die Kontrastmittel- und Belastungs-Echokardiographie.

Ultraschallwellen sind Schallwellen, deren Frequenz über 20 kHz liegt. Erzeugt wird der Ultraschall durch einen piezoelektrischen Kristall, der im Schallkopf sitzt. Durch einen elektrischen Spannungsimpuls wird der Kristall in Schwingungen versetzt, woraufhin Schallwellen erzeugt werden. Diese Schallwellen werden im Körper des Patienten je nach Gewebeart und akustischer Impedanz absorbiert oder reflektiert. Der Schallkopf kann die reflektierten Schallwellen wiederum empfangen, wirkt also gleichzeitig als Schallsender und – empfänger. Da die Fortleitungsgeschwindigkeit in den Weichteilen annähernd konstant ist, besteht eine Proportionalität zwischen der Laufzeit des Impulses und der Distanz zwischen Schallkopf und reflektierender Fläche. Die reflektierten Schallwellen werden in elektrische Impulse verwandelt, verstärkt und auf einem Bildschirm dargestellt.

Die zurückkehrenden Echos verändern während der Herzaktion ihre Laufzeit infolge der Bewegung der angeschallten Herzstrukturen vom Schallkopf weg oder auf diesen zu. Diese Veränderungen werden als eine Weg-Zeit-Kurve erfasst und als Echokardiogramm M-Mode (motion-diplay) bezeichnet. Die M-Mode Echokardiographie erlaubt eine quantitative Aussage über Ventrikel- und Vorhofgröße, Wanddicke und Geschwindigkeit der Wandbewegungen.

Mit der 2D-Echokardiographie ist sowohl eine qualitative Beurteilung der Bewegungsabläufe der Herzstrukturen sowie eine quantitative Bestimmung der relativen Größenverhältnisse bzw. der anatomischen Besonderheiten möglich.

Hierzu wird der Kristall im Schallkopf mechanisch sektorförmig oder linear bewegt, um ein zweidimensionales Bild zu erhalten.

Unter dem Dopplereffekt versteht man die Veränderung der Frequenz eines Tonsignals bei relativer Bewegung von Tonquelle und Tonempfänger. Dopplersignale werden bei der echokardiographischen Untersuchung durch Reflexion von Ultraschall an bewegten Strukturen, hauptsächlich an Erythrozyten, erzeugt. Beim gepulsten Doppler werden abwechselnd Schallsignale gesendet und empfangen, was eine Zuordnung hinsichtlich der Tiefe, aus welcher die Dopplerverschiebung kommt, ermöglicht. Der Aufbau einer zusätzlichen 2D-Bildes ist somit möglich. Mit dem Verfahren der Doppler-Sonographie erhält man zusätzlich Informationen über die Strömungsrichtung, -geschwindigkeit und -stärke des Blutflusses.

Für die Untersuchungen wurde ein Ultraschallgerät (HDI®3000, Philips, Solingen) mit einem 5-8 MHz Schallkopf verwendet. Alle Aufnahmen wurden auf Papier ausgedruckt. Die Untersuchungen erfolgten alle transthorakal.

3.3.4.4.2 Durchführung der Echokardiographie und Messparameter

Zur Durchführung der Ultraschalluntersuchung wurden den Tieren eine Kombinationslösung aus 10 mg/kg KGW Xylazin (Rompun®, BayerVital, Leverkusen) und 50 mg/kg KGW Ketamin (Hostaket®, Intervet GmbH, Unterschleißheim) i.m. appliziert. Die Kaninchen wurden in Rückenlage gelagert, der ventrale Thoraxbereich geschoren und mit Ultraschallgel benetzt. Folgende Messungen wurden durchgeführt (siehe Abb. 28 im Anhang):

2D-Echokardiographie

Zur Messungen in der langen Achse wurde der Schallkopf linksseitig parasternal aufgesetzt. Gemessene Parameter:

- Fläche des linken Ventrikels diastolisch, lange Achse (AlVed, long axis)
- Fläche des linken Ventrikels systolisch, lange Achse (AlVes, long axis)

M-Mode Untersuchungen

Die Messungen erfolgten in der kurzen Achse wofür der Schallkopf rechtsseitig parasternal angesetzt wurde. Gemessen wurde auf halber Höhe des linken Ventrikels im Bereich der Papillarmuskeln. Folgende Parameter wurden erhoben:

- Linksventrikulärer endsystolischer Diameter (LVDes)
- Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter (LVDed)
- Wanddicke des interventrikulären Septums enddiastolisch (IVSed)
- Dicke der posterioren Wand des linken Ventrikels enddiastolisch (PWed)

Doppler-Echokardiographie

Zur Messung der Flussparameter an der Mitralklappe wurde der Schallkopf substernal in dorsokranieler Richtung mit einem Winkel von ca. 45° aufgesetzt. In diesem apikalen sogenannten Vierkammerblick wurde direkt hinter den Zipfeln der Mitralklappe der Blutfluss gemessen. Erhobene Parameter:

- Geschwindigkeit der frühdiaastolischen Füllungswelle (E für early)
- Geschwindigkeit der spätdiaastolischen Füllungswelle (A für atrial)
- E/A-Ratio
- Dezelerationszeit der frühdiaastolischen Füllungswelle (DeccT)

Aus den genannten Werten wurden weitere Parameter errechnet:

- *Auswurffraktion* (ejection fraction, EF) *des linken Ventrikels in der langen Achse* (long axis)
$$\text{EF\% long axis} = (\text{Aed}/\text{Aes})/\text{Aed} \times 100$$
- *Fractional Shortening* (FS, Maß der Kontraktilität)
$$\text{FS\%} = (\text{LVDed}-\text{LVDes})/\text{LVDed} \times 100$$

3.3.4.5 Abschließende Untersuchung

Zur terminalen Messung der verschiedenen Parameter wurden die Kaninchen zur Intubation zunächst ultrakurz narkotisiert. Hierzu wurde ihnen Propofol 1%ig (Disoprivan®, AstraZeneca, Caponoga, Italien) in einer Dosierung von 20-30 mg/kg KGW i.v. verabreicht. Zusätzlich wurde ihnen 0,02 mg/kg KGW Fentanyl (Fentanyl-Janssen, JANSSEN-CILAG GmbH, Neuss) i.m. injiziert.

Nach Narkoseeintritt wurden die Tiere auf einem Kleintieroperationstisch (Heiland Vet GmbH, Hamburg) in Bauchlage gebracht und mit einem Trachealtubus (Willy Rüscher AG, Kernen) intubiert. Danach wurden sie in Rückenlage versetzt und über eine Atempumpe (NEMI Scientific, Medway, USA) mit Sauerstoff und 5% Sevofluran (SEVOrane®, Abbott GmbH, Wiesbaden) beatmet. Das Atemvolumen wurde je nach Größe des Kaninchens auf 25-30 ml und die Atemfrequenz auf 28-33 Züge/min. eingestellt.

3.3.4.5.1 Messung der hämodynamischen Parameter

Nach Rasur und Säuberung der ventralen Halsseite erfolgte das Freipräparieren der A.carotis communis sinistra und Einführen eines Millar® Mikro Tip® Katheters der Stärke 3F (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten), wie in 3.3.3.1 bereits beschrieben. Bevor die eigentlichen Messungen durchgeführt wurden, wurde 10-15 Min. gewartet, damit die Messparameter sich auf stabile Basalwerte einstellen konnten. Gemessen wurden hiernach für 60 Sek. der *linksventrikuläre systolische Druck (LVSP)*, der *enddiastolische linksventrikuläre Druck (LVedP)*, die *max. Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{max})* und *max. Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{min})*, die *Herzfrequenz (HR)* und die *isovolumetrische Relaxationsgeschwindigkeit (TAU)*.

Hiernach wurde den Tieren Isoproterenol jeweils im Abstand von fünf Minuten in den Dosierungen 0,03 µg/kg, 0,1 µg/kg und 0,3 µg/kg KGW per Infusion i.v. verabreicht. In der 5. Infusions-Minute der jeweiligen Dosierung wurden o.g. Parameter für eine Minute aufgezeichnet. Der Katheter war mit einem Druckumwandler (Biopac Systems, Santa Barbara, USA) verbunden, der den gemessenen Blutdruck in elektrische Signale umwandelte und diese an ein elektronisches Differenzierungssystem „Plugsys®“ (Hugo Sachs Elektronik,

March-Hugostetten) übermittelte. Seine analogen Signale wurden schließlich digitalisiert und über eine spezielle Software (NOTOCORD, Croissy-sur-Seine, Frankreich) bearbeitet und gespeichert. Die über eine Minute aufgezeichneten Werte wurden gemittelt und als ein Wert pro Dosierung angegeben.

3.3.4.5.2 Herz-, Aorten- und Leberentnahme, Gewichts- und Infarktgrößenbestimmungen

Nachdem die Messungen abgeschlossen waren und sämtliche Instrumente aus dem Tier entfernt wurden, wurde das Tier durch intraventrikuläre Injektion von ca. 6 ml gesättigter KCl-Lösung getötet. Hiernach wurden ein Stück der Leber, das Herz und die thorakale Aorta herausgeschnitten. Das Herz wurde freipräpariert und das Gesamtherz sowie der rechte und linke Ventrikel separat gewogen. Zur Ermittlung der Infarktgröße wurde eine ca. 2 mm dicke Scheibe kurz oberhalb der Herzspitze des LV herausgeschnitten, fotografiert und über ein Bildanalysesystem (Leica Qwin, Leica Imaging Systems, Cambridge, England) die Infarktfläche planimetrisch ermittelt. Der prozentuale Anteil der Infarktfläche bezogen auf die Gesamtfläche der Scheibe entsprach der Infarktgröße. Der restliche Teil des LV wurde gedrittelt, ein Teil in 4 %iger Formalin-Lösung aufbewahrt, ein Teil schockgefroren und der dritte Teil in kalte PBS-Lösung für weitere molekularbiologische Untersuchungen gelegt. Die Leberprobe wurde schockgefroren und die thorakale Aorta in 4 %iger Formalin-Lösung eingelegt.

3.4 Statistik

Zur statistischen Berechnung wurden bei beiden Studien die Werte der Einzeltiere in o.g. Gruppen eingeteilt, die jeweiligen arithmetischen Mittelwerte (MW) sowie der Standardfehler des Mittelwerts (SEM) berechnet. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Software-Programmes SigmaStat (Version 3.0, Jandel Scientific GmbH, Erkrath,), mit welchem die Ergebnisse auf signifikante

Unterschiede hin untersucht wurden. Als minimales Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ angenommen.

Die Studien wurden mittels einer einfaktoriellen Bonferroni-korrigierten Varianzanalyse ausgewertet. Beim Vergleich verschiedener Gruppen zu verschiedenen Zeitpunkten wurde die zweifaktorielle Varianzanalyse für „repeated measures“ mit post hoc Bonferroni Korrektur angewandt.

4. Ergebnisse

4.1 *Ischämie-/Reperfusionstudie*

4.1.1 Mortalitätsrate und Gruppengröße

Für die *Ischämie/Reperfusionstudie* wurden insgesamt 110 Kaninchen operiert, wovon 92,7% in die Abschlussuntersuchungen einbezogen werden konnten. Die 8 verstorbenen Tiere entwickelten in der 10.-15. Minute der Koronarligatur ein nicht zu terminierendes Kammerflimmern.

Von den 102 zur abschließenden Untersuchung herangezogenen Kaninchen wurden bei letztendlich 28 Tieren die Herzen auf Grund von anderweitigen Untersuchungen als molekularbiologische Proben oder wegen schlechter Färbung bzw. zu kleiner AAR (<30 %) nicht in die Endauswertung der Infarktgrößenbestimmung einbezogen. Je Gruppe kam es schließlich zu einer Tierzahl von:

per os Studie

- *I/R Kontrolle ath. Diät, n = 18*
- *I/R A2406 3 mg/kg ath. Diät, n = 10*
- *I/R A2406 10 mg/kg ath. Diät, n = 13*
- *I/R A2406 10 mg/kg norm. Diät, n = 10*
- *I/R Rosiglitazon 10 mg/kg ath. Diät, n = 12*

intravenöse Studie

- *I/R Kontrolle ath. Diät, n = 18*
- *I/R A2406 3 mg/kg ath. Diät, n = 9*
- *I/R Rosiglitazon 10 mg/kg ath. Diät, n = 11*

4.1.2 Ermittlung der Pharmakokinetik

Die Plasmakonzentrationen von A2406 wurden in der DMPK-Abteilung (Drug Metabolism and Pharmacokinetics) bei Sanofi-Aventis zur Ermittlung der Futter- versus-Gavage A2406 Konzentration untersucht.

Per os Studie

Drei Tiere erhielten als *Futtermischung* A2406 10 mg/kg KGW über 5 Tage. Am 6. Tag wurden in vierstündigen Abständen Blutproben entnommen. Die Ergebnisse zeigten jedoch mit Wert von 0,01 µg/ml bis 0,28 µg/ml eine zu geringe Wirkstoffkonzentration im Blut (Tab.4), so daß wir in weiteren Studien A2406 per Gavage applizierten.

Zeit	Tier 1	Tier 2	Tier 3
morgens	0,032 µg/ml	0,145 µg/ml	0,95 µg/ml
mittags	0,011 µg/ml	0,022 µg/ml	0,284 µg/ml
abends	0,027 µg/ml	0,155 µg/ml	0,022 µg/ml

Tab. 4: Wirkstoffkonzentrationen von A2406 im Kaninchenplasma nach 5- tägiger Behandlung in der Dosierung 10 mg/kg KGW im Futter

A2406 in den Dosierungen 3 mg/kg KGW und 10 mg/kg KGW wurde per Gavage insgesamt 21 Tieren verabreicht. Plasmaproben wurden 1 Stunde sowie 4 Stunden nach Behandlung gewonnen (Abb. 8). In der Dosierung 3 mg/kg konnten Werte von MW/SEM $2,35 \pm 0,6$ µg/ml (1 h) – MW/SEM $1,13 \pm 0,24$ µg/ml (4 h), bei 10 mg/kg Werte von MW/SEM $3,16 \pm 1,22$ µg/ml (1 h) – MW/SEM $1,57 \pm 0,34$ µg/ml (4 h) erreicht werden. Diese Ergebnisse zeigten einen ausreichenden Wirkstoffspiegel, so dass die Studie per Gavage über drei Tage mit einer Dosierung von 10 mg/kg KGW durchgeführt wurde.

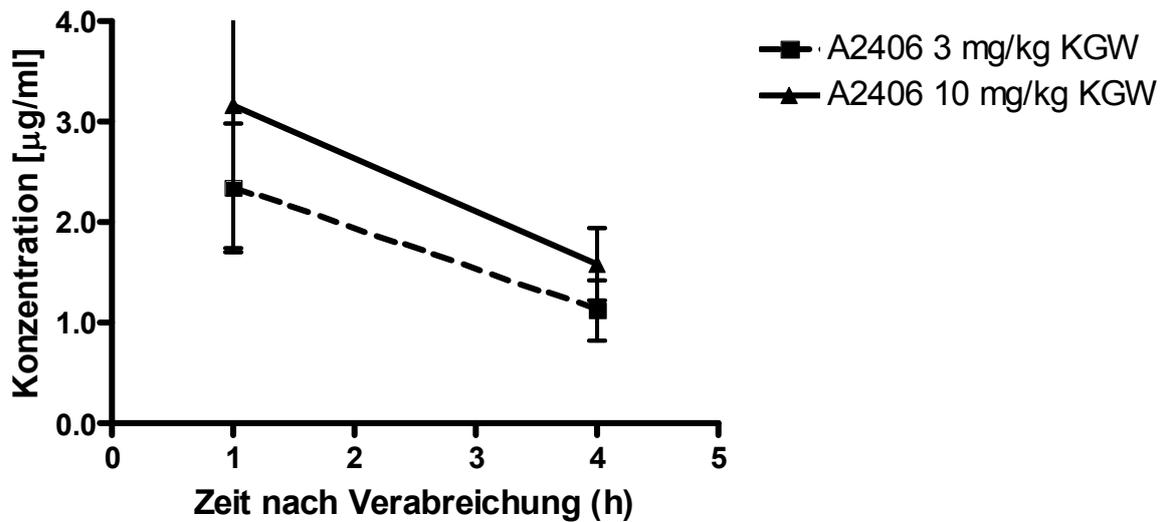


Abb. 8: Pharmakokinetik von A2406 3 mg/kg und 10 mg/kg nach Gavage.
Angaben in MW \pm SEM

Intravenöse Studie

A2406 in der Dosierung 3 mg/kg KGW wurde 9 Tieren i.v. appliziert, die Plasmaproben wurden 0,05 h, 0,25 h, 1 h und 2 h nach Verabreichung gewonnen (Abb.9). Ausreichend hohe Konzentrationen von MW/SEM $26,69 \pm 0,82$ µg/ml (0,05 h), MW/SEM $16,84 \pm 0,88$ µg/ml (0,25 h), MW/SEM $10,44 \pm 0,87$ µg/ml (1 h) – MW/SEM $7,2 \pm 0,61$ µg/ml (2 h) konnten somit für den 2 Stunden I/R-Versuch erreicht werden.

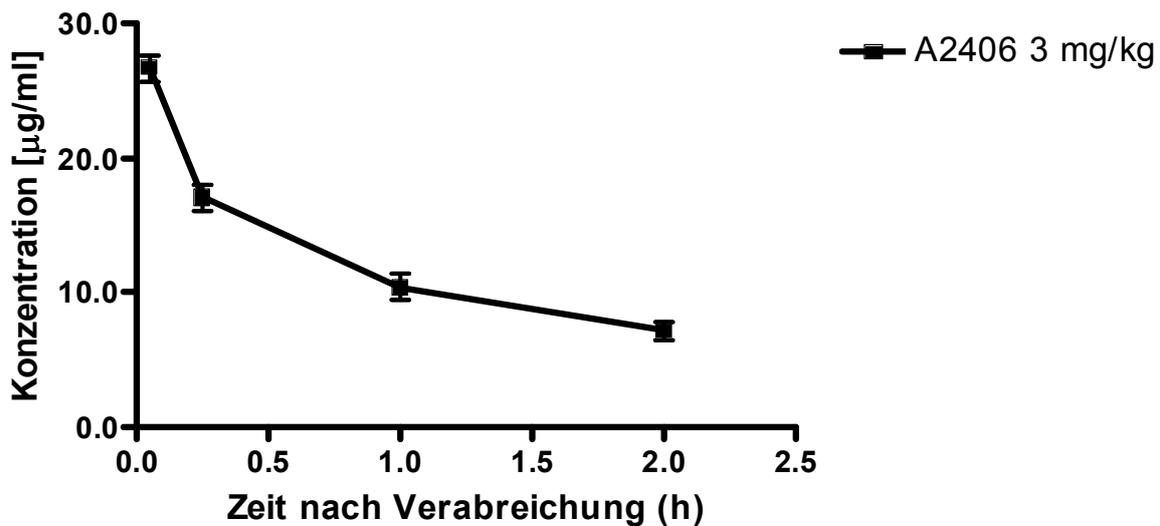


Abb. 9: Pharmakokinetik von A2406 3 mg/kg nach i.v. Applikation. Angaben in MW \pm SEM

4.1.3 Ergebnisse der Infarktgrößen-Bestimmung

4.1.3.1 *Per os Studie*

Bei der planimetrischen Bestimmung des Verhältnisses Infarktgrösse/AAR (Area at risk) des linken Ventrikels wiesen die Tiere der Kontrollgruppe und atherogenen Diät ein durchschnittliches Verhältnis von $66,7 \pm 2,4 \%$ bei einer AAR von $41,4 \pm 2,2 \%$ ($n = 13$) auf. Die behandelten Tiere mit A2406 3 mg/kg KGW und ath. Diät zeigten ein Verhältnis von $64,8 \pm 3,1 \%$ mit einer AAR von $39,5 \pm 2,2 \%$ ($n = 9$); A2406 10 mg/kg KGW und ath. Diät $62,0 \pm 2,5 \%$ und AAR von $43,7 \pm 3,9 \%$

($n = 7$); sowie Rosiglitazon 10 mg/kg KGW und ath. Diät $61,0 \pm 2,2 \%$ und AAR von $44,3 \pm 2,5 \%$ ($n = 8$). Vergleichend dazu zeigte die Kontrollgruppe mit norm. Diät eine Infarktgrösse/AAR von $63,0 \pm 1,9 \%$ mit einer signifikant größeren AAR von $48,5 \pm 2,71 \%$ ($n = 9$) und die Gruppe der mit A2406 10 mg/kg norm. Diät behandelten Gruppe eine Inf/AAR von $58,4 \pm 3,9 \%$ und AAR von $39,0 \pm 3,2 \%$ ($n = 8$) auf (siehe Abb. 10 und 11). Die Behandlung mit A2406 per os (Gavage) 3 Tage vor OP führte zu einer dosisabhängigen Reduktion der Infarktgröße, die allerdings statistisch nicht signifikant war. Auch die Behandlung mit

Rosiglitazon hatte keine signifikante Wirkung auf die Infarktgröße. In der mit normaler Diät gefütterten Kontrollgruppe konnte tendenziell eine geringere Infarktgröße im Verhältnis zur atherogen gefütterten Kontrollgruppe gezeigt werden; A2406 10 mg/kg in normal gefütterten Tieren zeigte zwar einen Trend zur Infarktgrößenreduktion, die Kontrollgruppe zeigte jedoch eine signifikant höhere AAR % versus der mit A2406 norm. Diät behandelten Gruppe. Abb. 29 im Anhang zeigt das Bild einer Herzscheibe für die planimetrische Bestimmung der Infarktgröße.

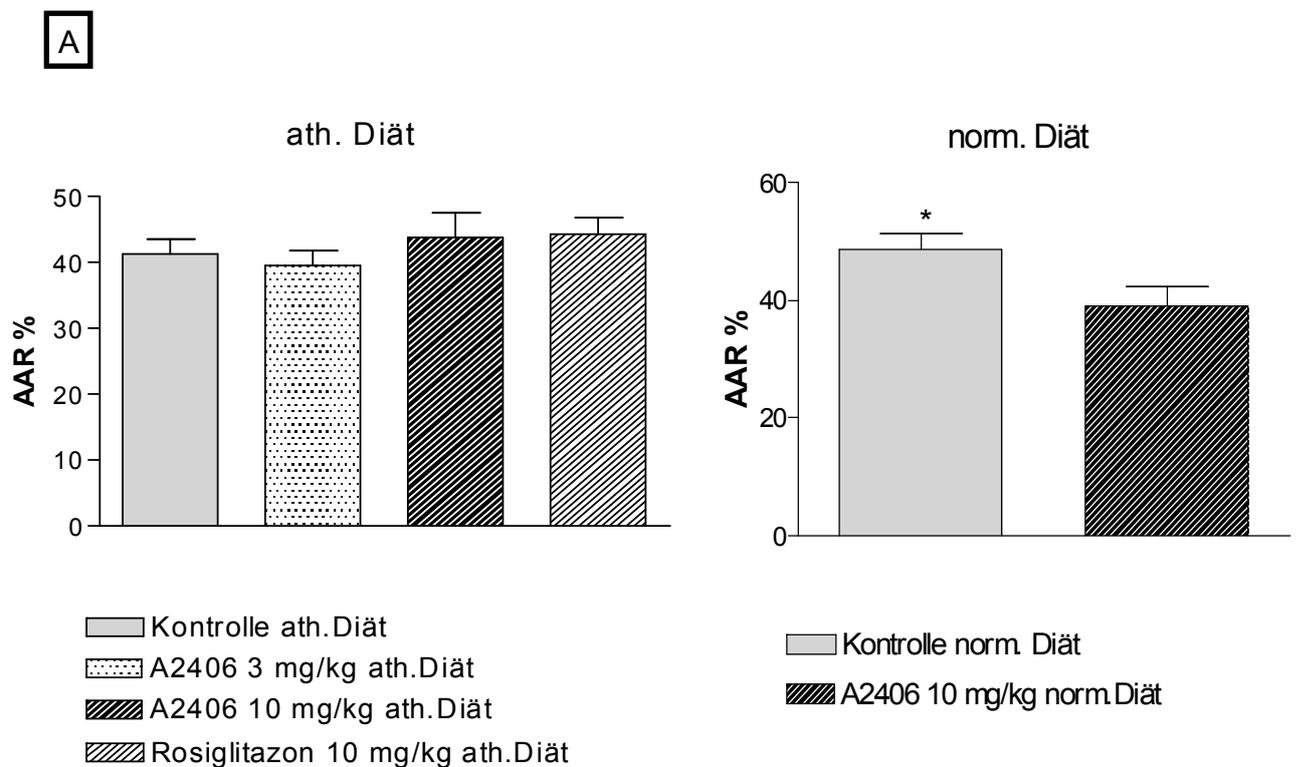


Abb. 10: Area at risk (AAR) in Prozent des linken Ventrikels **per os**. Links: atherogene Diät, rechts: normale Diät. *: $p < 0,05$ vs. A2406 10 mg/kg norm. Diät. Die Werte sind als MW \pm SEM dargestellt

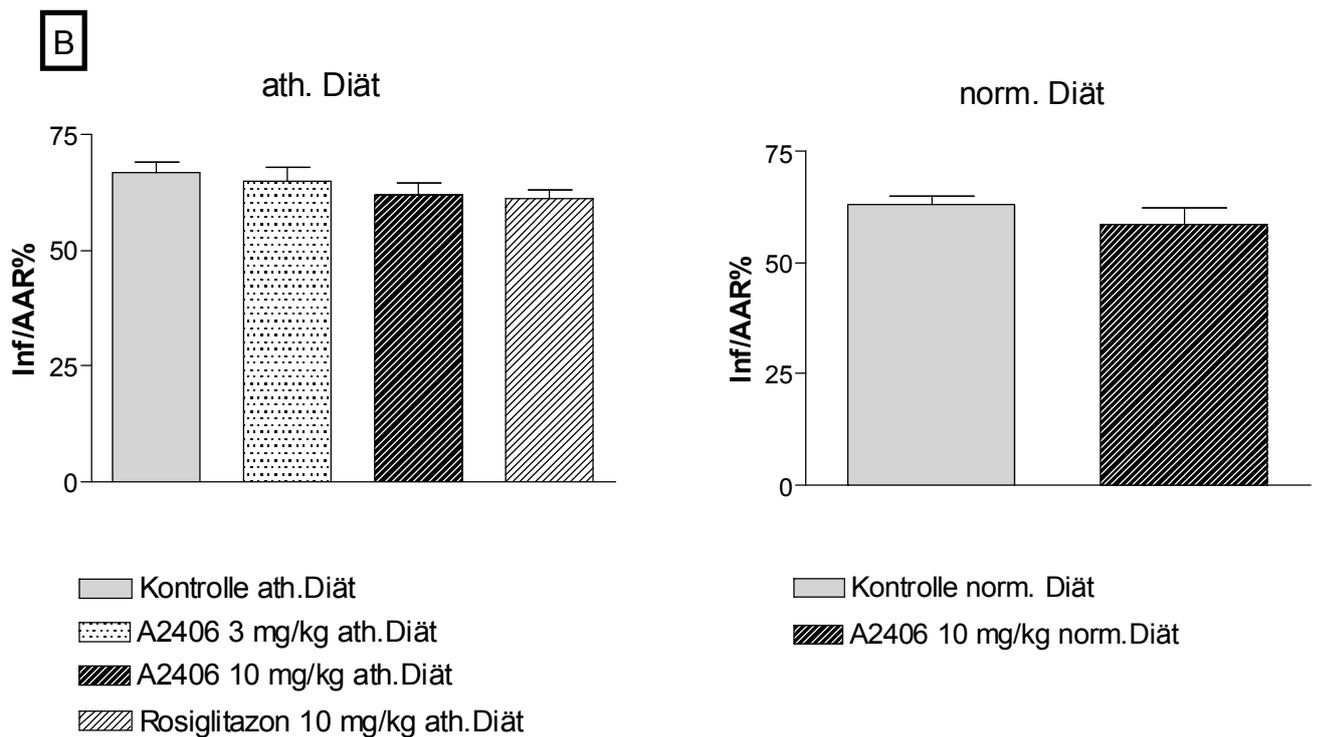


Abb. 11: Infarktgrösse/AAR in Prozent des linken Ventrikels **per os**. Links: atherogene Diät, rechts: normale Diät. A: AAR %, B: Inf/AAR % Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt.

4.1.3.2 Intravenöse Studie

Bei der planimetrischen Bestimmung der AAR und Infarktgrösse/AAR ergaben sich bei der AAR keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (Kontrolle mit einer AAR von 38,4 % ± 1,6 (n = 18), A2406 3 mg/kg KGW behandelten Gruppe und einer AAR von 41,3 % ± 2,4 (n = 9), Rosiglitazon 10 mg/kg KGW mit einer AAR von 39,8 % ± 2,1 (n = 11)) (Abb. 12 A). Die Inf/AAR in der Kontrollgruppe betrug 61,0 % ± 2,3, A2406 i.v. 5 Minuten vor Reperfusion führte zu einer Reduktion der Inf/AAR, die jedoch nicht signifikant war (50,5 % ± 5,7). Die i.v. Behandlung mit Rosiglitazon dagegen zeigte sogar einen Trend zu größeren Infarkten gegenüber der Kontrollgruppe auf (65,1 % ± 2,7) (Abb. 12 B).

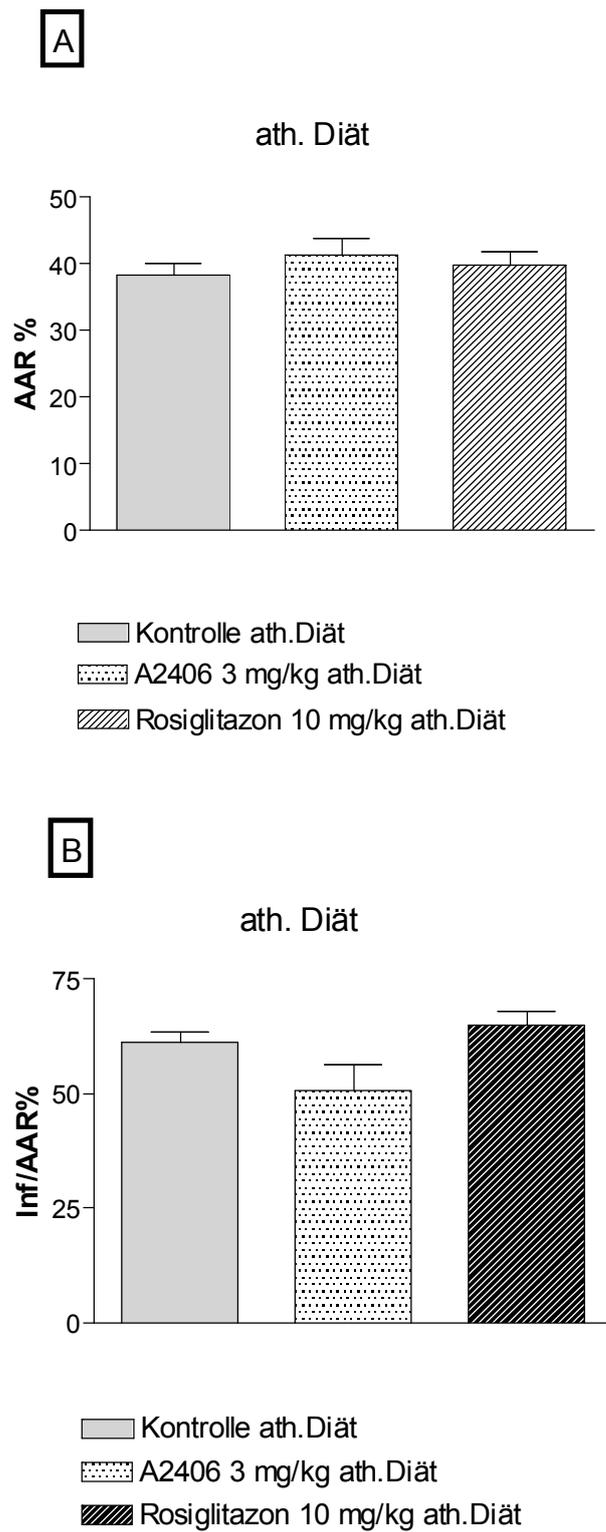


Abb. 12: Infarktgrösse/AAR in Prozent des linken Ventrikels **i.v.**.
A: AAR %, B: Inf/AAR % Die Werte sind als MW \pm SEM dargestellt.

4.1.4 Ergebnisse der Blutparameter

4.1.4.1 Ergebnisse der Bestimmung von Creatinkinase (CK)

Per os Studie

Das Verhältnis der CK-Plasmaspiegel nach 2 h Reperfusion zu dem jeweiligen Basalwert konnte durch die Behandlung per Gavage über 3 Tage vor OP mit beiden Substanzen nicht verringert werden.

	Kontrolle ath.Diät	Kontrolle A2406 3mg/kg norm.Diät	A2406 3mg/kg ath.Diät	A2406 10mg/kg ath.Diät	Rosiglitazon 10mg/kg ath.Diät
CK (U/L) Baseline	1149,7 ± 154	765,7 ± 76,2	1149,7 ± 172	1178,2 ± 153	935 ± 137
CK (U/L) 2h R	11714,8 ± 967	8382 ± 1053,7	12189 ± 716,2	12187,3 ± 692	10818,2 ± 847
CK (U/L) 2h R/Base	12,6 ± 1,5	11,3 ± 1,4	12,1 ± 1,3	12,2 ± 1,5	14,2 ± 2,5

Tab. 5: Creatinkinase (CK) nach 3 Tagen per os Behandlung mit A2406 3 mg/kg, A2406 10 mg/kg und Rosiglitazon 10 mg/kg; gemessen zu Baseline, 2 h Reperfusion und dem Verhältnis 2 h Reperfusion zum Basalwert (2 h R/Base). Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt

Intravenöse Studie

Der Anstieg der CK-Plasmakonzentrationen vom Basalwert bis zum Ende der 2-stündigen Reperfusion konnte weder durch die i.v. Gabe von A2406 noch von Rosiglitazon reduziert werden (Tab.6).

	Kontrolle ath.Diät	A2406 3mg/kg ath.Diät	Rosiglitazon 10mg/kg ath.Diät
CK (U/L) Baseline	746,4 ± 69,6	640,1 ± 83,3	1351,8 ± 460,8
CK (U/L) 2h R	10175,8 ± 933,3	10375,1 ± 1531,1	11588,7 ± 965,6
CK (U/L) 2h R/Base	14,5 ± 1,2	17,2 ± 2,8	17,6 ± 4,0

Tab. 6: Creatinkinase (CK) nach i.v. Verabreichung von A2406 und Rosiglitazon 5 Minuten vor Reperfusion, gemessen zu Baseline, 2 h Reperfusion (R) und dem Verhältnis 2 h Reperfusion zum Basalwert (2 h R/Base). Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt

4.1.4.2 Ergebnisse der Bestimmung von Lactatdehydrogenase (LDH)

Per os Studie

In der per os Studie zeigten die LDH-Plasmakonzentrationen einen vergleichbaren Anstieg der Werte entsprechend der Creatinkinase Konzentrationen. Es konnte hier ebenfalls keine Reduktion mit A2406 oder Rosiglitazon erzielt werden.

Intravenöse Studie

Ebenso wie die CK-Konzentrationen der i.v. Studie zeigten die LDH-Plasmakonzentrationen 2h R/Base keine Reduktion durch die Behandlung mit A2406 oder Rosiglitazon.

4.1.4.3 Ergebnisse der Bestimmung von Cholesterin, Triglyceriden und HDL-/LDL-Fraktionen

Per os Studie

Die Ergebnisse der Bestimmung von Gesamtcholesterin, Triglyceriden und der HDL-/LDL-Fraktionen aus Serum zeigten keine signifikanten Unterschiede in

Ergebnisse

den mit atherogener Diät gefütterten und A2406 und Rosiglitazon behandelten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe, sowie zwischen Basal- und 3 Tage Behandlungswerten. Die normal gefütterte und mit A2406 behandelte Kontrollgruppe wies signifikant verringerte Cholesterin-, HDL- und LDL-Werte gegenüber den restlichen atherogen gefütterten Tieren auf.

		Kontrolle ath.Diät	Kontrolle A2406 10mg/kg norm.Diät	A2406 3mg/kg ath.Diät	A2406 10mg/kg ath.Diät	Rosiglitazon 10mg/kg ath.Diät
CHOL	Basal	27,2 ± 3,6	0,8 ± 0,1 **	21,4 ± 3,4	24,3 ± 4,0	27,8 ± 3,3
	3 Tage	31,8 ± 3,9	1,6 ± 0,4 **	24,0 ± 3,3	24,6 ± 3,2	31,9 ± 3,8
TG	Basal	3,1 ± 1,0	1,0 ± 0,2	1,8 ± 0,8	3,1 ± 0,7	3,8 ± 1,4
	3 Tage	4,9 ± 1,3	1,3 ± 0,2	2,4 ± 0,7	4,8 ± 1,2	4,2 ± 1,5
HDL	Basal	2,4 ± 0,6	0,5 ± 0,1 **	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,1	2,9 ± 0,1
	3 Tage	2,7 ± 0,2	0,7 ± 0,1 *	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,3	>3,12 ± 0,1
LDL	Basal	21,7 ± 2,8	0,1 ± 0,0 *	17,3 ± 2,8	20,4 ± 3,5	22,7 ± 2,5
	3 Tage	23,5 ± 2,8	0,9 ± 0,4 **	19,5 ± 2,8	22,1 ± 2,8	25,8 ± 3,1

Tab. 7: Ergebnisse der Bestimmung von Cholesterin, Triglyceriden und HDL-/LDL-Fraktionen (High density lipoprotein-Fraktion und low density lipoprotein-Fraktion). **: p<0,001 vs. restliche Gruppen; *: p<0,05 vs. restliche Gruppen. Angaben in mmol/l; MW ± SEM

Intravenöse Studie

Auf Grund der nur kurzen Versuchsdauer bzw. Wirkdauer der Substanzen in der 3-stündigen Versuchszeit der intravenösen Studie waren keine Effekte auf die Blutfette zu erwarten, daher wurden in dieser Studie keine Blutfettwerte ermittelt.

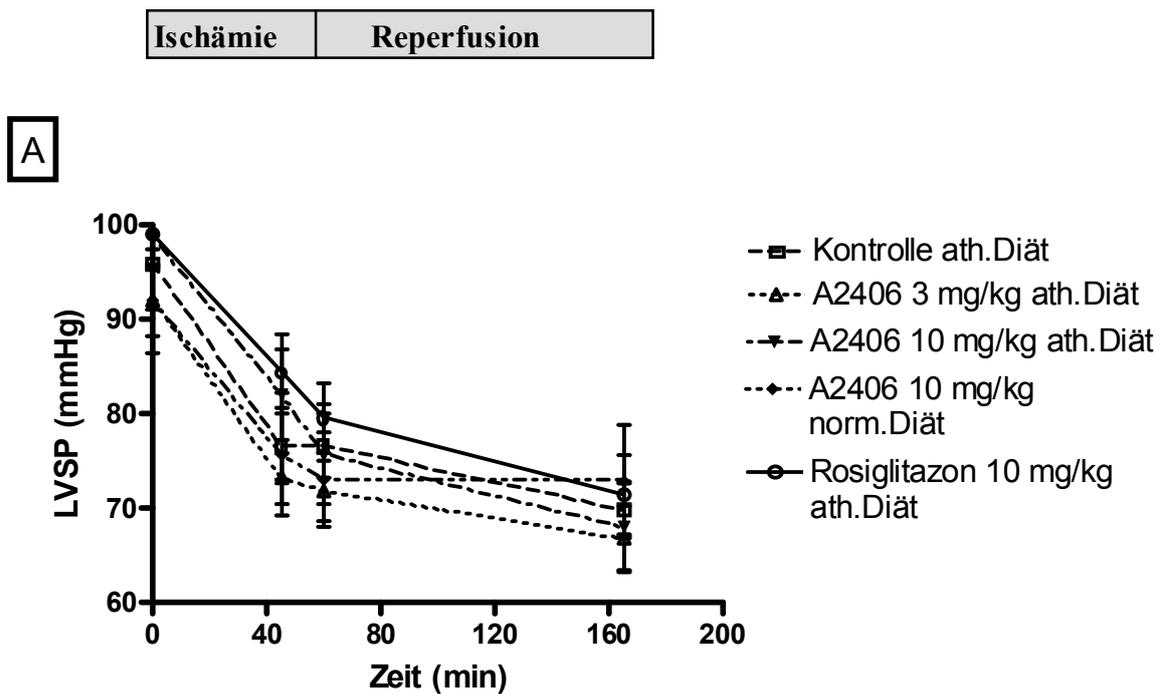
4.1.5 Ergebnisse der Hämodynamik

Der zeitliche Verlauf der hämodynamischen Parameter während des I/R-Versuchs wurde anhand der Basal-, 45 min. Ischämie-, 15 min. Reperfusion- und

2 h Reperfusion-Aufnahmen dargestellt. Gemessen wurden der Linksventrikuläre systolische Druck (LVSP), Linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVedP), als Kontraktilitätsparameter die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) und als Relaxationsparameter die maximale Druckabstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{min}), sowie die Herzfrequenz (HR).

Per os Studie

Im zeitlichen hämodynamischen Verlauf konnten nach dreitägiger vorangegangener per os Behandlung mit A2406 und Rosiglitazon im I/R-Geschehen keine Veränderungen zwischen den Kontrolltieren und behandelten Tieren beobachtet werden. Die Verläufe von LVSP (siehe Abb.11) (A), dp/dt_{max} (B), HR (C) werden hierfür als Auszug der Daten gezeigt.



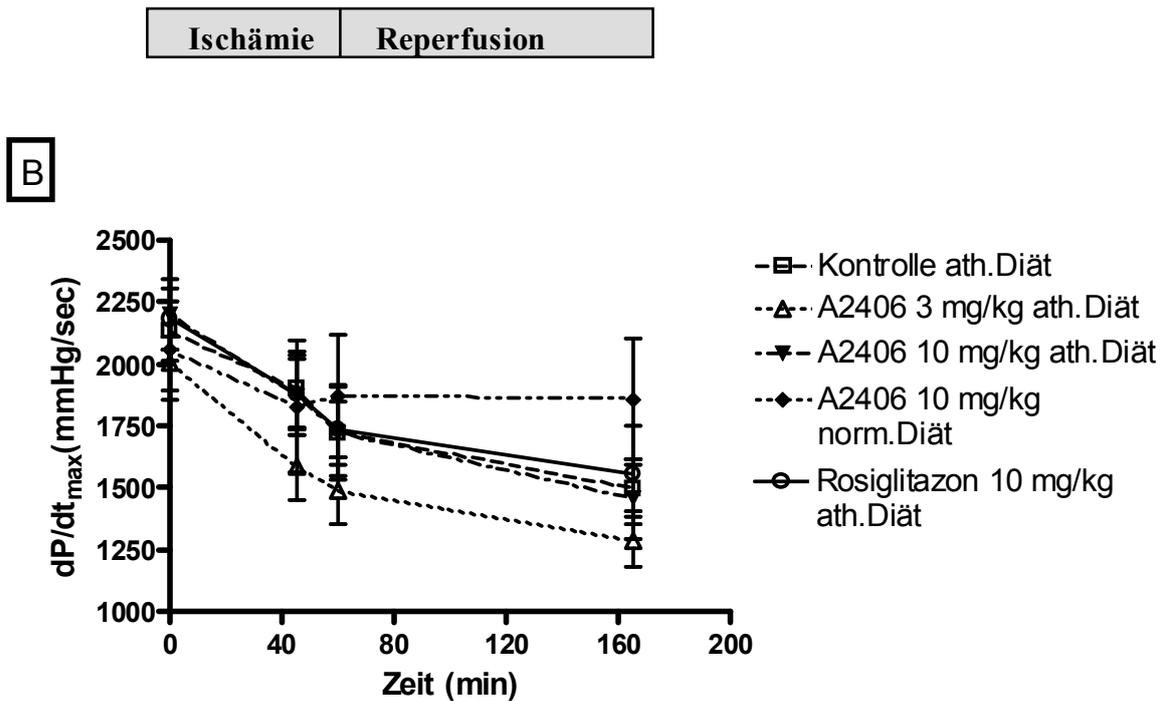


Abb. 13: Zeitlicher Verlauf des linksventrikulären systolischen Druck (LVSP) (A), der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) (B) und der Herzfrequenz (HR) (C) während des I/R Versuch zu den Zeiten: Basal (0 min.), 45 Min. Ischämie (45 min.), 15 Minuten Reperfusion (60 min.) und 2 Stunden Reperfusion (165 min.)

Intravenöse Studie

Im zeitlichen hämodynamischen Verlauf nach intravenöser Verabreichung von A2406 und Rosiglitazon 5 Minuten vor Reperfusion und anschließender 2 stündiger Reperfusion konnten keine Veränderungen zwischen der Kontrollgruppe und den behandelten Gruppen vermerkt werden. Vergleichbar mit der per os Studie lassen sich die Ergebnis-Diagramme bei allen Gruppen in ähnliche Ergebnisbereiche eingliedern.

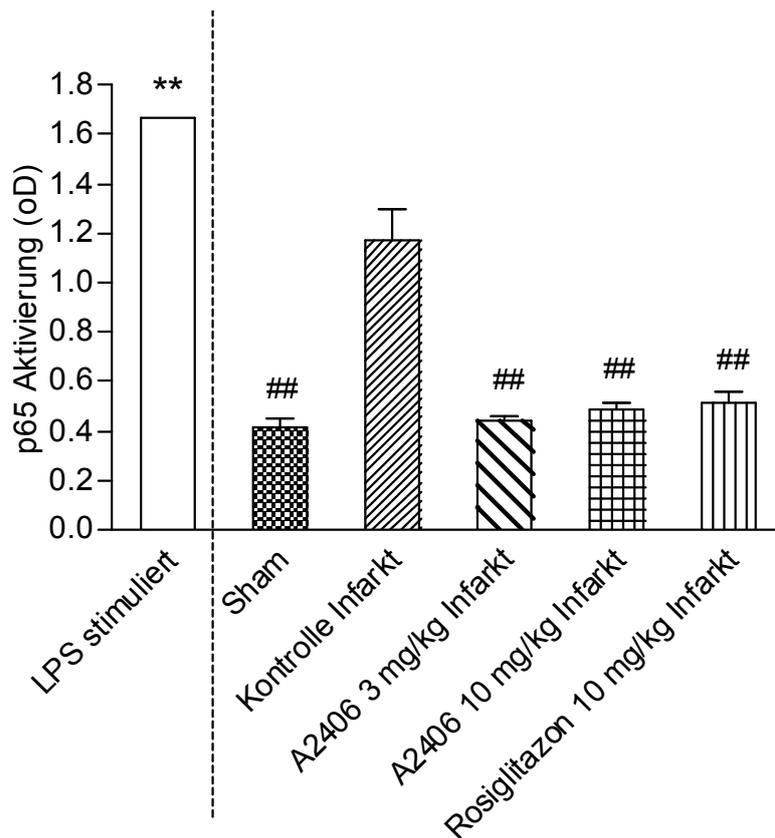
4.1.6 Ergebnisse der NF- κ B Aktivierung

Electromobility Shift Assay (EMSA)-Untersuchungen bezüglich der Aktivierung der p65 Untereinheit von NF- κ B im Myokard, gemessen als Intensität der optischen Dichte (oD) bei 450 nm Licht im Photometer, sind in den Abb.14 und Abb.15 dargestellt. Vergleichend zu den Ergebnissen des infarzierten Myokards

der behandelten Gruppen mit A2406 und Rosiglitazon wurde Myokard von LPS-stimulierten Tieren, nicht infarziertes Myokard unbehandelter Tiere und infarziertes Myokard von unbehandelten Kontrolltieren untersucht.

Per os Studie

Im Myokard ohne Infarkt und ohne Behandlung (Sham) lag die Basalaktivität der p65 Untereinheit von NF- κ B bei $0,414 \pm 0,037$ oD. Nach einer 4-stündigen Behandlung mit LipoPolySacchariden (LPS) konnte eine hochsignifikante Hochregulation der p65 Untereinheit gemessen werden ($1,67 \pm 0,01$ oD). In der unbehandelten Infarkt-Kontrollgruppe ($1,169 \pm 0,129$ oD) konnte ebenfalls eine hochsignifikante Erhöhung der p65 Untereinheit gezeigt werden. Die Behandlung mit A2406 3 mg/kg ($0,4425 \pm 0,0175$ oD), A2406 10 mg/kg ($0,485 \pm 0,033$ oD) und Rosiglitazon 10 mg/kg ($0,5165 \pm 0,0445$ oD) (3 Tage) per os führte hingegen zu einer vollständigen Hemmung der NF- κ B Aktivierung. In Abb.14 ist dies graphisch dargestellt.

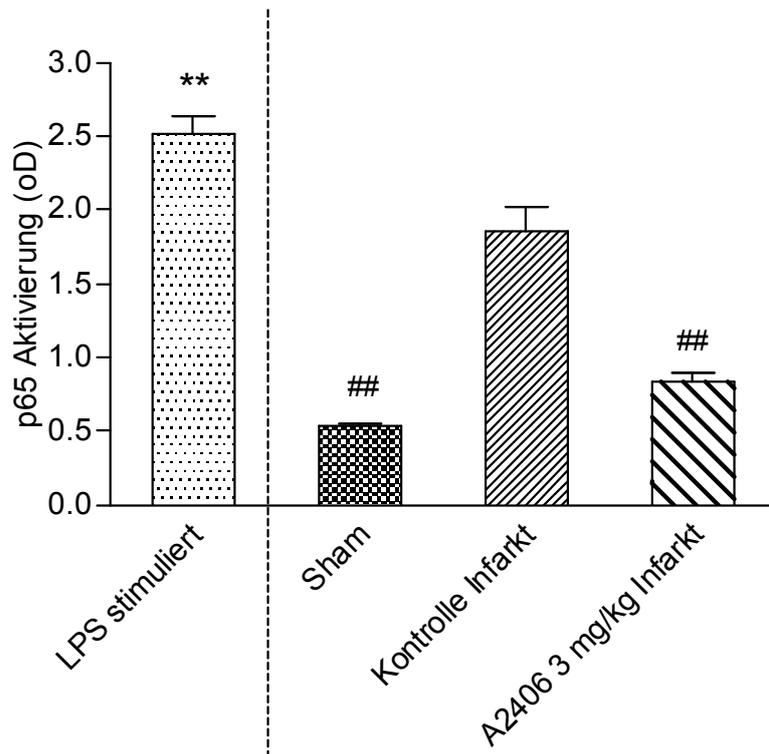


n = 6-8 in allen Gruppen

Abb. 14: Aktivierung der p65 Untereinheit von NF- κ B in der I/R per os Studie. LPS Stimulation als Vergleich. Angaben in MW \pm SEM. **: p<0,001 vs. Sham, A2406 3 mg/kg, A2406 10 mg/kg und Rosiglitazon 10 mg/kg; ##: p<0,001 vs. Kontrolle Infarkt

Intravenöse Studie

Das Myokard ohne Infarkt und ohne Behandlung wies eine Basalaktivität der p65 Untereinheit von NF- κ B von $0,53 \pm 0,02$ oD auf. Im Myokard von LPS-stimulierten Tieren zeigte sich eine hochsignifikante Aktivitätserhöhung von p65 auf $2,5195 \pm 0,11$ oD. Vergleichsweise hohe Werte waren im infarzierten, nicht behandelten Myokard ($1,857 \pm 0,158$ oD) zu vermerken. Unter der Behandlung mit A2406 3 mg/kg i.v. konnte diese hochsignifikante Erhöhung auf $0,8335 \pm 0,056$ oD reduziert werden (Abb.15).



n = 6-8 in allen Gruppen

Abb.15: Aktivierung der p65 Untereinheit von NF- κ B in der I/R intravenösen Studie. LPS Stimulation als Vergleich. Angaben in MW \pm SEM; **: p<0,001 vs. Sham und A2406 3 mg/kg; ##: p<0,001 vs. Kontrolle Infarkt

4.2 Herzinsuffizienzstudie

4.2.1 Mortalitätsrate und Gruppengröße

Für die *Herzinsuffizienzstudie* wurden insgesamt 77 Tiere operiert, wovon 85,7 % überlebten und schließlich zur Abschlussuntersuchung herangezogen werden konnten. Die Haupttodesursache der 11 Tiere lag in nicht zu terminierendem Kammerflimmern während der Infarkt-OP, plötzlichem Tod binnen 24 Std. post OP, möglicherweise ebenso bedingt durch Kammerflimmern oder akuter Herzinsuffizienz. Je Gruppe lag schließlich folgende Tierzahl vor:

- *Sham Kontrolle, n = 8*
- *MI Kontrolle, n = 11*
- *Sham A2406 10 mg/kg Behandlungsbeginn 1 Wo. post OP, n = 8*
- *MI A2406 10 mg/kg Behandlungsbeginn 1 Wo. post OP, n = 10*

- *MI A2406 10 mg/kg Behandlungsbeginn 2 Std. prä OP, n = 11*
- *Sham Rosiglitazon 10 mg/kg Behandlungsbeginn 1 Wo. post OP, n = 8*
- *MI Rosiglitazon 10 mg/kg Behandlungsbeginn 1 Wo. post OP, n = 10*

4.2.2 Ergebnisse der Echokardiographie

Die Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchungen des Herzens zu den Zeitpunkten vor OP, 4 Wochen post OP und 8 Wochen post OP wurden in die Studiaauswertung einbezogen.

Zu den echokardiographisch ermittelten morphologischen Parametern zählen der linksventrikuläre Diameter enddiastolisch und -systolisch (LVDed, -es), Dicke des interventrikulären Septums enddiastolisch und -systolisch (IVSed, -es) und Dicke der posterioren Wand enddiastolisch und -systolisch (PWDed, -es).

Die Basalwerte aller Gruppen für LVDed lagen im Mittel zwischen $1,51 \pm 0,02$ cm – $1,6 \pm 0,01$ cm für LVDdes zwischen $1,24 \pm 0,02$ cm – $1,32 \pm 0,02$ cm.

Die Sham-operierten unbehandelten sowie behandelten Tiere zeigten konstante linksventrikuläre morphologische Parameter innerhalb des Studienzeitraums von 8 Wochen. Der LVDed lag bei diesen Gruppen nach 8 Wochen im Mittelwert bei $1,54 \pm 0,02$ cm, der für LVDdes bei $1,17 \pm 0,05$ cm (Abb.16 A-B).

Bereits vier Wochen post OP waren Erhöhungen sowohl des LVDed als auch des LVDdes in den MI-Gruppen zu vermerken. Die MI-Kontrollgruppe wies eine Erhöhung des LVDed von $1,78 \pm 0,09$ cm und des LVDdes von $1,39 \pm 0,05$ cm auf. Die Behandlung mit A2406 und Rosiglitazon konnte diese 4 Wochen-Ergebnisse in den infarzierten Tieren nicht positiv beeinflussen: sowohl die mit A2406 2 h prä OP behandelten Tiere hatten eine LVDed Erhöhung von $1,90 \pm 0,03$ cm und LVDdes von $1,50 \pm 0,04$ cm, als auch die mit A2406 1 Woche nach OP behandelten Gruppen zeigten eine LVDed Erhöhung von $1,74 \pm 0,06$ cm und LVDdes von $1,42 \pm 0,05$ cm (Abb.16 A-B).

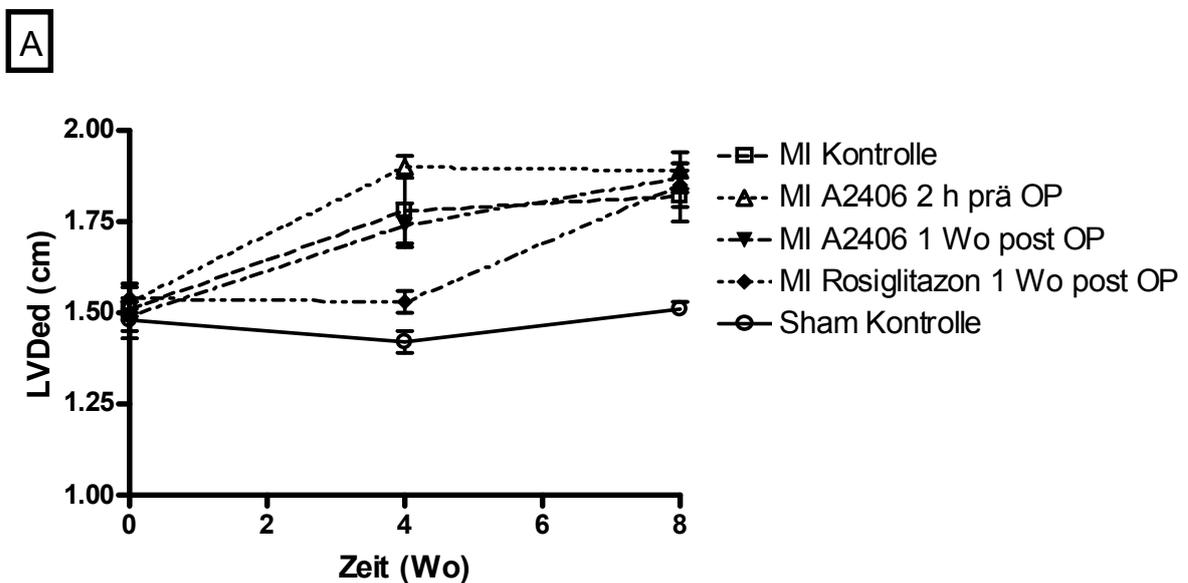
Die 4 Wochen-Werte der mit Rosiglitazon 1 Woche nach OP behandelten Gruppen wiesen dagegen noch keine Veränderungen zu den Basalwerten auf (LVDed $1,53 \pm 0,03$ cm und LVDdes $1,26 \pm 0,08$ cm).

In der achten Woche post OP setzte sich die Vergößerung des LVDed und LVDdes der MI-Gruppen fort. Der LVDed stieg auf $1,82 \pm 0,07$ cm und der LVDdes auf

1,45 ± 0,07 cm. Die Tiere der mit A2406 2 h prä OP behandelten Gruppen zeigten unverändert große LVDed Werte von 1,90 ± 0,05 cm und LVDes von 1,50 ± 0,05 cm, ebenso wie die nach einer Woche mit A2406 behandelten MI-Gruppen mit Werten des LVDed von 1,87 ± 0,04 cm und LVDes von 1,51 ± 0,04 cm. Die mit Rosiglitazon behandelten MI-Gruppen konnten ihre zunächst konstanten Parameter nach 8 Wochen nicht aufrechterhalten, sie zeigten eine Erhöhung von LVDed auf 1,85 ± 0,06 cm und LVDes auf 1,41 ± 0,06 cm.

In Abb. 16 ist jeweils der zeitliche Verlauf der Veränderungen des linksventrikulären Diameters enddiastolisch (A) bzw. endsystolisch (B) dargestellt. Übersichtshalber wurde nur eine Sham-Gruppe dargestellt.

In Abb. 28 des Anhang sind zwei Ultraschallbilder zu sehen, die vergleichsweise den LVDed eines scheinoperierten Tieres und eines Infarkt-Kontrolltieres acht Wochen post OP zeigen.



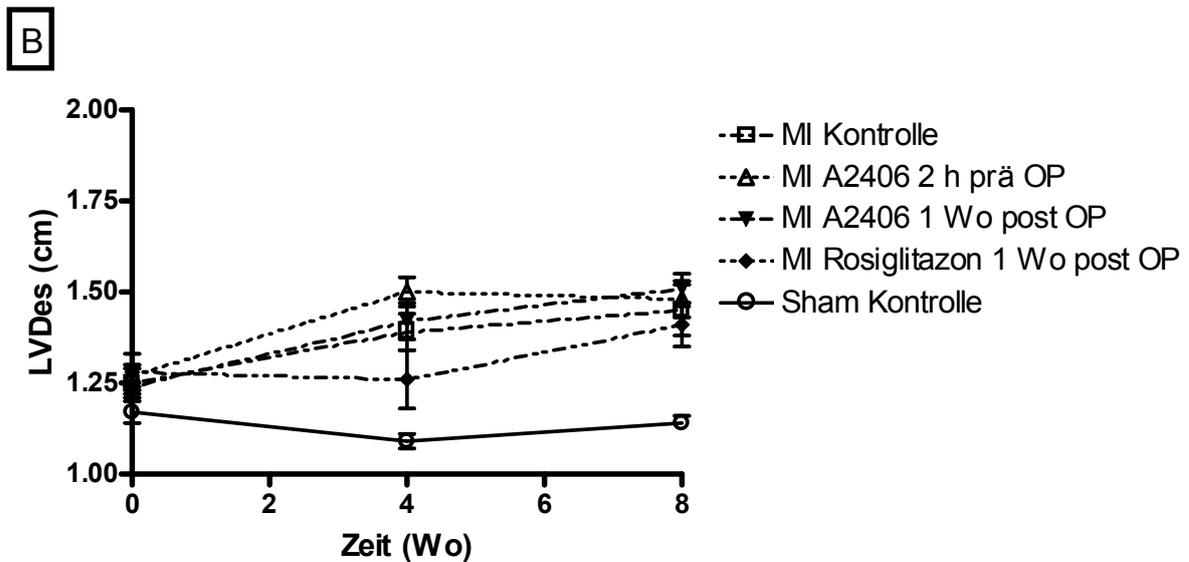


Abb. 16: Zeitlicher Verlauf des linksventrikulären enddiastolischen Diameters (LVDed) und des linksventrikulären endsystolischen Diameters (LVDes) nach 0 (vor OP), 4 und 8 Wochen post OP. Angaben in MW \pm SEM

4.2.3 Bestimmung der Blutparameter

4.2.3.1 Ergebnisse der Bestimmung von Creatinkinase (CK)

Die Ergebnisse der CK-Untersuchungen aus Plasma, gemessen als Basalwert vor OP sowie nach 4- und 8-wöchiger Behandlung post OP mit A2406 und Rosiglitazon zeigten deutliche Steigerungen der Creatinkinase-Spiegel in den behandelten Gruppen (Tab.9).

CK (U/L)	Kontrolle Sham	Kontrolle MI	A2406 Sham	A2406 MI 2h prä OP	A2406 MI 1 Wo.post OP	Rosiglitazon Sham	Rosiglitazon MI
Basal	1398,01 ± 258,81	882,45 ± 171,64	741,86 ± 130,27	821,75 ± 97,49	1001,69 ± 362,38	1866,38 ± 531,64	988,42 ± 264,62
4 Wo.	767,25 ± 138,98	585,82 ± 83,54	1020,63 ± 153,51	506,64 ± 101,11	815,93 ± 113,56	549,88 ± 95,45	389,72 ± 38,59
8 Wo.	801,75 ± 140,76	621,91 ± 85,73	1651,13 ± 319,59	1843,12 ± 483,31	1842,45 ± 534,36	1679,10 ± 923,32	1100,43 ± 333,68

Tab. 9: Creatinkinase (CK) Basal, 4 und 8 Wochen nach OP und Behandlung.
Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt

4.2.3.2 Ergebnisse der Bestimmung von Cholesterin, Triglyceriden und HDL-/LDL-Fraktionen

Alle Tiere der Studie wurden bereits vor OP über 4 Wochen auf atherogene Diät gesetzt, anschließend wurden aus Serum die Blutfettwerte bestimmt und diese als Basalwert gesetzt. Vier und acht Wochen nach OP und Behandlung bzw. ohne Behandlung bei Kontrolltieren wurden weitere Plasmaproben gewonnen.

In allen Gruppen zeigte sich ein Anstieg der Blutfette innerhalb des Versuchszeitraumes. Signifikant hohe Werte konnten in den mit A2406 und Rosiglitazon behandelten Gruppen nach 4 und 8 Wochen beobachtet werden. In Abb. 17 sind die LDL-Ergebnisse (A) und Triglycerid-Ergebnisse (B) der Sham-Gruppen, in Abb. 18 die LDL-Ergebnisse (A) und Triglycerid-Ergebnisse (B) der MI-Tiere dargestellt.

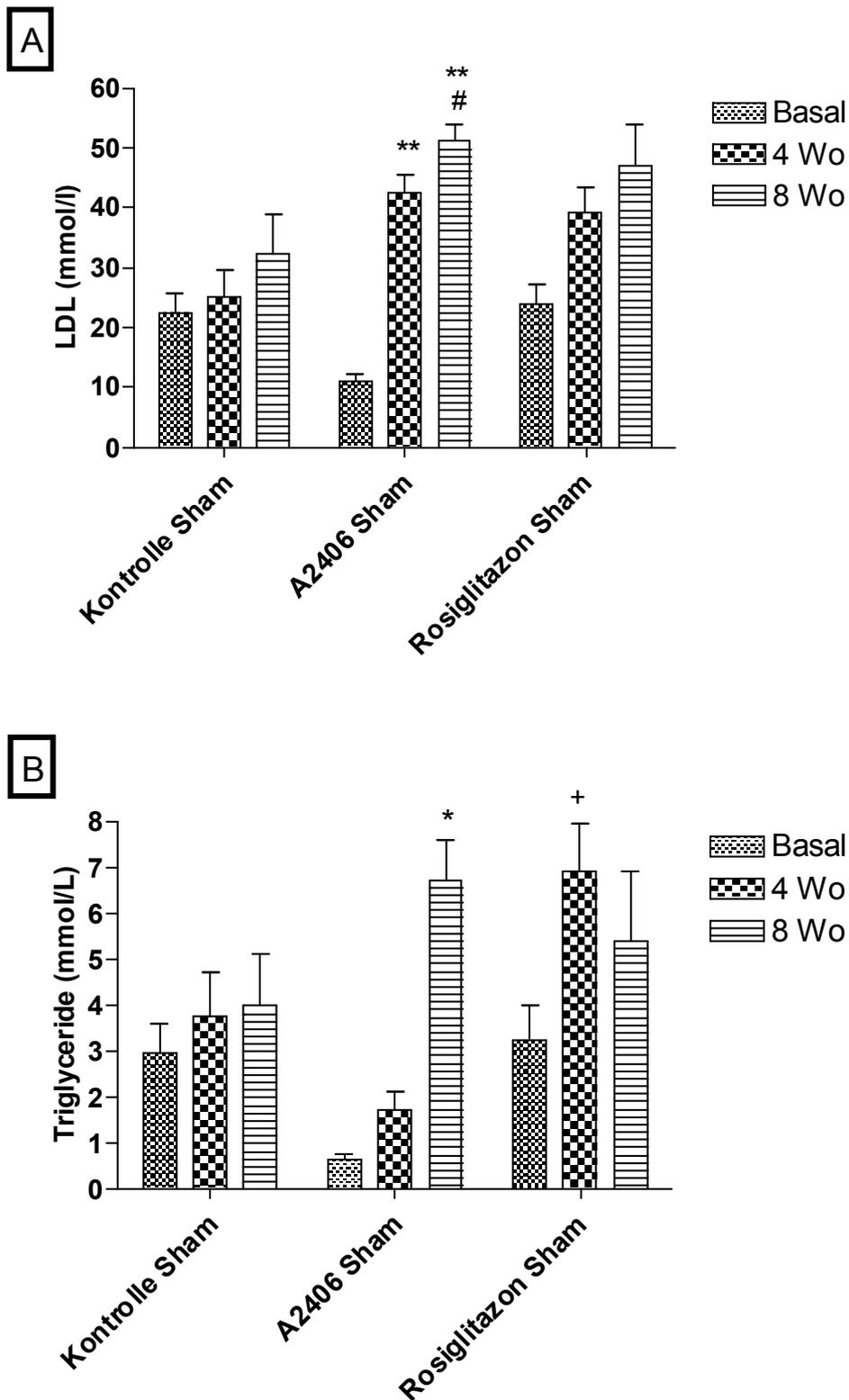


Abb. 17: LDL-Fraktion (A) und Triglyceride (B) der scheinoperierten, atherogen gefütterten Tiere als Basalwerte, 4 Wochen nach OP und 8 Wochen nach OP, mit insgesamt 12 Wochen atherogener Fütterung. Angaben in mmol/l; (A) **: $p < 0,001$ vs. A2406 Basal; #: $p < 0,05$ vs. Kontrolle 8 Wo. (B) *: $p < 0,05$ vs A2406 Basal und A2406 4 Wo.; +: $p < 0,05$ vs. A2406 4 Wo.

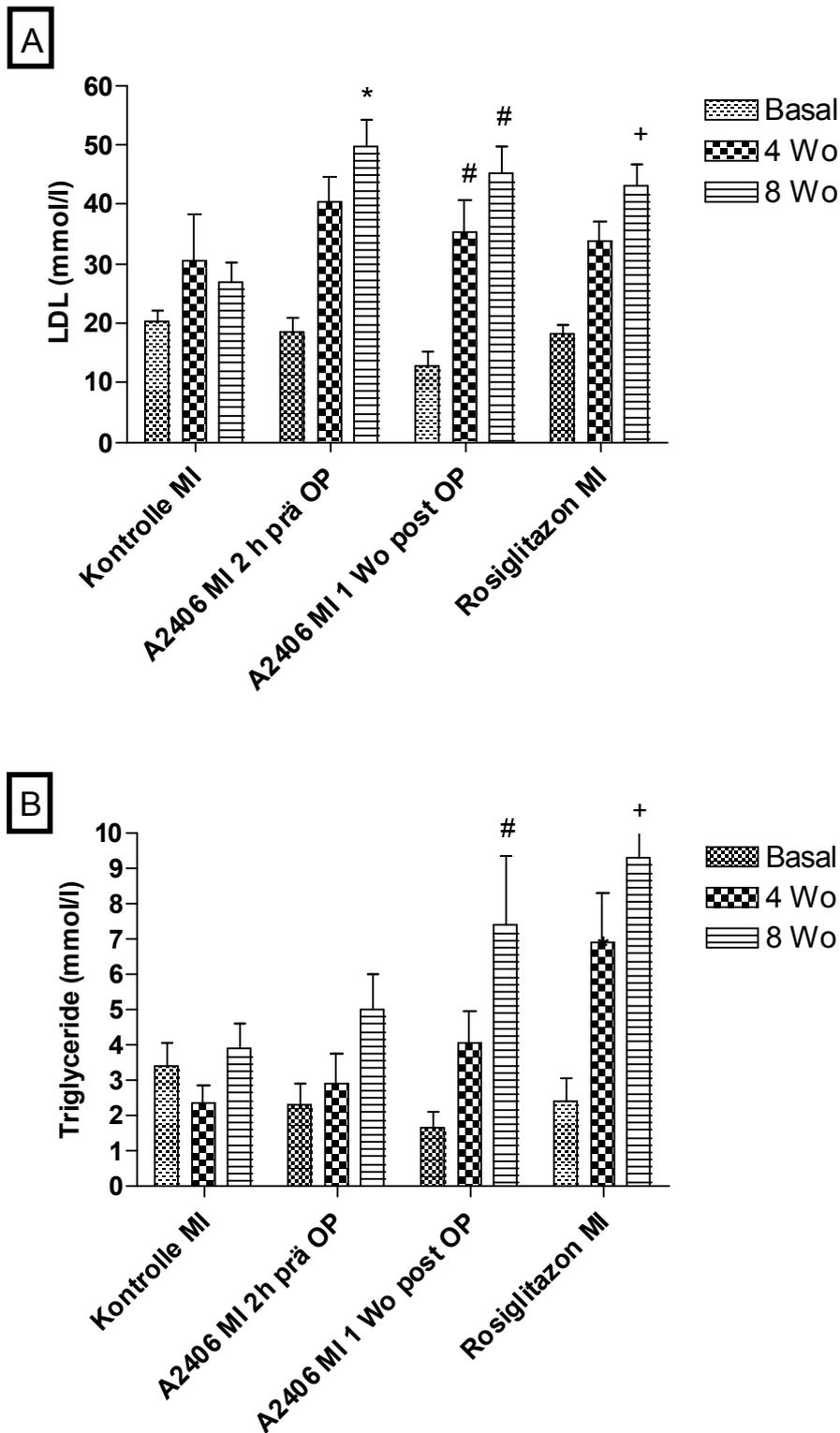


Abb. 18: LDL-Fraktion (A) und Triglyceride (B) der myokardinfarzierten, atherogen gefütterten Tiere als Basalwerte, 4 Wochen nach OP und 8 Wochen nach OP, mit insgesamt 12 Wochen atherogener Fütterung. Angaben in mmol/l; (A) *: $p < 0,05$ vs. A2406 2 h Basal und Kontrolle 8 Wo.; #: $p < 0,05$ vs. AVE 8134 1 Wo.Basal; +: $p < 0,05$ vs. Rosiglitazon Basal (B) #: $p < 0,05$ vs. A2406 Basal; +: $p < 0,05$ vs. Rosiglitazon Basal und Kontrolle 8 Wo.

4.2.3.3 Ergebnisse der Bestimmung von Aldosteron

Die mittleren Werte der Aldosteron-Plasmakonzentration konnten im Zeitverlauf von 8 Wochen in den Sham-operierten, unbehandelten sowie in den mit A2406 und Rosiglitazon behandelten Gruppen signifikant im Vergleich zu den Basalwerten reduziert werden. In der Gruppe der Kontroll-MI Tiere zeigte sich eine konstante bzw. leichte Erhöhung der Aldosteronkonzentration (Abb. 19).

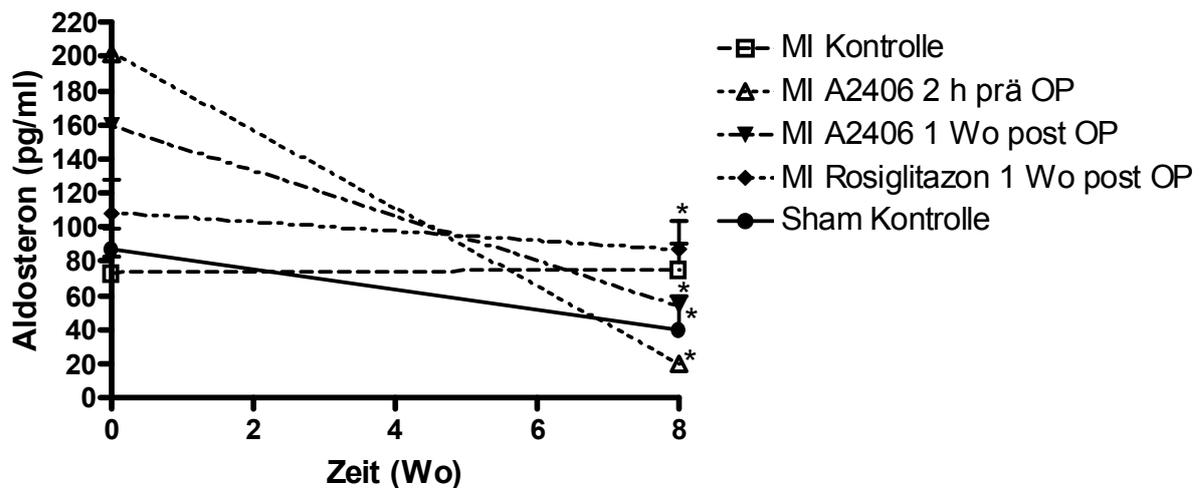


Abb. 19: Zeitlicher Verlauf der Aldosteron-Plasmaspiegel Basal und 8 Wochen post OP. Die Angaben sind in MW \pm SEM; *: $p < 0,05$ vs. Basal

4.2.3.4 Ergebnisse der Bestimmung von proANP

Die durchschnittlichen Werte der proANP-Plasmaspiegel erhöhten sich in allen Gruppen über den Zeitraum von 8 Wochen nach OP. Die Gruppe der MI-Kontrolltiere zeigte hierbei die stärkste Steigerung, wobei die Erhöhung bei der mit A2406 behandelten Tiere mit der bei der Sham-Kontrollgruppe gemessenen vergleichbar war und die mit Rosiglitazon behandelten Tiere auf annähernd konstantem Basalniveau blieben. Rosiglitazon gegenüber A2406 1 Woche post OP behandelt wies signifikant höhere proANP-Konzentrationen während des gesamten Zeitverlaufs auf (Abb. 20).

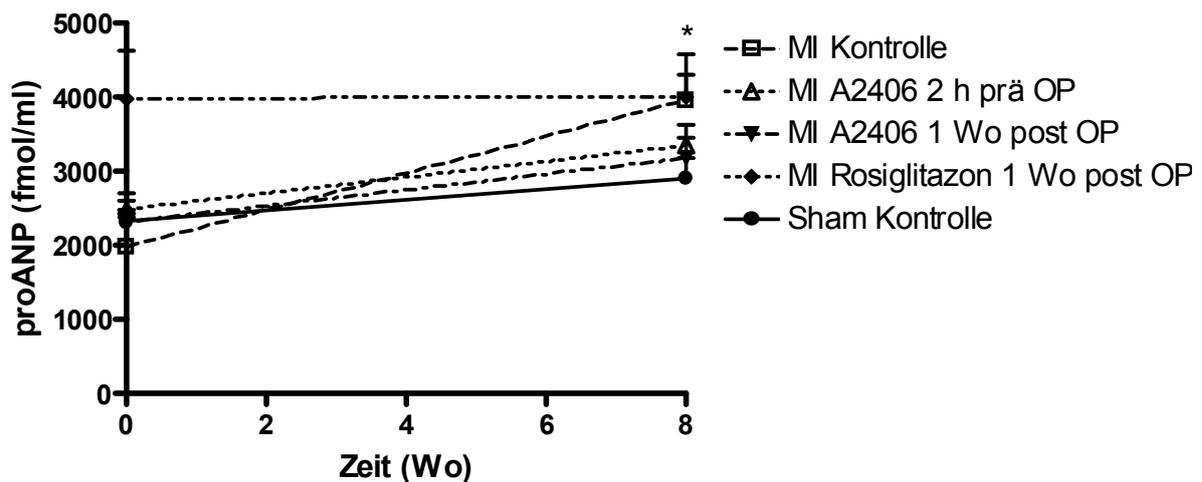


Abb. 20: Zeitlicher Verlauf der proANP-Plasmaspiegel Basal und 8 Wochen post OP. Die Angaben sind in MW \pm SEM; *: $p < 0,05$ vs. A2406 1 Wo post OP über den gesamten Zeitverlauf

4.2.4 Ergebnisse der Hämodynamik

Die hämodynamischen Messungen erfolgten 8 Wochen post OP.

4.2.4.1 Ergebnisse des linksventrikulären systolischen Druck (LVSP)

Bei der initialen Messung des linksventrikulären systolischen Druck ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll-MI Gruppe mit einem Basalwert von $56,9 \pm 4,12$ mmHg und der Sham-Kontroll-Gruppe mit einem Basalwert von $91,1 \pm 11,18$ mmHg. Diese Absenkung konnte durch die Gabe von A2406 1 Woche post OP ($90,4 \pm 7,14$ mmHg), signifikant verbessert werden. Die Behandlung mit A2406 2 Stunden prä OP ($83,6 \pm 5,97$ mmHg) zeigte ebenfalls eine Verbesserung des LVSP, jedoch nicht signifikant. Die Behandlung mit Rosiglitazon 1 Woche post OP ($70,3 \pm 6,48$ mmHg) konnte eine tendenzielle, aber nicht signifikante Verbesserung des LVSP aufweisen (Abb. 21).

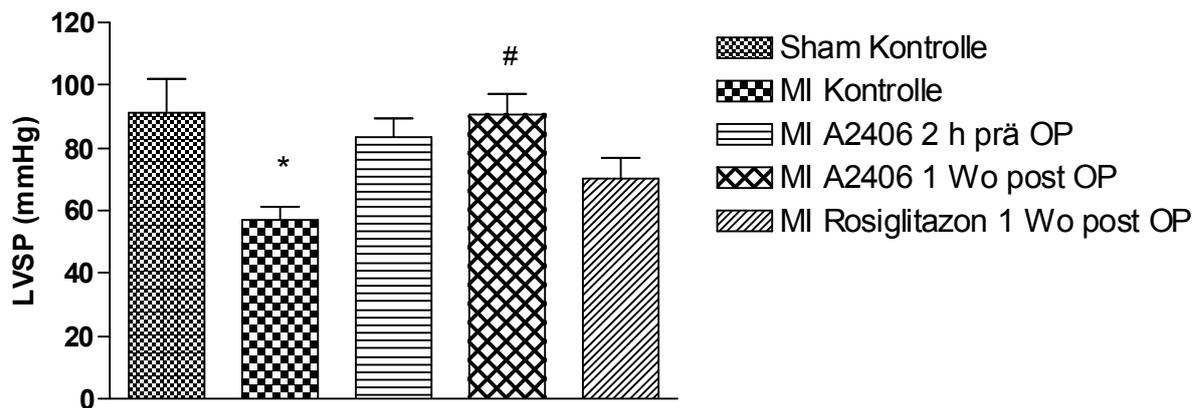


Abb. 21: Linksventrikulärer systolischer Druck (LVSP) der Gruppen Sham Kontrolle, MI Kontrolle, MI A2406 2 h prä OP, MI A2406 1 Wo. post OP und MI Rosiglitazon 1 Wo. post OP 8 Wochen post OP. Die Angaben sind in MW \pm SEM; *: $p < 0,05$ vs. Sham Kontrolle; #: $p < 0,05$ vs. MI Kontrolle

4.2.4.2 Ergebnisse der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit

(dP/dt_{max}) und der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit

(dP/dt_{min})

Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit dP/dt_{max} als Kontraktilitätsparameter und die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit dP/dt_{min} als Relaxationsparameter verschlechterten sich beide in der MI-Kontroll-Gruppe (dP/dt_{max} $1036,4 \pm 112,59$ mmHg/sec; dP/dt_{min} $-793,9 \pm 99,79$ mmHg/sec) signifikant gegenüber der Sham-Kontroll-Gruppe (dP/dt_{max} $1936,5 \pm 276,57$ mmHg/sec; dP/dt_{min} $-1687,7 \pm 269,61$ mmHg/sec).

Die Werte von dP/dt_{max} konnten signifikant durch die Behandlung mit A2406 2 Stunden prä OP (dP/dt_{max} $1944,8 \pm 164,45$ mmHg/sec; dP/dt_{min} $-1460 \pm 165,76$ mmHg/sec) gegenüber der MI-Kontroll-Gruppe und im dP/dt_{min} durch die Behandlung mit A2406 1 Woche post OP (dP/dt_{max} $1811,5 \pm 188,88$ mmHg/sec; dP/dt_{min} $-1543,5 \pm 161,63$ mmHg/sec) verbessert werden. Ebenfalls konnte ein Trend der Verbesserung bei beiden Parametern durch die Rosiglitazon-Behandlung 1 Woche post OP (dP/dt_{max} $1476,4 \pm 176,71$ mmHg/sec; dP/dt_{min} $-1244,1 \pm 159,7$ mmHg/sec) beobachtet werden. Abb. 22 und 23 zeigen als Balkendiagramm den Verlauf des dP/dt_{max} und dP/dt_{min} 8 Wochen nach OP. Als

Ergebnisse

Vergleich wurde nur die Kontroll-Sham-Gruppe dargestellt, die stellvertretend auch für die behandelten Sham-Gruppen steht. Die Behandlung in den Sham-Gruppen zeigten keine Effekte.

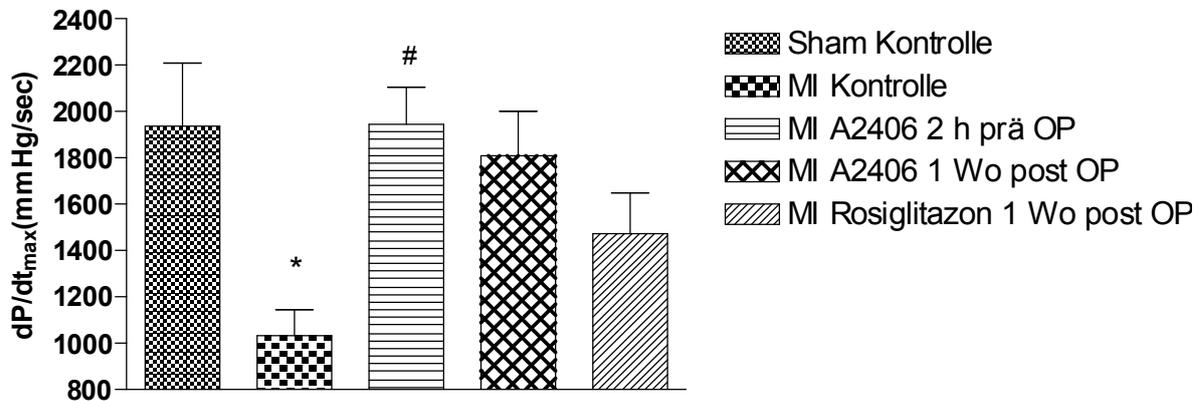


Abb. 22: Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) der Gruppen Sham Kontrolle, MI Kontrolle, MI A2406 2 h prä OP, MI A2406 1 Wo post OP und MI Rosiglitazon 1 Wo post OP, 8 Wochen post OP. Angaben sind in MW \pm SEM; *: $p < 0,05$ vs. Sham Kontrolle; #: $p < 0,05$ vs. MI Kontrolle

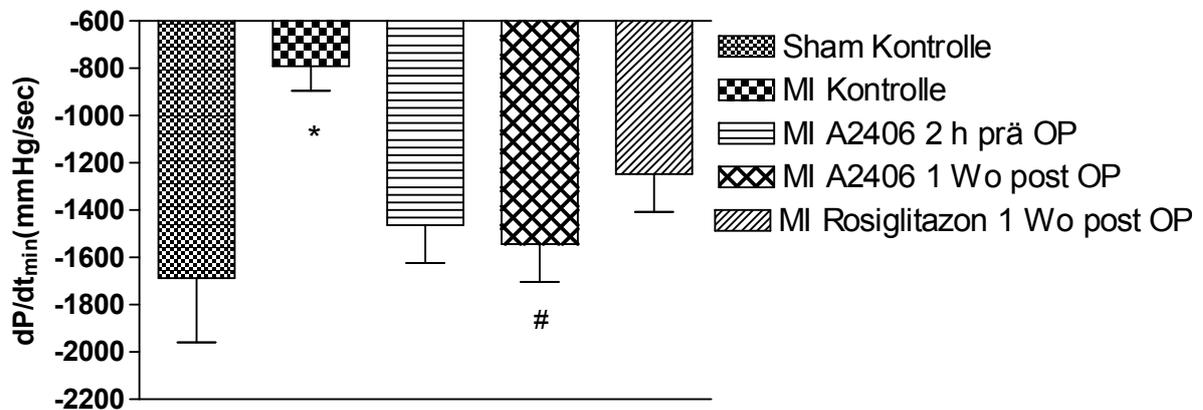


Abb. 23: Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{min}) der Gruppen Sham Kontrolle, MI Kontrolle, MI A2406 2 h prä OP, MI A2406 1 Wo post OP und MI Rosiglitazon 1 Wo post OP, 8 Wochen post OP. Angaben sind in MW \pm SEM; *: $p < 0,05$ vs. Sham Kontrolle; #: $p < 0,05$ vs. MI Kontrolle

4.2.4.3 Ergebnisse der Herzfrequenz (HR)

Die Ergebnisse der Herzfrequenzmessung zeigten in den mit A2406 2 h prä OP und A2406 1 Wo. post OP behandelten Gruppen tendenziell verbesserte, jedoch nicht signifikante Werte gegenüber der MI Kontrollgruppe. Die mit Rosiglitazon behandelte Gruppe wies im Durchschnitt eine signifikant verschlechterte Herzfrequenz gegenüber der Sham-Kontrollgruppe auf. Als Vergleich wurde nur die Kontroll-Sham-Gruppe dargestellt, die stellvertretend auch für die behandelten Sham-Gruppen steht. Die Behandlung in den Sham-Gruppen zeigten keine Effekte (Abb.24).

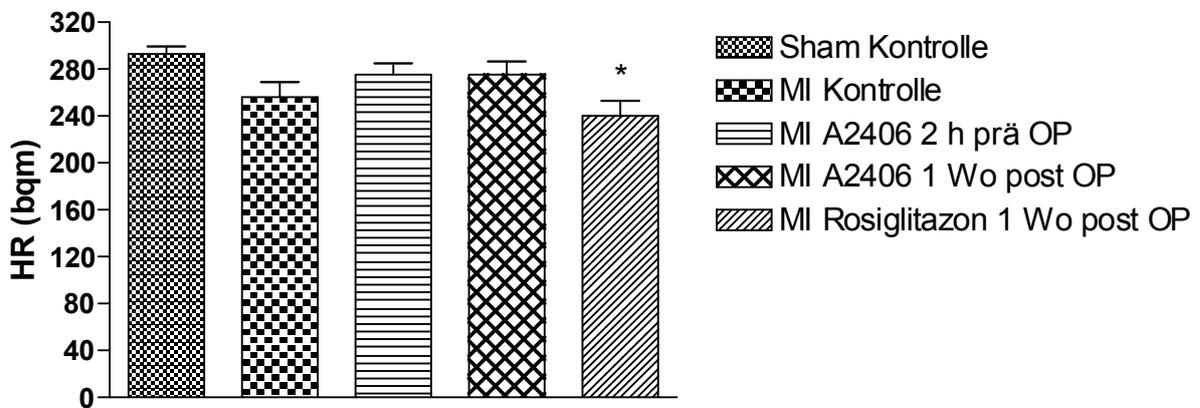


Abb. 24: Herzfrequenz (HR) 8 Wochen post OP. Angaben in MW \pm SEM. *: $p < 0,05$ vs. Sham Kontrolle

4.2.5 Körper-, Herz- und Ventrikelgewichte

Zu Studienbeginn betrug das mittlere Körpergewicht (KGW) der Kaninchen $2,99 \pm 0,04$ kg. Sowohl hier als auch in der vierten Woche bestanden keine signifikanten Unterschiede in den Körpergewichten zwischen den einzelnen Gruppen. Bei der Abschluss-Untersuchung in der achten Woche lagen die KGW der scheinoperierten Gruppen Sham Kontrolle ($3,58 \pm 0,17$ kg), Sham A2406 ($3,4 \pm 0,04$ kg) und Sham Rosiglitazon ($3,5 \pm 0,09$ kg) etwas höher als die der MI Gruppen MI Kontrolle ($3,3 \pm 0,1$ kg), MI A2406 2 h prä OP ($3,34 \pm 0,06$ kg), MI A2406 1 Wo. post OP ($3,28 \pm 0,1$ kg) und MI Rosiglitazon ($3,23 \pm 0,1$ kg).

Die Herzgewichte (HG) aller infarzierten Gruppen waren gegenüber denen der scheinoperierten erhöht, eine signifikante Erhöhung gegenüber der A2406 Sham Gruppe konnte in der mit A2406 2 h prä OP behandelten Gruppe vermerkt werden. Die Behandlungen konnten hierbei keine Verringerungen der Gewichte erzielen.

Die Gewichte der linken Ventrikel (LV) waren in den Sham-Gruppen etwas geringer als in den MI-Gruppen, jedoch nicht signifikant. Die Behandlungen konnten keine Verringerung der linksventrikulären Gewichtszunahme gegenüber der MI-Kontrollgruppe bewirken.

Die Verhältnisse der Herzgewichte zu den Körpergewichten (HG/KGW) zeigten in den Sham-Gruppen signifikant geringere Werte als in den MI-Gruppen. Dies konnte nicht durch die Behandlung der infarzierten Tiere mit A2406 und Rosiglitazon gegenüber der MI-Kontroll-Gruppe verbessert werden.

Bezüglich des Verhältnisses linker Ventrikel zu Körpergewicht (LV/KGW) zeigte sich ein signifikanter Anstieg in den mit Rosiglitazon behandelten MI-Tieren gegenüber den scheinoperierten. In den restlichen Gruppen konnte in den Sham-Gruppen verringerte Werte gegenüber den MI-Gruppen vermerkt werden, die durch die Behandlung ebenfalls nicht verbessert werden konnten. Schließlich ergab sich auch beim Verhältnis rechter Ventrikel zu Körpergewicht (RV/KGW) ein signifikanter Anstieg der Werte der MI-Gruppen gegenüber den Sham-Gruppen. Dieser konnte weder durch die Behandlung mit A2406 noch mit Rosiglitazon vermindert werden. In Tab. 10 sind die Ergebnisse dargestellt.

Ergebnisse

	Kontrolle Sham	Kontrolle MI	A2406 Sham	A2406 MI 2h prä OP	A2406 MI 1Wo.post OP	Rosiglitazon Sham	Rosiglitazon MI
HG (g)	9,12 ± 0,27	10,26 ± 0,41	8,05 ± 0,24	11,15 ± 0,8 +	10,21 ± 0,35	9,31 ± 0,63	10,62 ± 0,6
HG/KGW (g/kg)	2,57 ± 0,06	3,13 ± 0,15 *	2,37 ± 0,06	3,32 ± 0,21 *	3,12 ± 0,09 *	2,65 ± 0,15	3,29 ± 0,17 *
LV/KGW (g/kg)	1,46 ± 0,07	1,56 ± 0,04	1,37 ± 0,03	1,57 ± 0,05	1,65 ± 0,05	1,45 ± 0,04	1,77 ± 0,09 #
RV/KGW (g/kg)	0,4 ± 0,01	0,53 ± 0,04	0,45 ± 0,02	0,61 ± 0,04 *	0,66 ± 0,05 *	0,47 ± 0,03	0,61 ± 0,05 *

Tab. 10: HG, HG/KGW-Ratio, LV/KGW-Ratio und RV/KGW-Ratio der Gruppen Kontrolle Sham, Kontrolle MI, A2406 Sham, A2406 MI 2 h prä OP, A2406 MI 1 Wo. post OP, Rosiglitazon Sham und Rosiglitazon MI 8 Wochen post OP. Angaben sind in MW ± SEM; +: p<0,05 vs. A2406 Sham; *: p<0,05 vs. Kontrolle Sham und AVE 8134 Sham Gruppen; #: p<0,05 vs. alle Sham Gruppen

4.2.6 Ergebnisse der Infarktgrößenbestimmung

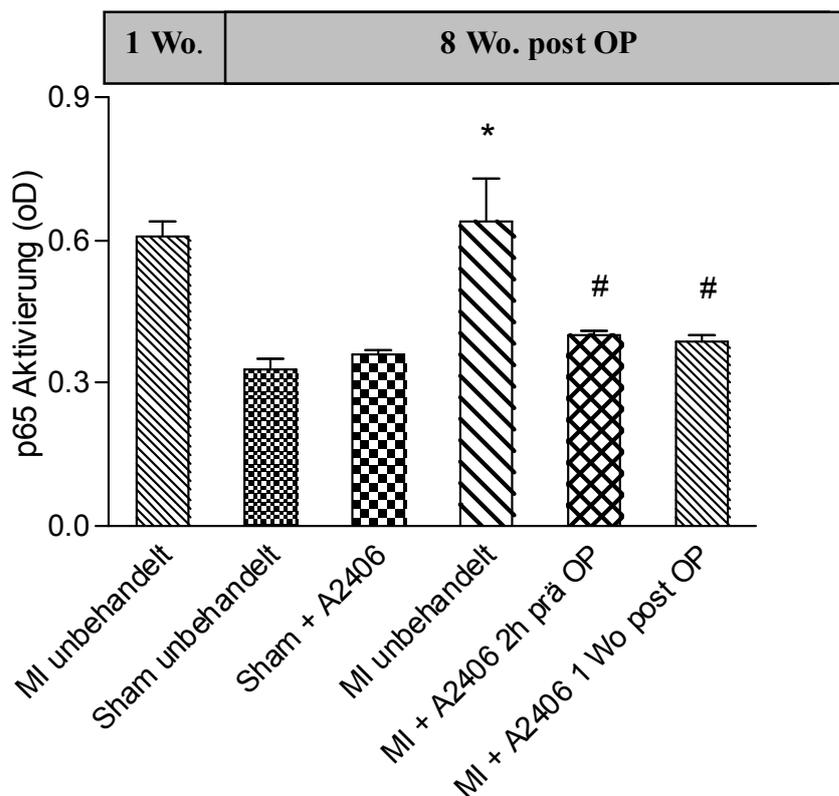
Bei der planimetrischen Infarktgrößenbestimmung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Infarktgröße zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen: Kontrolle MI 32,3 ± 3,96 %, A2406 MI 2 h prä OP 35,3 ± 1,83 %, A2406 MI 1 Wo. post OP 33,1 ± 3,49 %, Rosiglitazon MI 31,9 ± 4,61%.

4.2.7 Ergebnisse der NF-κB Aktivierung

Electromobility Shift Assay (EMSA)-Untersuchungen bezüglich der Aktivierung der p65-Untereinheit von NF-κB im Myokard gemessen als optische Dichte (oD) im Photometer wurden in verschiedenen Gruppen mit infarziertem sowie nicht infarziertem Myokard 1 Woche und 8 Woche post OP mit unterschiedlichen Behandlungs-Modi bzw. bei unbehandelten Kontrollen untersucht. Eine signifikante p65-Aktivierung von 0,61 ± 0,03 oD im unbehandelten, infarzierten

Myokard eine Woche nach MI konnte bei vier Tieren verzeichnet werden. Im unbehandelten Myokard der Sham-Gruppe konnte lediglich eine Aktivierung der p65 Untereinheit von $0,33 \pm 0,02$ oD aufgezeigt werden. Ähnlich diesen Ergebnissen zeigte sich die mit A2406 1 Wo.post OP behandelte Sham-Gruppe 8 Wochen post OP mit einer Aktivierung von im Durchschnitt $0,36 \pm 0,01$ oD. In der Kontroll-Infarkt-Gruppe 8 Wochen nach OP ließ sich eine anhaltende, signifikante p65-Aktivierung von $0,645 \pm 0,09$ oD nachweisen. Eine Verminderung der p65-Aktivierung auf annähernd unbehandeltem Niveau konnte in den beiden Gruppen der Infarkttiere, ebenfalls 8 Wochen post OP untersucht, behandelt mit A2406 2 h prä OP mit Durchschnittswerten von $0,39 \pm 0,01$ oD und mit A2406 1 Wo. post OP behandelt mit durchschnittlichem Wert von $0,385 \pm 0,02$ oD erzielt werden.

Abb. 25 stellt die Aktivierung der p65-Untereinheit von NF-κB der einzelnen Gruppen als Balkendiagramm dar.



n = 4-8 in allen Gruppen

Abb. 25: Aktivierung der p65-Untereinheit von NFκB in der chronischen Studie. Angaben sind in MW ± SEM; *: p<0,05 vs. Sham unbehandelt, Sham + A2406; #: p<0,05 vs. MI unbehandelt

5. Diskussion

Die Mortalitätsstatistik in Europa und USA wird trotz medikamentöser sowie interventioneller Therapiemöglichkeiten vom Myokardinfarkt und der Herzinsuffizienz angeführt. Bisherige Ziele umfassten dabei nicht die direkte Kardioprotektion, welche jedoch ein wichtiger Faktor sowohl nach Myokardinfarkt als auch im Sinne einer konsekutiven Herzinsuffizienzentwicklung ist.

Vor diesem Hintergrund sollte in dieser Arbeit die direkte Kardioprotektion sowie eine Risikoreduktion der Herzinsuffizienzentwicklung auf Grund der Regulierung der myokardialen Fettsäure-Oxidation mit Hilfe des PPAR- α Agonisten A2406 und des PPAR- γ Agonisten Rosiglitazon untersucht werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkungen von A2406 und Rosiglitazon im akuten Myokardinfarktgeschehen sowie auf die sich entwickelnde Herzinsuffizienz am Modell des cholesteringefütterten Kaninchens zu untersuchen und miteinander zu vergleichen. Dazu wurden zwei unterschiedliche Studiendesigns verwendet, um zum einen die Wirkungen des Einflusses von PPAR-Agonisten auf den sich rasch entwickelnden myokardialen Ischämie/Reperfusionsschaden mit begleitender akuter Inflammation zu untersuchen und zum anderen die Einwirkung auf das post-myokardiale Remodeling zu beobachten.

In den beiden vorliegenden Studien konnte sowohl unter der Behandlung von A2406 sowie unter Rosiglitazon eine Verminderung der Aktivierung der p65-Untereinheit von NF- κ B gezeigt werden. Einen Trend zur Infarktgrößenreduktion ließ sich zwar für A2406 aufzeigen, jedoch war dieser nicht signifikant. Nach Ischämie und Reperfusion bewirkten die A2406- und Rosiglitazon-Behandlungen keine Verbesserung der systolischen sowie diastolischen Funktionen. In der chronischen Infarktstudie konnte sowohl die systolische als auch die diastolische Funktion in der Herzinsuffizienz signifikant mit A2406 verbessert werden. Eine Verbesserung der morphologischen Parameter war weder mit A2406 noch mit Rosiglitazon zu sehen. Erhöhte Aldosteron-Plasmakonzentrationen im Rahmen der Herzinsuffizienz konnten durch A2406 und Rosiglitazon signifikant reduziert werden. Die Behandlung mit

A2406 sowie Rosiglitazon bewirkte in beiden Studien keine lipidsenkenden Effekte, sondern ließ die Triglycerid- sowie LDL-Werte im Serum ansteigen.

5.1 Das Modell des hypercholesterol gefütterten, myokardinfarzierten und herzinsuffizienten Kaninchen

Die Herausforderung bei der Suche nach Tiermodellen besteht darin, solche zu finden, die der humanen Erkrankung möglichst ähnlich sind, um die komplexe Pathogenese möglichst präzise nachahmen zu können (prädiktive Tiermodelle). Auch wenn kein Modell die humanen Geschehnisse perfekt replizieren kann, sind Tiermodelle zum einen äußerst nützlich für die Aufklärung der speziellen pathologischen Prozesse der Krankheit, zum anderen erleichtern sie die Suche nach neuen therapeutischen Ansätzen (Bocan et al., 1998).

Das in dieser Arbeit verwendete Modell des atherogen gefütterten Kaninchens weist einen der häufigsten Risikofaktoren einer koronaren Herzerkrankung, die Hypercholesterolämie, auf. Nach heutigem Wissensstand steht zu Beginn des Krankheitsbildes die endotheliale Dysfunktion. Atherogen gefütterte Kaninchen zeigen primär eine Verschlechterung der endothelabhängigen Relaxation und eine anschließende Entwicklung von atherosklerotischen Läsionen (Jayakody et al., 1985). Dies haben inzwischen mehrere Forschungsgruppen in Tierstudien zeigen können (Freimann et al., 1986; Verbeuen et al., 1990). Krichevsky beschäftigte sich lange Zeit mit der Zusammensetzung der atherogenen Diät und fand heraus, dass sich besonders durch den Zusatz von Kokosöl deutliche intrazelluläre Lipideinlagerungen und intimale Proliferationen erzeugen lassen (Kritchevsky et al., 1976). Versuche bzgl. der myokardialen Funktion in atherogen gefütterten Kaninchen weisen auf eine unterdrückte maximale kontraktile Funktion sowie verlängerte systolische Kontraktionsabläufe am Herzen hin (Huang et al., 2004; Luo et al., 2004). Die Arbeitsgruppe von Liu et al. berichtet über eine Erhöhung des apoptotischen Zelltods, eine erhöhte Caspase-3 Aktivität und mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK) - Aktivität sowie eine erhöhte iNOS Expression und eine verschlechterte Erholung der kontraktile Funktionen nach Reperfusion im atherogen gefütterten Kaninchen (Liu et al., 2004). Überraschenderweise zeigen *ex vivo* Experimente (isoliertes,

Langendorff-perfundiertes Herz) in atherogen gefütterten Kaninchen dagegen eine erhöhte myokardiale Resistenz gegenüber einem ischämischen Schaden gemessen an einem signifikant geringeren LVP, HR und Koronardurchfluss (Le Grand et al., 1995).

Des Weiteren wurde in der vorliegenden Arbeit die Koronarligatur (vorübergehend bzw. persistierend) als initiale Schädigung des Herzens zur Erzeugung eines Myokardinfarktes bzw. einer chronischen Herzinsuffizienz verwendet. Der MI wird durch Abbinden des Hauptastes der linken Koronararterie induziert und betrifft die freie Wand des linken Ventrikels einschließlich der Herzspitze. Die durch Koronarligatur induzierte Herzinsuffizienz stellt ein zuverlässiges und reproduzierbares Tiermodell dar, dessen klinische Relevanz offensichtlich ist. Arbeiten im normal gefütterten Kaninchen (Millner et al., 1991; Rungwerth et al., 2004) sowie im Modell des atherogen gefütterten Kaninchen im akuten Ischämie/Reperfusionsgeschehen (Jung et al., 2000; Kremastinos et al., 2000; Jung et al., 2004) liegen bereits vor. Von dem Modell des atherogen gefütterten Kaninchens mit chronischer Herzinsuffizienz liegen bisher keine Publikationen vor.

5.2 Einfluss der PPAR- α - γ Agonisten auf das kardiovaskuläre

System – kontroverse Wirkungsweisen

PPAR- α Agonisten stehen bisher in Forschung und Entwicklung noch relativ am Anfang, und ihre Wirkung im myokardialen Ischämie/Reperfusion Schaden scheint noch weitgehendst ungeklärt. Tierexperimentelle Studien sind noch nicht weit fortgeschritten, und die Literatur lässt viele Fragen offen bzw. berichtet von teilweise konträren Ergebnissen mit PPAR- α und γ Agonisten in kardiovaskulären Krankheitsmodellen (Shiomi et al., 2002; Frantz et al., 2004; Yue et al., 2001; Yue et al., 2003). Aufgrund der Tatsache, dass bei Studien mit Einsatz von PPAR- γ Agonisten Ödeme beobachtet worden sind, stellt sich weiterhin die Frage, in welchem Ausmaß die Flüssigkeitsretention eine Herzinsuffizienz begünstigen beziehungsweise verschlechtern könnte (Wang et al., 2003).

Seit der Markteinführung in Deutschland im Jahr 2000 haben sich die Glitazone (PPAR- γ Agonisten wie Rosiglitazon) als wirksame und gut verträgliche orale Antidiabetika etabliert. Wegen ihrer bereits nachgewiesenen Wirkungen als Insulinsensitizer wird diese Substanzklasse seit einigen Jahren gemeinsam mit denen der PPAR- α Agonisten zusätzlich in prospektiven Studien zum Thema kardiovaskulärer Protektion erforscht (Takano et al., 2000; Nakajima et al., 2001; Cuzzocrea et al., 2002, 2003; Kon et al., 2002; Naito et al., 2002; Shiojiri et al., 2002; Collin et al., 2003; Enomoto et al., 2003; Sivarajah et al., 2003).

5.3 Pharmakokinetik von A2406 und Rosiglitazon im Kaninchen

A2406 über Futter verabreicht zeigt eine zeitverzögerte Absorption (Verringerung von C_{max} (maximale Konzentration) und späterer T_{max} (Zeitpunkt der maximalen Konzentration) im Vergleich zu einer Gabe per Magenschlundsonde (Gavage)), insgesamt jedoch ist das Maß der Absorption nicht beeinträchtigt. Aufgrund von eigenen, nicht veröffentlichten Daten aus vorherigen Studien wurde die Dosis von 10 mg/kg per Gavage über 3 Tage festgelegt, die zu ausreichend hohen Plasmaspiegeln führte.

Im 3-stündigen I/R Versuch mit intravenöser Verabreichung von A2406 in der Dosis 3 mg/kg erhielten wir eine Halbwertszeit von 1 h. Auch 2 h nach Verabreichung der Substanz lagen die Plasmakonzentrationen noch ausreichend hoch im wirksamen Bereich der Substanz. Das Dosierungsschema von A2406 in der chronischen Studie basiert auf den erhobenen Daten nach 3 Tagen Verabreichung per Gavage.

Rosiglitazon nach oraler Gabe wird rasch resorbiert, so dass ausreichend hohe Plasmaspiegel nach 1 Stunde erreicht sind. Die biologische Verfügbarkeit wird mit 99 % angegeben. Die Verabreichung mit dem Futter verlangsamt die Resorption, ändert aber nichts an der aufgenommenen Wirkstoffmenge. Die Halbwertszeit von Rosiglitazon liegt zwischen 3 und 4 Stunden, eine Verabreichung einmal am Tag mit 10 mg/kg ist laut Hersteller ausreichend um eine wirksame Plasmakonzentration zu erhalten (Koch et al., 2000).

5.4 Einfluss von A2406 und Rosiglitazon auf das infarzierte und reperfundierte Herz

In dieser Studie wurden die Effekte von A2406 und Rosiglitazon auf den myokardialen Schaden während eines 2-stündigen Ischämie-Reperfusionversuches ermittelt. Dabei wurden die PPAR-Agonisten vor Ischämie (per os Studie) sowie 5 Minuten vor Reperfusion (i.v. Studie) verabreicht. Gleichzeitig wurde die Aktivierung von NF- κ B in diesem Schädigungsprozess sowie die Beeinflussung dieses inflammatorischen Pathways durch A2406 und Rosiglitazon untersucht. Hierbei zeigte sich ein Trend zur Infarktgrößenreduktion, welche keinen Einfluss auf die systolische und diastolische Herzfunktion ausübte. Die fehlende protektive Wirkung auf einen Reperfusionsschaden von A2406 und Rosiglitazon wurde durch die biochemischen Marker CK und LDH bestätigt. Die NF- κ B Aktivierung hingegen wurde signifikant durch die Behandlung mit beiden PPAR-Agonisten gehemmt. Eine dadurch einhergehende Kardioprotektion mit einer signifikanten Verminderung der Infarktgröße und Verbesserung der Hämodynamik unter PPAR-Einfluss konnte nicht bestätigt werden.

NF- κ B ist maßgeblich an der Aktivierung zahlreicher für den Ablauf einer Entzündung relevanter Gene beteiligt (Baeuerle, 1998). Daher liegt es nahe, über diesen Faktor eine breite entzündungshemmende und damit kardioprotektive Wirkung zu erreichen (Baeuerle et al., 1998). In tierexperimentellen Studien an der Ratte berichtet die Gruppe von Morishita et al. über die nahezu vollständige Verhinderung eines Myokardinfarktes durch die spezifische Hemmung von NF- κ B durch Decoy Oligonucleotide (Morishita et al., 1997). Es stellt sich jedoch die Frage, ob eine Hemmung der NF- κ B Aktivität nach stattgefundenener Ischämie und Reperfusion den ischämischen Schaden verhindert, oder ob eine kurzzeitige Aktivierung des Transkriptionsfaktors vor Ischämie und Reperfusion nötig ist, um nachfolgende protektiv wirkende Signalkaskaden auszulösen (Kukreja, 2002). Xuan et al. konnten anhand I/R Versuchen an Kaninchen diesbezüglich zeigen, dass eine prä-ischämische NF- κ B Aktivierung zur Auslösung von protektiven Effekten (Entwicklung einer späten Präkonditionierung) im Herzen nötig ist (Xuan et al., 1999).

In diversen Studien konnte gezeigt werden, dass die kardioprotektive Wirkung der PPAR-Agonisten unter anderem aufgrund ihrer Effekte auf die Expression pro-inflammatorischer Gene erzielt wird. Wir konnten *in vivo* die Hemmung der Aktivierung der p65 Untereinheit durch A2406 und Rosiglitazon zeigen, was einen hemmenden Einfluß dieser Substanzen auf den NF- κ B Pathway belegt.

Andere Arbeitsgruppen konnten ebenfalls eine unspezifische Hemmung von NF- κ B durch PPAR-Agonisten zeigen. Dies erfolgte zum einen durch den Nachweis der verminderten Expression von durch NF- κ B regulierten Genen wie den Zytokinen (TNF- α , Interleukine, IFN- γ), Chemokinen (MCP-1) und Adhensionsmolekülen (ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1 und CD11b/CD18) (Nakajima et al., 2001; Yue et al., 2001; Shiomi et al., 2002; Abdelraham et al., 2005; Seki et al., 2005), zum anderen durch den direkten EMSA-Nachweis einer verminderten Expression der p50- und p65-Untereinheit von NF- κ B (Ogata et al., 2004; Yue et al., 2003).

Eine Infarktgrößenreduktion durch den PPAR- γ Agonist Rosiglitazon, wie sie in einer I/R-Studie bei Ratten nach i.v. (37 %) bzw. per os (24 %) Verabreichung von der Arbeitsgruppe Yue et al nachgewiesen worden ist (Yue et al., 2001), konnte im atherogenen I/R-Kanichenmodell der vorliegenden Studie nicht gezeigt werden. Liu et al. zeigten unter Rosiglitazon-Einfluss (3 mg/kg/d per Gavage, Verabreichung 3 Wochen vor MI) unter anderem eine verbesserte Erholung der kontraktile Dysfunktion des Herzens nach 60 minütiger Ischämie und 4-stündiger Reperfusion im atherogen gefütterten Kaninchen (Liu et al., 2003). In der vorliegenden Studie mit einer abweichenden Verabreichungsdauer von 3 Tagen vor Ischämie und 45-minütiger Ischämie sowie 2-stündiger Reperfusion konnten diese Effekte nicht reproduziert werden. Im I/R Modell an Schweinen unter PPAR- γ Einfluss zeigten sich Parallelen zur vorliegenden Studie. Der PPAR- γ Agonist Troglitazon 1 Stunde vor Ischämie verabreicht, führte hierbei zu einem erhöhten Auftreten von Kammerflimmern während der Ischämie und Reperfusion, das zum Tod der Tiere führte (Xu et al., 2003). Des Weiteren bewirkte die Verabreichung von Rosiglitazon an Schweinen im I/R-Modell keine Verbesserung der myokardialen Funktionen und keine Verringerung der pro-inflammatorischen Zytokin - Expression (Xu et al., 2005). Die kardioprotektive

Wirkung von PPAR- α Agonisten wurde bis jetzt nur wenig untersucht, es liegen kaum tierexperimentelle Daten vor. *In vivo* Versuche an Mäusen mit einem PPAR- α Agonisten vor Ischämie per os verabreicht konnte eine Verbesserung der myokardialen Funktionen nach 30-minütiger Ischämie und 24-stündiger Reperfusion sowie eine dosisabhängige Infarktgrößenreduktion von 28 %- 35 % nachweisen (Yue et al., 2003).

Desweiteren berichtet die Arbeitsgruppe von Bulhak et al. von einer signifikanten Infarktgrößenreduktion bei Ratten nach 30 minütiger Ischämie und 2-stündiger Reperfusion nach Verabreichung eines PPAR- α Agonisten 30 Minuten vor Ischämie (Bulhak et al., 2004). Diese Studien wurden allerdings in normolipidämischen Tieren durchgeführt. Wir konnten in unserem I/R- Modell mit hyperlipidämischen Kaninchen jedoch weder bei Verabreichung des PPAR- α Agonisten A2406 vor Ischämie noch bei der Verabreichung zur Reperfusion eine Verbesserung der myokardialen Funktionen oder eine Verminderung der Infarktgröße verzeichnen. *In vitro* Versuche an Mäusen mit herzspezifischer Überexpression von PPAR- α und einer dadurch bedingten signifikant erhöhten FAO zeigten sogar einen schädlichen Einfluss der erhöhten PPAR- α Aktivierung auf die kardiale Erholung nach stattgefundenener I/R auf (Sambandam et al., 2005).

Eine protektive Wirkung von PPARs auf die Apoptose und Nekrose im ischämischen Myokard konnte in der vorliegenden Studie, gemessen anhand der Freisetzung des Muskelenzyms Creatinkinase (CK) und des zytosolischen Enzyms Laktatdehydrogenase (LDH), nicht bestätigt werden. Wir konnten unter A2406 sowie unter Rosiglitazon Behandlung sogar eher einen Trend zur vermehrten Freisetzung der beiden Enzyme zeigen. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse sind jedoch Nebenwirkungen einer eventuell stattgefundenen Rhabdomyolyse und damit verbundenen Beeinflussung der vermehrten Freisetzung von CK und LDH in Betracht zu ziehen. Von derartigen Nebeneffekten nach PPAR- α sowie PPAR- γ Behandlung wurde bereits berichtet (Scatena et al., 2004; Motojima, 2002; Ledl et al., 2005).

PPARs und deren regulierender Einfluss auf den Fettstoffwechsel, mit verstärkender Wirkung auf die Genexpression von FAO-Enzymen sowie einer gesteigerten myokardialen Fettsäure-Oxidation und einer daraus resultierenden Verringerung der freien Fettsäuren im Blut, werden in zahlreichen klinischen Untersuchungen am Menschen postuliert (Aronoff et al., 2000; Barger et al., 200; Lebovitz et al., 2001; Füllert et al., 2002; Freed et al., 2002; Winkler et al., 2003). Dabei wird in den genannten Studien eine Steigerung des gefäßprotektiven HDL-Cholesterins, eine Senkung des besonders atherogen eingestuften LDL-Cholesterins und eine Verringerung der Triglyzeridspiegel dokumentiert. Weder unter A2406 noch unter Rosiglitazon Einwirkung ließ sich ein positiver Einfluss auf den Lipidstoffwechsel mit Senkung von Cholesterin, LDL und Triglyzeriden oder eine Erhöhung des HDL-Gehalts im vorliegenden atherogenen Kaninchenmodell nachweisen. Die Arbeitsgruppen von Tao et al., 2003 und Liu et al., 2004 zeigten ebenfalls in Studien mit atherogen gefütterten Kaninchen, ähnliche Ergebnisse wie in der vorliegenden Studie. Auch hier konnten keine positiven Effekte auf den Lipidstoffwechsel unter Rosiglitazon, 3 mg/kg per os (5 Wochen) verabreicht, nachgewiesen werden. Studien in Ratten, ebenfalls mit Rosiglitazon 3 mg/kg i.v. Bolus sowie per os (7 Tage lang) behandelt, konnten diese fehlenden Effekte bestätigen (Yue et al., 2001). Eventuell scheint hier die Behandlungsdauer von Bedeutung zu sein, da andere Arbeitsgruppen eine signifikante Reduktion des Cholesterin- sowie des Triglyzerid-Gehalts in atherogen gefütterten Ratten mit einer per os Behandlung von Rosiglitazon (10 mg/kg) über 16 Wochen zeigen konnten (Tacikowski et al., 2005).

Über die Effekte von PPAR- α Agonisten auf den Lipidstoffwechsel liegen nur wenige präklinische Daten vor. Die große Bedeutung von PPAR- α wird allerdings durch Studien an PPAR- α -/- Mäusen deutlich, die Veränderungen der PPAR- α regulierten FAO-Enzyme, einhergehend mit massiver Lipid-Akkumulation sowie einem Energiedefizit im kardialen Energiemetabolismus aufwiesen, was letztendlich zum Tod der Tiere führte (Djouadi et al., 1999; Leone et al., 1999; Watanabe et al., 2000; Finck et al., 2002).

5.5 Einfluss von A2406 und Rosiglitazon auf das insuffiziente Herz

Bei den in dieser Studie durchgeführten Untersuchungen, die die Funktion und die Morphologie des Herzens, die Aktivierung von NF- κ B sowie den Blutstatus der Tiere umfassten, wurden die Effekte von A2406 und Rosiglitazon am chronisch infarzierten, atherogenen Kaninchenmodell über einen Zeitraum von insgesamt 8 Wochen ermittelt. Hierbei wurde A2406 in einer Behandlungsgruppe bereits vor OP (2 h prä OP) sowie 1 Woche nach OP (1 Wo. post OP) eingesetzt, um so auf das akute sowie chronische Entzündungsgeschehen und Remodeling am Herzen Einfluss nehmen zu können. Die Behandlung mit Rosiglitazon wurde ebenfalls 1 Wo. post OP begonnen.

Die Vergößerung der linksventrikulären Dimensionen drückt die einsetzende Dilatation bei beginnender Dekompensation der Herzinsuffizienz aus. Dies konnte sowohl bereits im Tierexperiment (Pennock et al., 1997) als auch in humanen Studien (Chalmers et al., 1987) mittels Echokardiographie gezeigt werden. Die in der vorliegenden Studie echokardiographisch ermittelten morphologischen linksventrikulären Parameter LVDed und LVDes ließen sich durch die Behandlung mit A2406 sowie Rosiglitazon nicht verbessern. Die unwesentliche Beeinflussung der Ventrikel-Morphologie spiegelte sich auch in den zu Studienende bestimmten mittleren Gewichten der linken Ventrikel und des Herzens wieder. Die linksventrikulären Gewichte der behandelten Gruppen zeigten eine mit der Kontrollgruppe vergleichbare Zunahme auf. Ebenso konnte das Verhältnis Herzgewicht zu Körpergewicht in allen behandelten Gruppen nicht verbessert werden. Untersuchungen mit PPAR- γ Agonist Pioglitazon in Mäusen konnten dagegen eine Verminderung des Verhältnisses Herzgewicht/Körpergewicht verzeichnen (Shiomi et al., 2002). Hingegen zeigen Daten (s.u.) eine Normalisierung der Ventrikelgewichte unter PPAR- α Agonist, nicht jedoch unter PPAR- γ Agonist Behandlung in Ratten.

Eine der wichtigsten Komponenten, die den Herzinsuffizienz-Prozess einleiten, ist die initiale, maladaptive Hypertrophie nach myokardialer Schädigung, die nach erfolgtem Remodeling zur Dilatation des Herzens führt. In unilateral nephrektomierten Ratten konnte gezeigt werden, dass sowohl PPAR- α

(Fenofibrate) sowie PPAR- γ (Rosiglitazon) Agonisten das Herz vor einer Mineralkortikoid - bedingten Hypertrophie schützen (Iglarz et al., 2003). Des Weiteren zeigten *in vitro* Untersuchungen in neonatalen Rattenkardiomyozyten eine Verhinderung der Endothelin-1 induzierten Hypertrophie nach PPAR- α Agonist (Fenofibrat) Verabreichung (Liang et al., 2003). Auch der PPAR- γ Agonist (Rosiglitazon) zeigte in diesem Zellmodell antihypertrophe Effekte.

Dagegen bewiesen Studien mit Nagern, dass eine verminderte Aktivierung von PPAR notwendig ist für die Erhaltung der kontraktile Funktionen des hypertrophen Herzens und dass die Reaktivierung von PPAR- α und PPAR- α regulierten Genen mit PPAR- α Agonisten in einer schweren Depression der Herzfunktion resultiert (Young et al., 2001). Bei einer Überexpression von PPAR- α regulierten Genen in Mäusen konnten eine Herzmuskelschwäche, linksventrikuläre Dysfunktion sowie Embryontod nachgewiesen werden (Chiu et al., 2001).

Die linksventrikuläre Funktion während des Verlaufs der Studie wurde nicht nur mittels Echokardiographie, sondern auch abschließend invasiv per Herzkatheterisierung ermittelt. Hierbei kristallisierte sich eine deutliche Überlegenheit der mit A2406 behandelten Gruppen in der systolischen Funktion heraus. Der linksventrikuläre systolische Druck (LVSP) konnte mit der Behandlung von A2406 1 Wo. post OP signifikant verbessert werden; A2406 2 h prä OP sowie Rosiglitazon zeigten dabei einen Trend zur Verbesserung. Ebenfalls konnte die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) als Kontraktilitätsparameter signifikant durch A2406 2 h prä OP verbessert werden, A2406 1 Wo post OP sowie Rosiglitazon wiesen hierbei einen Trend zur Verbesserung auf. In der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit (dp/dt_{min}) als Relaxationsparameter zeigte A2406 wiederum 1 Wo. post OP signifikant verbesserte Werte gegenüber der MI-Kontrollgruppe, hierbei ließen A2406 vor Infarkt verabreicht sowie Rosiglitazon einen Trend zur Verbesserung erkennen. Nicht veröffentlichte eigene Daten zeigten in *ex vivo* Untersuchungen im herzinsuffizienten Rattenmodell mit einer Verabreichung von A2406 (3 mg/kg/Tag und 10 mg/kg/Tag) per os, Behandlungsbeginn ein Tag nach OP über

8 Wochen, eine dosisabhängige Verbesserung der Herzfunktion sowie einen positiven Einfluss auf den Remodelingprozess. Des Weiteren wurden im gleichen Studienaufbau Untersuchungen mit A2406 (20 mg/kg/Tag) im Vergleich mit Rosiglitazon Behandlung durchgeführt. Hierbei konnte nur eine Verbesserung der Herzfunktion in der herzinsuffizienten Ratte unter A2406 vermerkt werden. Weiterhin unter A2406 Einfluss, nicht aber in den mit Rosiglitazon behandelten Gruppen, zeigte sich eine Normalisierung der Gewichte des rechten Ventrikels sowie der Lunge (Schäfer et al., 2005). Dagegen konnten Studien mit Hunden und einer einmaligen oralen Behandlung mit A2406 von 100 mg/kg keine positiven kardiovaskulären Effekte aufweisen. Zwei unterschiedliche Studienergebnisse an der herzinsuffizienten Maus unter PPAR- γ Behandlung (Pioglitazon) zeigten die Arbeitsgruppen von Frantz et al. und Shiomi et al.. Hierbei konnten in der erstgenannten Gruppe keine kardioprotektiven Effekte (anhand der Herzmorphologie, metabolischen Parameter und Inflammation) nach Verabreichung der Substanz (20 mg/kg per Gavage über 6 Wochen) 1 Woche nach MI erzielt werden. Lediglich eine Erniedrigung der Triglycerid-Plasmaspiegel war nachweisbar (Frantz et al., 2004). Dagegen zeigte die Studie von Shiomi et al. nach diätätischer Verabreichung von 3 mg/kg Pioglitazon, begonnen 6 Stunden post MI über einen Zeitraum von 4 Wochen, signifikante Verbesserungen der Herzmorphologie und -funktion sowie eine Erniedrigung der Entzündungsparameter (Shiomi et al., 2002). Die tägliche Verabreichung der Substanz mit Einwirkung auf das frühe Remodeling scheint hierbei eine verbesserte Wirkung auf das Herzinsuffizienzgeschehen zu haben. Cuzzocrea et al. jedoch berichten von einem notwendigen längeren Einfluss von PPAR- γ Agonisten auf das fortgeschrittene Herzinsuffizienzgeschehen, um effektiv Einfluss auf das Entzündungsgeschehen zu nehmen (Cuzzocrea et al., 2002). Demgegenüber stehen Aussagen einer Verschlechterung einer präexistenten Herzinsuffizienz bzw. der Auslösung einer Herzinsuffizienz unter Rosiglitazon-Einfluss. Klinische Studien zeigten auf Grund von Flüssigkeitsrestriktionen, die bedingt durch eine Vasodilatation oder durch eine verbesserte Insulinwirkung mit Na⁺-Resorption im distalen Tubulus einhergehen, eine Verschlechterung der kardialen Funktionen (Barman-Balfour et al., 1999; Marx, 2002 (b)).

Die kontroversen Angaben in der Literatur spiegeln die unterschiedlichen Befunde der PPAR-Agonisten-Wirkung auf Morphologie und Funktion im herzinsuffizienten Modell wider.

Die hämodynamischen Messungen unter Isoproterenol - Einfluss zeigten in der vorliegenden Studie unter Sevofluran-Inhalations-Narkose keine zu erwartenden verbesserten Effekte auf die kardiale Dysfunktion im Herzinsuffizienzgeschehen (Daten wurden nicht gezeigt). In einer erst kürzlich erschienenen Publikation wurde berichtet, dass Isoproterenol nur in mit Ketamin narkotisierten, nicht aber in mit Isofluran narkotisierten Tieren positiv inotrope Effekte zeigt (Pena et al., 2005).

Die anhaltende, nachgewiesene Aktivierung der p65 Untereinheit von NF- κ B über den Versuchszeitraum von 8 Wochen wurde unter A2406 und Rosiglitazon Einfluss signifikant reduziert. Studien von Sun et al. und Ogata et al. konnten die Beteiligung des Transkriptionsfaktors in der hypertrophen Kardiomyopathie ebenfalls nachweisen (Sun et al., 2002; Ogata et al., 2004). In der Literatur findet man Untersuchungen einer zeitlich begrenzten NF- κ B Aktivierung nach MI. Es konnte dabei ein NF- κ B Aktivitätsanstieg 3 Tage nach MI, mit nachfolgendem Plateau am Tag 7 post MI und anschließender proportionaler Verminderung der Aktivierung gemessen bis zum Tag 28 post MI, mit anhaltender, signifikanter Aktivität versus der nichtinfarzierten Kontrollgruppe, gezeigt werden (Lu et al., 2004). Studien an LPS und TNF- α stimulierten transgenen Luciferase-exprimierenden Mäusen mit NF- κ B abhängiger Fluoreszenz konnten einen gewebespezifischen Fluoreszenz-Aktivitätspeak von NF- κ B 6 Stunden (TNF- α) sowie 12 Stunden (LPS) nach Behandlung in der Linse zeigen. 3 – 6 Stunden später wurden Fluoreszenzen in anderen Organen sichtbar (Carlsen et al., 2004).

Die Infarktgrößenbestimmung im chronischen Versuch diente der Kontrolle der Ausgangssituation im Herzinsuffizienzgeschehen und einer vergleichbaren Korrelation der untersuchten Parameter und ließ keine Aussage über die Wirkung unter der Behandlung zu.

Eine wie bereits in der vorliegenden akuten Studie vermerkte deutliche Erhöhung der CK-Plasmaspiegel in den mit A2406 und Rosiglitazon behandelten Gruppen zeigte sich ebenfalls in der chronischen Studie.

Die Bestimmung der Aldosteron - Plasmaspiegel ermöglichte auf Biomarker-Ebene den Nachweis einer therapeutischen Wirksamkeit von A2406 und Rosiglitazon. Vergleichend zu den unbehandelten Infarkttieren konnten im Zeitverlauf von 8 Wochen die mittleren Werte der Aldosteron-Plasmakonzentration signifikant in den A2406 sowie Rosiglitazon behandelten Gruppen auf Basalniveau reduziert werden.

Die Arbeitsgruppe von Zhang et al. berichtet über den Einsatz von Rosiglitazon bei Mäusen und dessen positive Effekte auf die Reduktion der Aldosteron-Plasmaspiegel (Zhang et al., 2005). Andere tierexperimentelle Studien bestätigen die Erhöhung des Aldosteron Plasmaspiegels im insuffizienten Herzen und dessen Beteiligung an der Genese der Herzfibrosierung nach Myokardinfarkt (Silvestre et al., 1998; Silvestre et al., 1999). Cittadini und Kollegen konnten diesbezüglich an herzinsuffizienten Ratte zeigen, dass eine Aldosteron-Rezeptorblockade die linksventrikuläre Dilatation verringert, die Funktion des Herzens verbessert und die interstitielle Fibrose vermindert (Cittadini et al., 2003).

Die genannten Arbeitsgruppen berichten darüber hinaus von einer Erhöhung der proANP Plasmaspiegel in der Herzinsuffizienz und der Korrelation mit dem Schweregrad der Insuffizienz. In der vorliegenden Studie wiesen die durchschnittlichen proANP-Plasmakonzentrationen eine vergleichbare Erhöhung in den behandelten sowie in den unbehandelten infarzierten Gruppen auf und ließen somit keine übereinstimmende Aussage über die protektive Wirkung von PPAR auf die Hypertrophie des Herzens zu. Die oben erwähnte Arbeitsgruppe von Iglarz et al. konnte jedoch unter PPAR- α sowie PPAR- γ Einfluss eine Verminderung der proANP Spiegel in Ratten verzeichnen (Iglarz et al., 2003). In *in vitro* Untersuchungen in Ang II-induzierten hypertrophen neonatalen Ratten-Kardiomyozyten ließen sich verminderte proANP-Spiegel nach Troglitazon, Pioglitazon sowie Rosiglitazon Behandlung nachweisen (Asakawa et al., 2002).

Der massive Anstieg der Plasmalipide im atherogen gefütterten Kaninchen ist in zahlreichen Studien belegt (Kremastinos et al., 2000; Jung et al., 2004).

Weder unter A2406 noch unter Rosiglitazon Einfluss ließ sich ein positiver Effekt auf den Lipidstoffwechsel im atherogenen Kaninchenmodell vermerken. Im Verlauf des Untersuchungszeitraumes zeigten die behandelten Tiere nach 4 und/oder 8 Wochen signifikant erhöhte Plasmakonzentrationen von LDL und Triglyceriden. Nicht veröffentlichte eigene Daten von A2406 konnten jedoch an Ratten eine Verringerung der Triglycerid-Plasmaspiegel, in Apolipoprotein A1 Mäusen (Tiermodell für high-density lipoprotein (HDL) cholesterol Metabolismus) eine Dosis-abhängige Erhöhung von HDL und apo A1 sowie eine Verminderung der Triglyceride und an Minipigs eine Verringerung der Cholesterin- und Triglycerid- Werte vermerken. Diese Unterschiede zum Kaninchenmodell sind noch nicht erklärbar.

Verschiedene Arbeiten weisen darüber hinaus darauf hin, dass PPARs anti-inflammatorische Effekte in vaskulären Zellen haben könnten (Staels et al., 1998 (b)). Nachdem *in vivo* und *in vitro* Daten der letzten Jahre zeigten, dass es sich bei der Arterioskleroseentstehung um einen inflammatorischen Prozess in der Gefäßwand handelt, könnte eine Aktivierung dieser Rezeptoren in vaskulären Zellen ein neues anti-atherogenes Konzept zur Beeinflussung der Läsionentstehung darstellen (Marx et al., 1999; Delerive et al., 1999). Im Gegensatz zu dieser Hypothese stehen Arbeiten, die zeigen konnten, dass PPAR- α oder PPAR- γ -Aktivatoren in Kombination mit Tumor-necrosis-factor- α (TNF- α) und Interferon- γ (IFN- γ) zur Apoptose von Makrophagen führen (Chinetti et al., 1998), ein Mechanismus, der die Entwicklung des nekrotischen Lipidkerns der Plaque fördern und so zur Destabilisierung der Läsion führen könnte. Die anti-inflammatorischen Wirkungen von PPAR- γ in Monozyten/Makrophagen (Ricote et al., 1998) scheinen durch eine Interaktion mit anderen Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B vermittelt zu werden. Bislang existieren wenig *in vivo* Daten zu der Fragestellung, ob PPAR- γ Aktivierung die Atherogenese fördert oder hemmt. Eine veröffentlichte Studie in Mäusen konnte

zeigen, dass PPAR- γ Aktivatoren die Plaquegröße und- ausdehnung in der Arteriosklerose signifikant reduzieren (Li et al., 2000).

Somit scheint es, dass der Gesamteffekt einer PPAR-Aktivierung *in vivo* eher vaskuloprotektiv ist und dass die potentiell pro-atherogenen Wirkungen gegenüber den günstigen Effekten dieser Substanzen in den Hintergrund treten (Marx et al., 2001).

5.6 Abschliessende Betrachtung

Aus den Ergebnissen beider vorliegender Studien im atherogenen Kaninchen Modell wird ersichtlich, dass die Frage, ob den PPAR-Agonisten ein therapeutischer Einsatz im kardiovaskulären Krankheitsgeschehen zukommen sollte, differenziert betrachtet werden muss. Dies zeigten zum einen unterschiedliche Ergebnisse in den zwei Indikationen (akuter Infarkt versus chronische Herzinsuffizienz), zum anderen Unterschiede in der Wirksamkeit der zwei Substanzen A2406 und Rosiglitazon.

Unter beiden Substanzen sowie in beiden Studien ließ sich zwar eine verminderte NF- κ B Aktivierung im Herzen nachweisen, jedoch blieben in der akuten Studie zu erwartende signifikante kardioprotektive Effekte aus. In der chronischen Studie konnte eine signifikante kardiale Funktionsverbesserung unter A2406 nachgewiesen werden, eine morphologische Verbesserung jedoch ließ sich nicht verifizieren.

Wie bereits erwähnt, findet man in der Literatur sehr unterschiedliche Aussagen über die Wirksamkeit von PPAR-Agonisten in tierexperimentellen Studien des I/R-Modell sowie der Herzinsuffizienz. Von besonderer Relevanz ist hier die Auswahl der Substanz, die aus dieser Wirkstoffklasse (PPAR- α / γ Agonisten) untersucht wird, da die verschiedenen Substanzklassen (Thiazolidindione, Fibratderivate) unterschiedliche pharmakologische Eigenschaften haben. Jedoch liegen auch mehrere Studien vor, die zwar die Wirkung derselben Substanz untersuchten, trotzdem aber zu unterschiedlichen Ergebnissen führten. Ein Unterschied lag auch in der Dauer der Behandlung, dem Verabreichungszeitpunkt in Relation zum Infarkt und der Applikationsart. Diese

Faktoren sind bei der Therapie mit PPAR-Agonisten von großer Relevanz, da man zwischen akuten und langfristigen Effekten unterscheiden muß.

Der wahrscheinlich entscheidendste Unterschied innerhalb der Studien lag in einer Spezies-Spezifität unter der Behandlung von PPAR-Agonisten. Diesbezüglich untersuchte die Arbeitsgruppe von Tugwood et al. die unterschiedlichen molekularen sowie biochemischen Mechanismen der PPARs - hier vor allem von PPAR- α - aufgrund seiner pleiotropen Effekte im Nagetier und im Menschen. Auf molekularer Ebene konnten zum einen gravierende strukturelle interindividuelle Unterschiede in humanen PPAR- α cDNA Sequenzen nachgewiesen werden, zum anderen lag hierbei der einfache Austausch einer Aminosäuresequenz vor. Des Weiteren ließ sich eine unterschiedliche gewebsspezifische Expression von PPAR- α im Menschen und im Nagetier zeigen. Biochemisch konnten innerhalb der verschiedenen PPAR Subtypen unterschiedliche pharmakologische Eigenschaften aufgezeigt werden (Tugwood et al., 1996).

Speziesspezifische Unterschiede zeigten sich ebenfalls im Lipidstoffwechsel. Klinische Studien im Menschen berichten von einer Verminderung der Blutfettwerte durch Rosiglitazon, die in Hamster, Meerschweinchen, Ratte und Minipigs (eigene, unveröffentlichte Daten) unter A2406 bestätigt werden konnte, jedoch ließ sich dies im Kaninchen nicht nachweisen. Studien mit Rosiglitazon in der Ratte sowie im Kaninchen zeigten ebenfalls keine Wirkung auf den Lipidstoffwechsel.

Der Ansatz der Studie, mit PPAR-Agonisten die inflammatorische Reaktion zu beschränken und somit auch das Ausmaß der möglicherweise additiv zellschädigenden Effekte durch den Reperfusionsschaden zu schmälern, konnte zwar mit der nachgewiesenen verminderten NF- κ B Aktivierung auf molekularbiologischer Ebene bestätigt werden, jedoch führte dies nicht zu einer signifikanten Reduktion der Herzschiidigung. Allerdings wird der anti-inflammatorische Ansatz in den Indikationen „Koronare Herzkrankheit“ und „Chronische Herzinsuffizienz“ im allgemeinen sehr kontrovers diskutiert, die Beteiligung entzündlicher Prozesse an der Entstehung dieser Krankheitsbilder ist jedoch wissenschaftlich anerkannt.

Des Weiteren stellt NF- κ B einen Regulator zwischen Zelltod und -überleben dar; eine Therapie, die dieses Protein hemmt, muss daher sehr sorgfältig abgewogen werden.

Es bleibt daher abzuwarten, ob die Entwicklung dualer α -/ γ -PPAR-Aktivatoren klarere kardioprotektive Eigenschaften aufweisen wird (Schiffrin et al., 2003, Nikolaidis et al., 2004).

6. Zusammenfassung

Die Prävalenz von Herz-Kreislaufkrankungen ist trotz der Fortschritte in Forschung und Entwicklung neuer Arzneistoffe in den letzten Jahren stetig angestiegen. Der Myokardinfarkt ist eine der Haupttodesursachen in den westlichen Industrienationen. Aufgrund der stets älter werdenden Bevölkerung und verbesserten Therapiemöglichkeiten des Myokardinfarktes steigt jedoch konsekutiv die Rate der Herzinsuffizienzfälle an.

In dieser Arbeit wurden die pharmakologischen Wirkungen zweier PPAR-Agonisten, A2406, ein PPAR- α Agonist, und Rosiglitazon, ein PPAR- γ Agonist, für die Indikationen akuter Myokardinfarkt und Herzinsuffizienz als Folge eines Myokardinfarktes im Modell des atherogen gefütterten Kaninchens miteinander verglichen. Fokus der ersten, akuten Studie waren die Wirkungen der PPAR-Agonisten auf den myokardialen Ischämie/Reperfusionsschaden sowie die begleitende akute Entzündung. Die zweite Studie sollte die Einwirkung auf das fortgeschrittene Remodeling und das chronische Entzündungsgeschehen nach Myokardinfarkt in der Herzinsuffizienz untersuchen.

Die Hypothese des Einsatzes von PPAR-Agonisten in kardiovaskulären Erkrankungen war, dass sie zusätzlich zu ihren Effekten auf den Lipidmetabolismus ebenfalls positive Effekte auf den Schädigungsprozess im Herzen zeigen und somit der kontraktile Dysfunktion entgegen wirken.

Anhand von echokardiographischen und hämodynamischen Messungen *in vivo*, der Bestimmung der NF- κ B Aktivität *ex vivo* sowie Messungen verschiedener Blutparameter konnten Aussagen über die Morphologie, die systolische und diastolische Funktion des Herzens sowie über Entzündungsmediatoren und den Lipidstoffwechsel getroffen werden.

In den beiden vorliegenden Studien wurde sowohl unter der Behandlung mit A2406 als auch mit Rosiglitazon eine Verminderung der nach Myokardschädigung auftretenden Aktivierung der p65-Untereinheit von NF- κ B nachgewiesen. Dies führte in der akuten Ischämie/Reperfusionstudie in den mit A2406 behandelten Tieren tendenziell zu einer Infarktgrößenreduktion, die jedoch keine statistische Signifikanz erreichte. Weiterhin wurde durch A2406 und Rosiglitazon keine Verbesserung der systolischen und diastolischen

Herzfunktion festgestellt. In der chronischen Infarktstudie ließen sich die systolische wie auch die diastolische Funktion signifikant mit A2406 verbessern. Eine Verbesserung der morphologischen Parameter war weder mit A2406 noch mit Rosiglitazon in der Herzinsuffizienz zu sehen. Erhöhte Aldosteron-Plasmakonzentrationen während der Herzinsuffizienz konnten durch A2406 und Rosiglitazon signifikant reduziert werden. Die Behandlung mit diesen PPAR-Agonisten erzielte in beiden Studien keine lipidsenkenden Effekte, sondern ergab eher erhöhte Blut-Lipid-Werte.

Abschließend kann ich aus meinen Ergebnissen folgern, dass diese sowohl im Einklang als auch im Widerspruch mit den bereits veröffentlichten Daten aus Studien mit PPAR-Agonisten stehen und somit die kontroversen Befunde über die Wirksamkeit dieser Wirkstoffklasse in kardiovaskulären Erkrankungen widerspiegeln.

7. Summary

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in civilized countries with increasing incidence and prevalence. Despite recent advances in the therapy of Coronary Heart Disease (CHD) and Congestive Heart Failure (CHF), mortality remains high.

The aim of this study was to investigate the efficacy of Peroxisome Proliferator Activating Receptor (PPAR) agonists in two different models of cardiovascular disease in hypercholesterolemic rabbits. The main focus of the first study, acute ischemia/reperfusion (IR) injury, was the evaluation of the effects of PPAR agonists on left ventricular dysfunction and local inflammation post IR. In the second study, chronic heart failure after myocardial infarction (MI), the effects of PPAR agonists on left ventricular remodelling including functional, morphological and molecular alterations of the myocardium was investigated.

There is evidence that PPAR agonists may exert beneficial effects in the treatment of cardiovascular disease distinct from their effects on lipid profile and cellular metabolism. The conclusion was an anti-inflammatory action of these compounds leading to reduced myocardial damage in an acute and chronic setting.

The treatment with the PPAR- α agonist A2406 and the PPAR- γ agonist Rosiglitazon in the acute as well as in the chronic study resulted in a significant reduction of p65 activation, a main step in the NF- κ B pathway. However, this had no significant effect on infarct size or left ventricular dysfunction post IR. In the chronic CHF study, A2406 led to a significant improvement of impaired left ventricular systolic and diastolic function post MI but had no effect on left ventricular dilatation. Rosiglitazon showed no beneficial effects on left ventricular function or on morphology. Both PPAR agonists did not affect the developing hypercholesterolemia in atherogenic fed rabbits.

Our data indicate that activation of PPAR- α and - γ exerts anti-inflammatory actions in the setting of acute and chronic myocardial damage. However, this led to contradictory effects on left ventricular function and morphology. These results reflect the unequivocal data package in the literature on PPAR- α and γ -agonist in both diseases.

8. Anhang

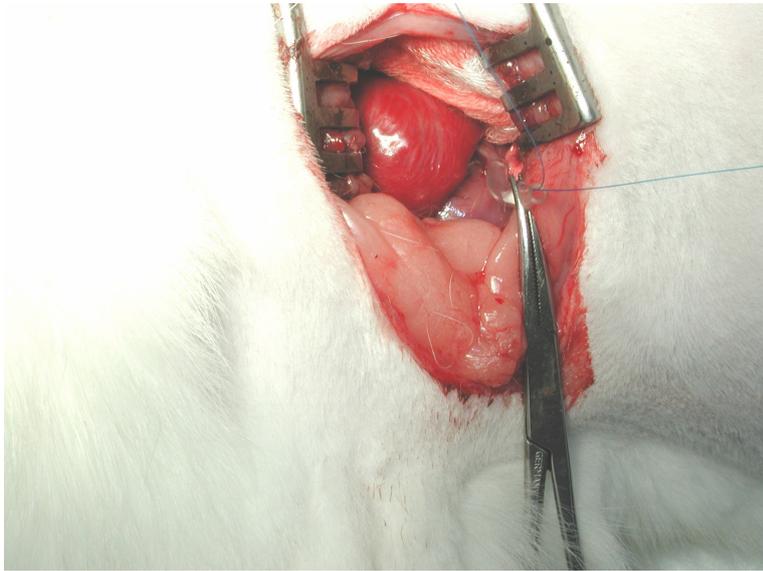


Abb. 26: Temporäre Koronarligatur am linken Ventrikel des Kaninchenherzens mit Eröffnung des Thorax

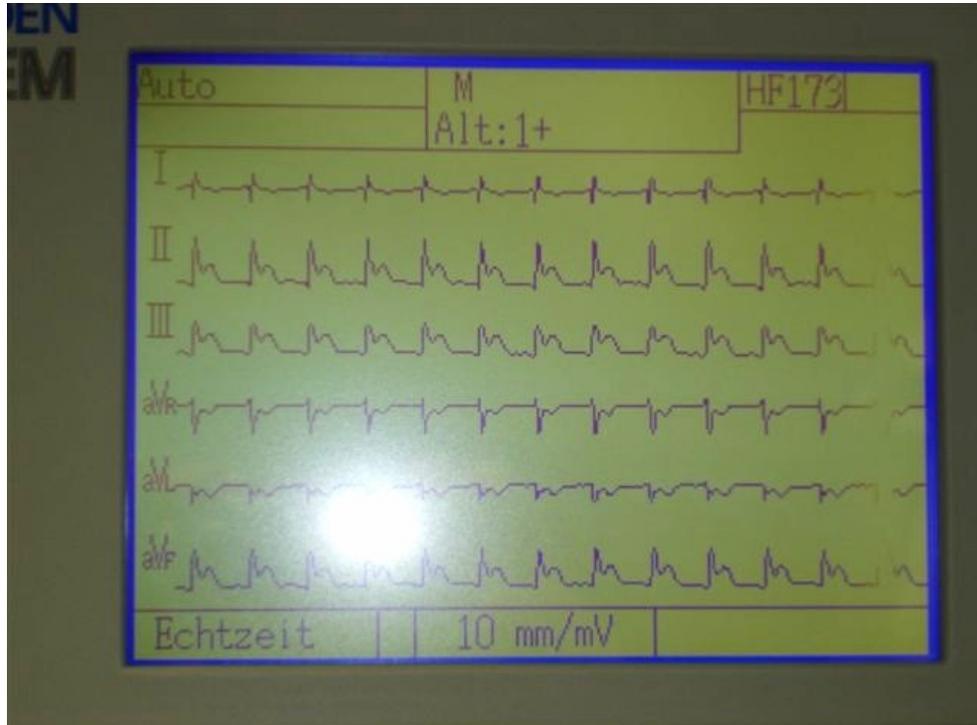


Abb. 27: Elektrokardiogramm (EKG) eines Hinterwandinfarktes im Stadium I. Nachweisbar nach Minuten bis Stunden nach Infarkt. Q klein oder nicht vorhanden, R normal/klein, monophasische ST-Hebung, T positiv

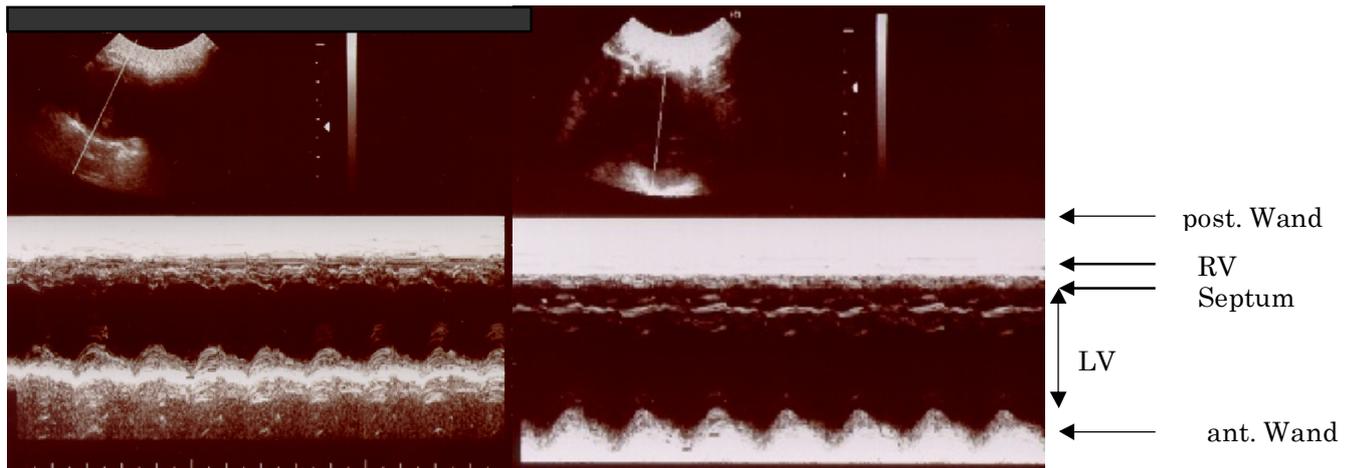


Abb. 28: Ultraschallaufnahme des linken Ventrikels im M-Mode eines Sham- (links) und eines MI-Kontrolltieres (rechts) 8 Wochen post OP; LV: linker Ventrikel; RV: rechter Ventrikel; post.: posterior; ant.: anterior



Abb. 29: Herzscheibe mit TTC-Färbung zeigt Infarkt (weiß), AAR (rot) und nichtinfarziertes Gebiet (schwarze Tintenfärbung)

9. Literaturverzeichnis

Abdelraham M, Sivarajah A, Thiemermann C (2005). *Beneficial effects of PPAR- γ ligands in ischemia-reperfusion injury, inflammation and shock*

Cardiovas Res 65: 772-781

Abraham WT (2000). *β -Blockers*

Arch Intern Med, 160: 1237-1247

American Heart Association (2005). *2005 heart and stroke statistical update*

Dallas: American Heart Association; 18-19

Antman EM, Giugliano RP, Gibson CM, et al. (1999). *Abciximab facilitates the rate and extent of thrombolysis: results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 14 trial*

Circulation, 99: 2720-2732

Antoniucci A, Santoro G, Bolognese L, Valenti R, Trapani M, Fazzani P (1998). *A clinical trial comparing primary stenting of the infarct-related artery with optimal primary angioplasty for acute myocardial infarction. Results from the FRESCO trial*

J Am Coll Cardiol, 31: 1234-1239

Anversa P, Kajstura J, Olivetti G (1996). *Myocyte death in heart failure*

Current Opinion Cardiol, 11: 245-251

Arai M, Alpert NR, MacLennan DH, Barton P, Periasamy M (1993).

Alterations in sarcoplasmic reticulum gene expression in human heart failure. A possible mechanism for alterations in systolic and diastolic properties of the failing myocardium

Circ Res, 72: 463-469

Arai M, Lefer DJ, So T, DiPaula A, Aversano T, Becker LC (1996). *An anti-CD 18 antibody limits infarct size and preserves left ventricular function in dogs with ischemia and 48-hours reperfusion*

J Am Coll Cardiol, 27: 1278-85

Aronoff S, Rosenblatt S, Braithwaite S, Egan JW, Mathisen AL, Schneider RL (2000). *Pioglitazone hydrochloride monotherapy improves glycemic control in the treatment of patients with type 2 diabetes: a 6 month randomised placebo-controlled dose-response study*

Diabetes Care, 23: 1605-1611

Asakawa M, Takano H, Nagai T, Uozumi H, Hasegawa H, Kubota N, Saito T, Masuda Y, Kadowaki T, Komuro I (2002). *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma plays a critical role in inhibition of cardiac hypertrophy in vitro and in vivo*

Circulation, 105(10): 1240-1246

Baeuerle PA, Baichwal VR (1997). *NF-kappa B as a frequent target for immunosuppressive and anti-inflammatory molecules*

Adv Immunol, 65: 111-137

Baeuerle PA (1998). *IkappaB-NF-kappa B structures: at the interface of inflammation control*

Cell, 95: 729-731

Baig MK, Mahon N, McKenna WJ, Caforio A, Borow R, Francis G, Gheorghide M (1998). *The pathophysiology of advanced heart failure*

Am Heart J, 135: S216-S230

Barbier O, Torra IP, Duguay C, Blanquart C, Fruchart JC, Glineur C, Staels B (2002). *Pleiotropic actions of peroxisome proliferator-activated receptors in lipid metabolism and atherosclerosis*

Arterioscler Thromb Vasc Biol, 22: 717-726

Barger PM, Kelly DP (2000). *PPAR signaling in the control of cardiac energy metabolism*

Trends Cardiovasc Med, 10: 238-245

Barman-Balfour JA, Plosker GL (1999). *Rosiglitazone*

Drugs 57: 921-930

Becker BF, Heindl B, Kupatt C, Zahler S (2000). *Endothelial function and hemostasis*

Z Kardiol, 89: 160-167

Beuckelmann DJ, Nabauer M, Erdmann E (1992). *Intracellular calcium handling in isolated ventricular myocytes from patients with terminal heart failure*

Circulation, 85: 1046-1055

Black SC (2000). *In vivo models of myocardial ischemia and reperfusion injury. Application to drug discovery and evaluation*

J of Pharmacol and Toxicol Methods, 43: 153-167

Böhm M (2002). *Pathophysiology of chronic heart failure today*

Herz, 27: 75-91

Bocan MA (1998). *Animal models of atherosclerosis and interpretation of drug intervention*

C Pharmacol Design, 4: 37-52

Boersma E, Maas ACP, Deckers JW, Simoons ML (1996). *Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour*

Lancet, 348: 771-775

Boland DG, Abraham WT (1998). *Natriuretic peptides in heart failure*

Congestive Heart Fail, 4: 23-33

Brandt JM, Djouadi F, Kelly DP (1998). *Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferator-activated receptor alpha*
J Biol Chem, 273: 23786-23792

Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT (1994). *Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone*
J Mol Cell Cardiol, 26: 809-820

Bulhak A, Sjoquist PO, Pernow J (2004). *Activation of PPAR-alpha protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury: Involvement of nitric oxide*
Cardiovasc J S Afr, 15(4 Suppl 1): S11-2

Carlsen A, Alexander G, Austenaa LM, Ebihara K, Blomhoff R (2004). *Molecular imaging of the transcription factor NF- κ B, a primary regulator of stress response*
Mutation Res, 551: 991-211

Chalmers JP, West MJ, Cyran J (1987). *Placebo-controlled study of lisinopril in congestive heart failure: a multicentre study*
J Cardiovasc Pharmacol, 9: S89-S97

Cheng L, Ding G, Qin Q, Huang Y, Lewis W, He N, Evans RM, Schneider MD, Brako FA, Xiao Y, Chen YE, Yang Q (2004). *Cardiomyocyte-restricted peroxisome proliferator-activated receptor- δ deletion perturbs myocardial fatty acid oxidation and leads to cardiomyopathy*
Nat Med, 10(11): 1245-1250

Chinetti G, Griglio S, Antonucci M, Torra IP, Delerive P, Majd Z, Fruchart JC, Chapman J, Najib J, Staels B (1998) *Activation of proliferator-activated receptors alpha and gamma induces apoptosis of human monocytederived macrophages*
J Biol Chem, 273: 25573-25580

Chiu HC, Kovacs A, Ford DA, Hsu FF, Garcia R, Herrero P, Saffitz JE, Schaffer JE (2001). *A novel mouse model of lipotoxic cardiomyopathy*

J Clin Invest, 107: 813-822

Cittadini A, Monti MG, Isgaard J, Casaburi C, Strömer H, Di Gianni A, Serpico R, Saldamarco L, Vanasia M, Sacca L (2003). *Aldosterone receptor blockade improves left ventricular fibrillation threshold in experimental heart failure*

Cardiovasc Res, 58: 555-564

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N (2000). *Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling*

J Am Coll Cardiol, 35: 569-582

Collin M, Thiemermann C (2003). *The PPAR-gamma ligand 15-deoxy (Delta 12, 14) prostaglandin J (2) reduces the liver injury in endotoxic shock*

Eur J Pharmacol, 476; 257-258

Cowie MR (2003). *Estimating prognosis in heart failure: time for a better approach*

Heart, 89: 587-588

Csont T, Viappiani S, Sawicka J, Slee S, Altatejos JY, Batinic-Haberle I, Schulz R (2005). *The involvement of superoxide and iNOS-derived NO in cardiac dysfunction induced by pro-inflammatory cytokines*

J Moll Cell Cardiol, 2005

Cuzzocrea S, Wayman NS, Mazzon E, Dugo L, Di Paola R, Serraino I, Britti D, Chatterjee PK, Caputi AP, Thiemermann C (2002). *The cyclopentenone prostaglandin 15-deoxy-Delta (12, 14)-prostaglandin J (2) attenuates the development of acute and chronic inflammation*

Mol Pharmacol, 61: 997-1007

Cuzzocrea S, Pisano B, Dugo L, Ianaro A, Patel NS, Paola RD, Genovese T, Chatterjee PK, Rosa MD, Caputi AP, Thiemermann C (2003). *Rosiglitazone and 15-deoxy-(Delta)/12, 14-prostaglandin J (2), ligands of the peroxisome proliferator-activator*

Br J Pharmacol, 140: 366-376

David PF, Raymond JG, Nicolas AF, Paul AG, Florence S (2002). *The effect of blockade of the CD11/CD18 integrin receptor on infarct size in patients with acute myocardial infarction treated with direct angioplasty: the results of the HALT-MI study*

J Am Col Cardiol, 7: 1199-1204i

Delerive P, De Bosscher K, Besnard S, Vanden Berghe W, Peters JM, Gonzalez FJ, Fruchart JC, Tedgui A, Haegeman G, Staels B (1999).

Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF-kappaB and AP-1

J Biol Chem, 274: 32048-32054

Dell'Italia LJ, Meng QC, Balcells E, Wei CC, Palmer R, Hageman GR, Durand J, Hankes GH, Oparil S (1997). *Compartmentalization of angiotensin II in the dog heart. Evidence for independent mechanisms in intravascular and interstitial spaces*

J Clin Invest, 100: 253-258

Deutsche Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie e.V. (1996).

Drexler H (1998). *The endothelium as a therapeutic target in heart failure*
Circulation, 98(24): 2652-2655

Disch DL, Rader TA, Cresci S, Leone TC, Barger PM, Vega R, Wood PA, Kelly DP (1996). *Transcriptional control of a nuclear gene encoding a mitochondrial fatty acid oxidation enzyme in transgenic mice: role for nuclear receptors in cardiac and brown adipose expression*

Mol Cell Biol, 16: 4043-4051

Djouadi F, Brandt JM, Weinheimer CJ, Leone TC, Gonzalez FJ, Kelly DP (1999). *The role of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR alpha) in the control of cardiac lipid metabolism*

Prostagl Leukot Essent Fatty Acids, 60: 339-43

Drexler H, Kastner S, Strobel A, Studer R, Brodde OE, Hasenfuss G (1998). *Expression, activity and functional significance of inducible nitric oxide synthase in the failing human heart*

J Am Coll Cardiol, 32: 955-63

ECC Guidelines (2000). *The era of reperfusion*

Circulation, 102: 1-172

Enomoto N, Takei Y, Hirose M, Konno A, Shibuya T, Matsuyama S, Suzuki S, Kitamura KI, Sato N (2003). *Prevention of ethanol-induced liver injury in rats by an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, pioglitazone*

J Pharmacol Exp Ther, 306: 846-854

European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee (ESC/ACC) for the redefinition of myocardial infarction (2000). *Myocardial infarction redefined. A consensus document of the Joint ESC/ACC for the redefinition of myocardial infarction*

Eur Heart J, 21: 1502-1513

Finck BN, Kelly DP (2002). *Peroxisome proliferator-activated receptor alpha signaling in the gene regulatory control of energy metabolism in the normal and diseased heart*

J Mol Cell Cardiol, 34(10): 1249-1257

Forman BM, Chen J, Evans RM (1997). *Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors alpha and delta*

Förstermann U, Schmidt HH, Pollock JS, Sheng H, Mitchell JA, Warner TD, Nakane M, Murad F (1991). *Isoforms of nitric oxide synthases. Characterization and purification from different cell types*

Biochem Pharmacol, 42: 1849-1857

Francis GA, Annicotte JS, Auwerx J (2003). *PPAR- α effects on the heart and other vascular tissues*

Am J Physiol Heart Circ Physiol, 285: H1-H9

Frantz S, Hu K, Widder J, Bayer B, Witzel CC, Schmidt I, Galuppo P, Strotmann J, Ertl G, Bauersachs J (2004). *Peroxisome proliferator activated-receptor agonism and left ventricular remodeling in mice with chronic myocardial infarction*

Brit J Pharmacol, 141: 9-14

Fredenrich A, Grimaldi P (2005). *PPAR delta: an uncompletely known nuclear receptor*

Diabetes Metab, 31: 23-27

Freed MI, Marcovina SM, Kreider MM, Biswas N, Brunzell JD (2002). *Effects of rosiglitazone alone and in combination with atorvastatin on the metabolic abnormalities in type 2 diabetes mellitus*

Am J Cardiol, 90: 947-952

Freimann PC, Mitchell GG, Heistadt DD, Armstrong ML, Harrison DG (1986). *Atherosclerosis impairs endothelium-dependent vascular relaxation to acetylcholin and thrombin in primates*

Circ Res Vol, 58: No 6

Fuchs M, Drexler H (2000). *Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz*
Der Internist, 41: 93-104

Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, et al. (1992). *The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes*
N Engl J Med, 326: 242-250, 310-318

Füllert S, Schneider F, Haake E (2002). *Effects of pioglitazone in non-diabetic patients with arterial hypertension: a double-blind placebo-controlled study*
J Clin Endocrinol Metab, 87: 5503-5506

Gheorghide M, Hall VB, Jacobsen G, Alam M, Rosman H, Goldstein S (1995). *Effects of increasing maintenance dose of digoxin on left ventricular function and neurohormones in patients with chronic heart failure treated with diuretics and angiotensin-converting-enzyme inhibitors*
Circulation, 92: 1801-1807

Gheorghide M, Cody RJ, Francis GS, McKenna WJ, Young JB, Bonow RO (1998). *Current medical therapy for advanced heart failure*
Am Heart J, 132: 231-248

Gomberg-Maitland M, Baran DA, Fuster V (2001). *Treatment of congestive heart failure*
Arch. Intern. Med., 161: 342-352

Goya K, Sumitani S, Xu X, Kitamura T, Yamamoto H, Kurebayashi S, Saito H, Kouhara H, Kasayama S, Kawasw I (2004). *Peroxisome proliferator-activated receptor α agonists increase nitric oxide synthase expression in vascular endothelial cells*
Arterioscler Thromb Vasc Biol, 24: 658-663

Guerro-Millo M, Gervois P, Raspé E; Madsen L, Poulain P, Derudas BB, Herbert JM, Winegar DA, Willson TM, Fruchart JC, Berge RK, Staels B (2000). *PPAR alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity*

J Biol Chem, (March): 1-22

Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, Freed MI (2002). *Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus*

Circulation, 106: 679-684

Hall S, Cigarroa CG, Marcoux L, Risser CG, Grayburn PA, Eichhorn EJ (1995). *Time course of improvement of left ventricular function, mass and geometry in patients with congestive heart failure treated with beta-adrenergic blockade*

J Am Coll Cardiol, 25: 1154-1161

Hausmann D, Drexler H (1998). *Das akute Koronarsyndrom*

Der Internist, 39: 133-141

Hill GE (1998). *Cardiopulmonary bypass-induced inflammation: is it important?*

J Cardiothor Vasc Anesth, 12 (Suppl): 21-25

Hort W (2000). *Pathologie des Endokard, der Kranzarterien und des Myokard.*

Springer, Berlin Heidelberg New York Tokio: 209-553

Hort W (2001). *Pathologie des akuten Herzinfarktes*

Der Internist, 42: 631-640

Huang Y, Walker KE, Hanley F, Narula J, Houser SR, Tulenko TN (2004). *Cardiac systolic and diastolic dysfunction after a cholesterol-rich diet*

Circulation, 109(1): 97-102

ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) collaborative group (1992). *Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17.187 cases of suspected acute myocardial infarction*
Lancet, 2: 349-360

Iglarz M, Touyz RM, Viel EC, Paradis P, Amiri F, Diep QN, Schiffrin EL (2003). *Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and receptor-gamma activators prevent cardiac fibrosis in mineralocorticoid-dependent hypertension*
Hypertension, 42(4): 737-743

Jackson G, Gibbs CR, Davies MK, Lip GYH (2000). *Heart failure pathophysiology*
BMJ, 320: 167-170

Jayakody RL, Kappagoda CT, Thompson ABR, Kappagoda CT (1985). *Cholesterol feeding impairs endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta*
Can J Physiol Pharmacol, 63: 1206-1209

Jennings RB, Reimer K (1991). *The cell biology of acute myocardial ischemia*
Annu Rev Med, 42: 225-246

Jiang C, Ting AT, Seed B (1998). *PPAR- γ agonists inhibits production of monocyte inflammatory cytokines*
Nature, 391: 82-86

Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J (1999). *The role of neutrophils in myocardial ischemia/reperfusion injury*
Cardiovas Res, 43: 860-878

Jung O, Jung W, Malinski T, Wiemer G, Schoelkens BA, Linz W (2000). *Ischemic preconditioning and infarct mass: the effect of hypercholesterolemia and endothelial dysfunction*
Clin Exp Hypertens, 22(2). 165-179

Jung O, Albus U, Lang HJ, Busch AE, Linz W (2004). *Effects of acute chronic treatment with the sodium hydrogen exchanger 1 (NHE-1) inhibitor cariporide on myocardial infarct mass in rabbits with hypercholesterolaemia*

Basic Clin Pharmacol Toxicol, 95(1): 24-30

Kamran Baig M, Mahon N, McKenna WJ, Caforio A, Bonow R, Francis G, Gheorghidade M (1998). *The pathophysiology of advanced heart failure*

Am Heart J, 135: S216-S230

Kajstura J, Cigola E, Malhotra A, Li P, Cheng W, Meggs LG, Anversa P (1997). *Angiotensin II induces apoptosis of adult ventricular myocytes in vitro*

J Mol Cell Cardiol, 29: 859-870

Kersten S, Desvergne B, Wahli W (2000). *Roles of PPARs in health and disease*

Nature 405: 421-424

Kindermann M, Janzen I, Henne B, Böhm M (2002). *Chronic heart failure-diagnosis*

Dtsch Med Wochenschr, 127: 1083-1088

Kis A, Yellon DM, Baxter GF (2003). *Role of nuclear factor-kappa B activation in acute ischemic-reperfusion injury in myocardium*

Br J Pharmacol, 138(5): 894-900

Koch T, Masche UP (2000). *Rosiglitazon*

Pharma-Kritik, 21/09

Kon K, Ikejima K, Hirose M, Yoshikawa M, Enomoto N, Kitamura T, Takei Y, Sato N (2002). *Pioglitazone prevents early-phase hepatic fibrogenesis caused by carbon tetrachloride*

Biochem Biophys Res Commun, 291: 55-61

Komers R, Vrana A (1998). *Thiazolidinediones – tools for the research of metabolic syndrome X*

Physiol Res 47: 215-225

Kremastinos DT, Bofilis E, Karavolias GK, Papalois A, Kaklamanis L, Iliodromitis EK (2000). *Preconditioning limits myocardial infarct size in hypercholesterolemic rabbits*

Atherosclerosis, 150(1): 81-89

Kritchevsky D, Tepper SA, Kim HK, Story JA, Vesselinovitch D, Wissler RW (1976). *Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets. Comparison of peanut, corn, butter and coconut oil*

Exp Mol Pathol, 24(3): 375-391

Krum H, Bigger T, Goldsmith RL, Packer M (1995). *Effect of long-term digoxin therapy on autonomic function in patients with chronic heart failure*

J Am Coll Cardiol, 25: 289-294

Kukreja RC (2002). *NF- κ B activation during ischemia/reperfusion in heart: friend or foe?*

J Mol Cell Cardiol, 34: 1301-1304

Lebovitz HE, Dole JF, Patwardhan R, Rappaport EB, Freed MI (2001). *Rosiglitazone monotherapy is effective in patients with type 2 diabetes*

J Clin Endocrinol Metab, 86: 280-288

Ledl M, Hohenecker J, Francesconi C, Roots I, Bauer MF, Roden M (2005). *Acute myopathy in a type 2 diabetic patient on combination therapy with metformin, fenofibrate and rosiglitazone*

Diabetologia, Aug 17

Le Grand B, Vie B, Faure P, Degryse AD, Mouillard P, John GW (1995). *Increased resistance to ischemic injury in the isolated perfused atherosclerotic heart of the cholesterol-fed rabbit*

Cardiovasc Res, 30(5): 689-696

Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkinson WO, Willson TM, Kliewer SA (1995). *An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma)*

J Biol Chem, 270: 12953-12956

Lehmann JJ, Barger PM, Kovacs A, Saffitz JE, Medeiros DM, Kelly DP (2000). *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis*

J Clin Invest, 106: 847-856

Lemberger T, Desvergne B, Wahli W (1996). *Peroxisome proliferator-activated-receptors: a nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology*

Ann Rev Cell Dev Biol, 12: 335-363

Leone TC, Weinheimer CJ, Kelly DP (1999). *A critical role for the peroxisome proliferator-activated receptor α in the cellular fasting response: the PPAR- α null mouse as a model of fatty acid oxidation disorders*

Proc Natl Acad Sci USA, 96: 7473-7478

Li AC, Brown KK, Silvestre MJ, Willson TM, Palinski W, Glass CK (2000). *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice*

J Clin Invest, 106: 523-531

Liang F, Wang F, Zhang S, Gardner DG (2003). *Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) α agonists inhibit hypertrophy of neonatal rat cardiac myocytes*

Endocrinology, 144(9): 4187-4194

Linz W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Schölkens BA (1995). *Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors*
Am Soc Pharmacol and Exp Therap, 47:1

Liu HR, Tao L, Gao E, Lopez Bl, Christopher TA, Willette RN, Ohlstein EH, Yue TL, Ma XL (2004). *Anti-apoptotic effects of rosiglitazone in hypercholesterolemic rabbits subjected to myocardial ischemia and reperfusion*
Cardiovasc Res, 62: 135-144

Löwel H, Engel S, Hörmann A, et al. (1999). *Akuter Herzinfarkt und plötzlicher Herztod aus epidemiologischer Sicht*
Sicht. Intensivmedizin, 36: 652-661

Lu L, Chen SS, Zhang JQ, Ramires FJ, Sun Y (2004). *Activation of nuclear factor- κ B and its proinflammatory mediator cascade in the infarcted rat heart*
BBRC, 321: 879-885

Luo TY, Su MJ, Yang YF, Liu YB, Liang HC, Wu CC, Lee Yt (2004). *Effect of hypercholesterolemia on myocardial function in New Zealand white rabbits*
Biomed Sci, 11(6): 829-837

Mair J, Hammerer-Lercher A, Puschendorf B (2001). *The impact of cardial natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure*
Clin Chem Lab Med, 39: 571

Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McLord J, Hollander JE, Duc P, Omland T, Storrow AB, Abraham WT et al. (2002). *Rapide measurment of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure*
NEngl J Med, 347(3): 161-167

Martens F (2001). *Akuter Myokardinfarkt: Lyse schon im Notarztswagen?*
Der Internist, 42: 682-685

Marx N, Sukhova G, Collins T, Libby P, Plutzky J (1999). *PPAR α activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule 1 expression in human endothelial cells*

Circulation, 99: 3125-3131

Marx N, Hombach V (2001). *Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the vessel wall: new regulators of gene expression in vascular cells*

Z Cardiol, 90: 470-477

Marx N, Fröhlich J, Siam L, Ittner J, Wierse G, Schmidt A, Scharnagl H, Hombach V, Koenig W (2002). *Antidiabetic PPAR-gamma activator rosiglitazone reduces MMP-9 serum levels in type-2 diabetic patients with coronary artery disease*

Circulation, 106: A2783

Marx N (2002 a). *Die Bedeutung von Glitazonen*

J Kardiologie, 9: 563-566

Marx N (2002 b). *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and atherosclerosis*

Curr Hypertens Rep, 4: 71-77

Matthei S, Stumvoll M, Häring HU (2001). *Thiazolidindione (Insulinsensitizer). Neue Aspekte in der Therapie des Diabetes mellitus Typ 2.*

Deutsches Ärzteblatt 98, Heft 14: B774-B780

Middelkauff HR (1997). *Mechanisms and implications of autonomic nervous system dysfunction in heart failure*

Current Opinion Cardiol, 12: 265-275

Millner RW, Mann JM, Pearson I, Pepper JR (1991). *Experimental model of left ventricular failure*

Ann Thorac Surg, 52(1): 78-83

Millner RW, Burrows M, Pearson I, Pepper JR (1993). *Dynamic cardiomyoplasty in chronic left ventricular failure: an experimental model*

Ann Thorac Surg, 55(29): 493-501

Moncada S, Higgs A (1993). *The L-arginine-nitric oxide pathway*

N Engl J Med, 329: 2002-2012

Morishita R, Sugimoto T, Aoki M, Kida I, Tomita N, Moriguchi A, Maeda K, Sawa Y, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T (1997). *In vivo transfection of cis element „decoy“ against nuclear factor-kappaB binding site prevents myocardial infarction*

Nat Med, 3: 894-899

Motojima K (2002). *A metabolic switching hypothesis for the first step in the hypolipidemic effects of fibrates*

Biol Pharm Bull, 25 (11): 1509-1511

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer-Korting M (1997). *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*

8. Aufl. WVG, Stuttgart

Naito Y, Takagi T, Uchiyama K, Handa O, Tomatsuri N, Imamoto E, Kokura S, Ichikawa H, Yoshida N, Yoshikawa T (2002). *Suppression of intestinal ischemia-reperfusion injury by a specific peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand, pioglitazone, in rats*

Redox Rep, 7: 294-299

Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Saubermann LJ, Kadowski T, Blumberg RS, Nagai R, Matsubashi N (2001). *Endogenous PPAR gamma mediates anti-inflammatory activity in murine ischemia-reperfusion injury*

Gastroenterology, 120: 460-469

Nikolaidis LA, Levine TB (2004). *Peroxisome proliferator activator receptors (PPAR), insulin resistance, and cardiomyopathy*

Cardiology in Review, 12: 158-170

Nordt TK, Bode C (2001). *Thrombolysetherapie des akuten Herzinfarktes*

Der Internist, 42: 659-664

Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Takanashi M, Irukayama-Tomobe Y, Yamaguchi I (2004). *Myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats is ameliorated by the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activator fenofibrate, partly by suppressing inflammatory responses associated with the nuclear factor kappa-B pathway*

J Am Coll Cardiol, 43: 1481-1488

Olefsky JM, Saltiel AR (2000). *PPAR gamma and the treatment of insuline resistance*

Trends Endocrinol Metab, 11(9): 362-368

Osterziel KJ, Dietz R (2000). *Aktueller Stand der Therapie der chronischen Herzinsuffizienz*

Der Internist, 41: 137-144

Overbeck P (2004). *Eplerenon, neue Option für die Prävention nach Myokardinfarkt*

Ärzte Zeitung, Forschung und Praxis 2004

Pacher R, Bergler-Klein J, Globits S, Teufelsbauer H, Schnuller M, Krauter A, Ogris E, Rodler S, Wutte M, Hartter E (1993). *Plasma big endothelin-1 concentrations in congestive heart failure patients with or without systemic hypertension*

Am J Cardiol, 71: 1293-9

Park JL, Lucchesi BR (1999). *Mechanisms of myocardial reperfusion injury*
Ann Thorac Surg, 68: 1905-1912

Pena JR, Wolska BM (2005). *Differential effects of isoflurane and ketamine/inactin anesthesia on cAMP and cardiac function in FVB/N mice during basal state and β -adrenergic stimulation*
Basic Res Cardiol, 100: 147-153

Pennock GD, Yun DD, Agarwal PG, Spooner PH, Goldman S (1997). *Echocardiographic changes after myocardial infarction in a model of left ventricular diastolic dysfunction*
Am J Physiol, 273: H2018-H2019

Peters JM, Hennuyer N, Staels B, Fruchart JC, Fievet C, Gonzalez FJ, Auwerx J (1997). *Alterations in lipoprotein metabolism in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-deficient mice*
J Biol Chem, 272: 27307-27312

Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D (1997). *NIDDM as a disease of the innate immune system: Association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrom X*
Diabetologia, 40: 1286-1292

Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, Bittmann R, Hurley S, Kleimann J, Gatlin M (2003). *Eplerenone, a selective Aldosterone blocker in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction*
N Engl J Med, 348(22): 2271

Porter A, Kandalkar H, Jakobishvili Z, Sagie A, Imbar S, Battler A, Hasdai D (2005). *Left ventricular mural thrombus after anterior ST-segment-elevation acute myocardial infarction in the era of aggressive reperfusion therapy - still a frequent complication*

Coron Artery Dis, 16: 275-279

Rauchhaus M, Müller-Werdan U (2001). *Zytokine bei Herzerkrankungen*
Internist, 42: 75-84

Richardson A, Bayliss J, Scriven AJ, Parameshwar J, Poole-Willson PA, Sutton GC (1987). *Duoble-blind comparison of captopril alone against frusemide plus amiloride in mild heart failure*
Lancet, II: 709-711

Rickenbacher P (2001). *Herzinsuffizienz: Epidemiologie, Pathophysiologie*
Swiss Med Forum, 1/2

Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK (1998). *The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation*
Nature, 391: 79-82

Rodriguez A, Bernardi V, Fernandez M, Mauvecin C, Ayala F, Santaera O, Palacios I, Ambrose J (1998). *In-hospital and late results of coronary stents versus conventional balloon angioplasty in acute myocardial infarction (GRAMI trial)*
Am J Cardiol, 81: 1286-1291

Rosenberg RD, Aird WC (1999). *Vascular-bed specific hemostasis and hypercoaguable states*
N Engl J Med, 340: 1555-1564

Roskamm H, Reindell H (1996). *Herzkrankheiten*
4. Aufl. Springer-Verlag, Berlin

Rungwerth K, Schindler U, Gerl M, Schaefer S, Licher T, Busch AE, Ruetten H (2004). *Inhibition of Na⁺H⁺ exchange by cariporide reduces inflammation and heart failure in rabbits with myocardial infarction*

Br J Pharmacol, 142(7): 1147-1154

Rusnak JM, Kopecky SL, Clements IP, Gibbons RJ, Holland AE, Peterman HS, Martin JS, Saoud JB, Feldman RL, Breisblatt WM, Simons M, Gessler CJ Jr, Yu AS (2001). *An anti-CD11/18 monoclonal antibody in patients with acute myocardial infarction having percutaneous transluminal coronary angioplasty (the FESTIVAL study)*

Am J Cardiol, 88: 482-487

Sabbah HN, Sharova VG (1998). *Apoptosis in heart failure*

Prog Cardiovasc Dis, 40: 549-562

Sambandam N, Morabito D, Wagg C, Finck BN, Kelly DP, Lopaschuk GD (2005). *Chronic activation of PPAR-alpha is detrimental to cardiac recovery following ischemia*

Am J Physiol Heart Circ Physiol, Sep 9

Sawa Y, Bernotat-Danielowski S, Winkler B, Schaper J, Schaper W (1990). *Do neutrophils play a critical role in killing myocytes reversibly injured by hypoxia?*

J Moll Cell Cardiol, 24: 3-25

Scatena R, Martorana GE, Bottoni P, Giardina B (2004). *Mitochondrial dysfunction by synthetic ligands of peroxisome proliferator activated receptors*

IUBMB, 56(8): 477-482

Schäfer S, Wohlfahrt P, Ivashchenko Y, Rütten H, Falk E, Kramer W, Busch A, Linz W (2005). *V47-Aktivierung von Peroxisome Proliferator Activator Receptor- α verhindert Myokardhypertrophie und verbessert die myokardiale Funktion nach Koronarligatur: Mögliche Bedeutung der endothelialen NO Synthase*

71. Jahrestagung der Dt Ges f Kardiolog- u Kreislau fforschung, April 2005

Scheerer-Crosbie M, Ullrich R, Bloch KD, Nakajima H, Nasseri B, Aretz HAT, Lindsay ML, Vancon AC, Huang PL, Lee RT, Zapol WM, Picard MH (2001). *Endothelial nitric oxide synthase limits left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice*
Circulation, 104: 1286-1291

Schiffrin EL, Amiri F, Benkirane K, Iglarz M, Diep QN (2003). *Peroxisome proliferator-activated receptors vascular and cardiac effects in hypertension*
Hypertension, 42(2): 664-668

Schoonjans K, Staels B, Auwerx J (1996). *The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation*
Biochem Biophys Acta, 1302: 93-109

Schoonjans K, Auwerx J (2000). *Thiazolidinedions: an update*
The Lancet, 355: 1008-1010

Schrier RW, Abraham WT (1999). *Hormones and hemodynamics in heart failure*
N Engl J Med, 341: 577-585

Seki N, Bujo H, Jiang M, Shibasaki M, Takahashi K, Hashimoto N, Saito Y (2005). *A potent activator of PPAR α and γ reduces the vascular cell recruitment and inhibits the intimal thickening in hypercholesterolemic rabbits*
Atherosclerosis 178: 1-7

Shiomi T, Tsutsui H, Hayashidani S, Suematsu N, Ikeuch M, Wen J, Ishibashi M, Kubota T, Egashira K, Takeshita A (2002). *Pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist, attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction*
Circulation, 106: 3126-3132

Siegenthaler W (2000). *Klinische Pathophysiologie*

8. Aufl., Thieme Verlag

Silvestre JS, Robert V, Heymes C, Aupetit-Faisant B, Carayon A, Swynghedauw B, Mouas C, Moalic JM, Swynghedauw B, Delcayre C (1998). *Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat*

J Biol Chem, 273: 4883-4891

Silvestre JS, Heymes C, Oubenaissa A, Robert V, Aupetit-Faisant B, Carayon A, Swynghedauw B, Delcayre C (1999). *Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction: effects of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis.*

Circulation, 99: 2694-2701

Siminiak T, Ozawa T (1993). *Neutrophil mediated myocardial injury*

Int J Biochem, 25: 147-156

Shiojiri T, Wada K, Nakajima A, Katayama K, Shibuya A, Kudo C, Kadowaki T, Mayumi T, Yura Y, Kamisaki Y (2002). *PPAR gamma ligands inhibit nitrotyrosine formation and inflammatory mediator expressions in adjuvant-induced rheumatoid arthritis mice*

Eur J Pharmacol, 448: 231-238

Sivarajah A, Chatterjee PK, Patel NS, Todorovic Z, Hattori Y, Brown PA, Stewart KN, Mota-Filipe H, Cuzzocrea S, Thiemermann C (2003). *Agonists of peroxisome-proliferator activated receptor-gamma reduce renal ischemia/reperfusion injury*

Am J Nephrol, 23: 267-276

Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC (1998 a). *Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism*

Circulation, 98: 2088-2093

Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, Delerive P, Fadel A, Chinetti G, Fruchart JC, Najib J, Maclouf J, Tedgui A (1998 b). *Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPARalpha but not by PPARgamma activators*

Nature, 393: 790-793

Stary HC (1989). *Evolution and progression of atherosclerotic lesion in coronary arteries of children and young adults*

Atherosclerosis, 9 (Suppl. 1): 19-32

Statistisches Bundesamt (2005).

Pressemitteilung, Feb.2005

Steering Committee and membership of the Advisory Council to Improve Outcomes Nationwide in Heart Failure (1998). *Consensus recommendations for the management of chronic heart failure*

Am J Cardiol, 83: 2-38A

Stone G, Brodie B, Griffin J, Morice M, Costantini C, Goar FS, Overlie P, O'Neill W, Grines C (1998). *Prospective, multicenter study of the safety and feasibility of primary stenting in acute myocardial infarction: in-hospital and 30-day results of the PAMI Stent pilot trial*

J Am Coll Cardiol, 31: 23-30

Strauer BE (2001). *Akuter Myokardinfarkt*

Der Internist, 42: 629-630

Studer R, Reinecke H, Muller B, Holtz J, Just H, Drexler H (1994). *Increased angiotensin-I converting enzyme gene expression in the failing human heart. Quantification by competitive RNA polymerase chain reaction*

J Clin Invest, 94: 301-310

Sun Y, Zhang J, Lu L, Chen SS, Quinn MT, Weber KT (2002). *Aldosterone-induced inflammation in the rat heart: role of oxidative stress*

Am J Pathol, 161: 1773-1781

Suryapranata H, van`T Hof A, Hoorntje J, deBoer M, Zijlstra F (1998). *Randomized comparison of coronary stenting with balloon angioplasty in selected patients with acute myocardial infarction*
Circulation, 97: 2502-2505

Tacikowski T, Nowicka G, Bujko J, Walewska-Zielecka B, Dzieniszewski J (2005). *Influence of high-fat diet, rosiglitazone on lipid profile, insulin resistance and liver steatosis deveelopment*
Pol Arch Med Wewn, 113(3): 213-222

Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti A (2000). *Vascular effects of endothelin-1 in essential hypertension: relationship with cyclooxygenase-derived endothelium-dependent contracting factors and nitric oxide*
Cardiovasc Pharmacol, 35: S37-40

Takano H, Nagai T, Asakawa M, Toyozaki T, Oka T, Komuno I, Saito T, Masuda Y (2000). *Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α expression in neonatal rat cardiac myocytes*
Circ Res, 87: 596-602

Takehiro O, Takashi M, Satoshi S, Masakatsu T, Yoko IT, Iwao Y (2004). *Myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in deoxycorticosterone acetat-salt hypertensive rats is ameliorated by the peroxisome proliferator activated receptor-alpha activator fenofibrate, partly by suppressing inflammatory responses associated with nuclear factor-kappa-B pathway*
J Am Coll Cardiol, 8: 1481-1488

Tao L, Liu HR, Gao E, Teng ZP, Lopez BL, Christopher TA, Ma XL, Batinic-Haberle I, Willette RN, Ohlstein EH, Yue TL (2003). *Antioxodative, antinitritive,*

and vasculoprotective effects of a peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist in hypercholesterolemia

Circulation, 108: 2805-2811

Teissier E, Atsushi N, Chinetti G, Paumelle R, Cariou B, Fruchart JC, Brandes RP, Shah A, Staels B (2004). *Peroxisome proliferator-activated receptor α induces NADPH oxidase activity in macrophages, leading to the generation of LDL with PPAR- α activation properties*

Circ Res, 95: 1174-1182

Thiermann C (2004). *Ligands of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ and heart failure*

Br J Pharmacol, 141(1): 1-3

Thomson SP, Gibbons RJ, Smars PA, Suman VJ, Pierre RV, Santrach PJ, Jiang NS (1995). *Incremental value of the leukocyte differential and the rapid creatine kinase-MB isoenzyme for the early diagnosis of myocardial infarction*

Ann Intern Med, 122: 335-41

Trochu JN, Mital S, Zhang X, Xu X, Ochoa M, Liao JK, Recchia FA, Hintze TH (2003). *Preservation of NO Production by statins in the treatment of heart failure*

Cardiovasc Res, 60(2): 217-219

Tugwood JD, Aldridge TC, Lambe KG, Macdonald N, Woodyatt NJ (1996). *Peroxisome proliferator-activated receptors: structures and function*

Ann N Y Acad Sci, 804: 252-265

Vanhoutte PM (1989). *Endothelium and control of vascular function: state of the art lecture*

Hypertension, 13: 658-667

Verbeuren TJ, Jordaens FH, van Hove CE, van Hoydonck AE, Herman AG (1990). *Release and vascular activity of endothelium-derived relaxing factor in atherosclerotic rabbit aorta*

Europ J Pharmacol, 191: 173-184

Vita J, Keaney JF (2004). *Endothelial function a barometer for cardiovascular risk?*

Circulation, 106: 640-642

Waggoner AD (2000). *Congestive heart failure and the role of two – dimensional Doppler echocardiography: a primer of cardiac sonographers*

J Am Soc Echocardiogr, 13: 157-163

Walter S, Carlsson J, Schroder R, Neuhaus KL, Sorges E, Tebbe U (1999). *Enzymatic markers of reperfusion in acute myocardial infarction*

Herz, 24 (6): 430-9

Wang CH, Weisel RD, Liu PP, Fedak PWM, Verma S (2003). *Glitazones and heart failure: critical appraisal for the clinician*

Circulation, 107: 1350-1354

Watanabe K, Fujii H, Takahashi T, Kodama M, Aizawa Y, Ohta Y, Ona T, Hasegawa G, Naito M, Nakaiima T, Kamijo Y, Gonzalez F; Aoyama T (2000).

Constitutive regulation of cardiac fatty acid metabolism through peroxisome proliferator-activated receptor- α associated with age-dependent cardiac toxicity

J Biol Chem, 275: 22293-22299

Wayman NS, Hattori Y, McDonald MC, Mota-Filipe H, Cuzzocrea S, Pisaro B, Chatterjee PK, Thiemermann C (2002). *Ligands of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR- γ and PPAR- α) reduce myocardial infarct size*

FASEB J, 16: 1027-1040

Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, Heublein DM, Kao PC, Edwards WD, Brunett JC Jr. (1994). *Endothelin in human congestive heart failure*

Circulation, 89: 1580-6

Winkler K, Konrad T, Füllert S (2003). *Pioglitazone reduces atherogenic dense LDL particles in nondiabetic patients with arterial hypertension: a double-blind, placebo-controlled study*

Diabetes Care, 26: 2588-2594

Wollert KC, Studer R, Just H, Drexler H (1994). *Influence of lisinopril on long-term mortality in rats with chronic myocardial infarction: role of blood pressure reduction and tissue ACE inhibition*

Circulation, 90: 2457-2467

Xu Y, Lu L, Greyson C, Lee J, Gen M, Kinugawa K, Long CS, Schwartz GG (2003). *Deleterious effects of acute treatment with a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activator in myocardial ischemia and reperfusion in pigs*

Diabetes, 52(5): 1187-1194

Xu Y, Gen M, Lu L, Fox J, Weiss SO, Brown RD, Perlov D, Ahmad H, Zhu P, Greyson C, Long CS, Schwartz GG (2005). *PPAR-gamma activation fails to provide myocardial protection in ischemia and reperfusion in pigs*

Am j Physiol Heart circ Physiol, 288(3): H1314-1323

Xuan YT, Tang XL, Banerjee S, Takano H, Li RCX, Han H, Qui Y, Li JJ, Bolli R (1999). *Nuclear factor- κ B plays an essential role in the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits*

Circ Res, 84: 1095-1109

Ye JM, Doyle PJ, Iglesias MA, Watson DG, Cooney GJ, Kraegen EW (2001). *Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activation lowers muscle lipids and improves insulin sensitivity in high fat-fed rats*

Diabetes, 50: 411-417

Young ME, Laws FA, Goodwin GW, et al. (2001). *Reactivation of peroxisome proliferator-activated receptor α is associated with contractile dysfunction in hypertrophied rat heart*

J Biol Chem, 276: 44390-44395

Yue TL, Chen J, Bao W, Narayanan PK, Bril A, Jiang W, Lysok PG, Gu JL, Boyce R, Zimmermann DM, Hart TK, Buckingham RE, Ohlstein EH (2001). *In vivo myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by the peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist rosiglitazone*

Circulation, 104: 2588-2594

Yue TL, Bao W, Jucker BM, Gu JL, Romanic AM, Brown PJ, Cui J, Thudium DT, Boyce R, Burns-Kurtis CL, Mirabile RC, Aravinddhan K, Ohlstein EH (2003). *Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α protects the heart from ischemia/reperfusion injury*

Circulation, 108: 2393-2399

Zelis R, Flaim SF (1982). *Alterations in vasomotor tone in congestive heart failure*

Prog Cardiovasc Dis, 24: 437-459

Zhang H, Zhang A, Kohan DE, Nelson RD, Gonzalez FJ, Yang T (2005). *Collecting duct-specific deletion of peroxisome proliferator-activated receptor gamma blocks thiazolidinedione-induced fluid retention*

Proc Natl Acad Sci USA, 102(26): 9406-9411

10. Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wolfgang Linz (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) und Herrn Dr. Hartmut Rütten (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) für die Überlassung des Themas, die Anregungen zur Methodik sowie ihre profunde und stets freundliche Betreuung bei der Versuchsdurchführung und Anfertigung dieser Dissertationsschrift.

Des Weiteren möchte ich mich bei all jenen herzlich bedanken, die zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. Ernst Petzinger (Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Justus-Liebig-Universität Gießen) für die Vertretung der Arbeit am Fachbereich Veterinärmedizin und für die Begutachtung dieser Dissertation.

Frau Dr. Katrin Hiss (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) für die intensive Einarbeitung, das harmonische Arbeitsklima und ihre ständige Unterstützung und Hilfestellung.

Allen Mitarbeitern des Labors von Herrn Dr. Rütten, insbesondere Doris Gehring und Thomas Heibel, für die Hilfe bei der Durchführung der Versuche und die stets angenehme Arbeitsatmosphäre.

Frau Birgit Alka (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) für Ihre wertvolle Assistenz während den Operationen.

Herrn Dr. Martin Gerl und Frau Dr. Gabriele Biemer-Daub (beide Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) und deren Mitarbeitern für die Durchführung der Blutanalysen.

Frau Dr. Kerstin Veit (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) für die molekularbiologischen Untersuchungen der NF- κ B-Aktivierung.

Danksagung

Den Mitarbeitern des Labors von Herrn Dr. Dietmar Schmidt für die Durchführung der pharmakokinetischen Messungen von A2406 sowie den Mitarbeitern des Labors von Herrn Dr. Till Bussemer (beide Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) für die i.v. Formulierung von A2406 und Rosiglitazon.

An meine Kollegin Katja Huerland, die zeitgleich ihre Dissertation anfertigte und unersetzliche Gesprächs- und Diskussionspartnerin für mich war sowie an meine Kollegin Johanna Kuhlmann für ihre wertvolle Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Arbeit.

Danken möchte ich von Herzen **meiner Mutter und meinen Geschwistern**, die mich während meiner gesamten Ausbildung stets unterstützt haben und mir in jeder Hinsicht fürsorglich zur Seite standen.

Nicht zuletzt möchte ich **meinem Mann Gregor Duwensee** herzlichst danken, der mich ebenso zu jeder Zeit liebevoll unterstützt hat.

11. Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
GLEIBERGER WEG 4
D-35435 WETTENBERG

Tel: +49-(0)6406-4413 Fax: -72757
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5033-9



9 783835 195033 7

®