

Aus der Klinik für Kardiologie und
Pneumologie (Prof. Dr. med. G. Hasenfuß) der
Medizinischen Fakultät der Universität
Göttingen

**Einfluss von Ranolazin und Flunarizin in Kombination
mit d-Sotalol auf getriggerte Arrhythmien im isolierten
Kaninchenherzen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Nora Wallisch

aus

Berlin

Göttingen 2017

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

I. Berichterstatter: Prof. Dr. Markus Zabel

II. Berichterstatterin: Prof. Dr. Susanne Lutz

III. Berichterstatterin: Prof. Dr. Margarete Schön

Tag der mündlichen Prüfung: 20.09.2017

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden.....	15
2.1 Pharmaka	15
2.2 Langendorff-perfundiertes Kaninchenherz	15
2.2.1 Versuchsaufbau	16
2.2.2 Perfusionslösung	18
2.2.3 Versuchstiere	19
2.2.4 Isolierung des Kaninchenherzens	19
2.2.5 Ablation des AV-Knotens	19
2.2.6 Stimulation des Herzens	19
2.3 Datenaufzeichnung	20
2.3.1 Aufzeichnung volumengeleiteter Elektrokardiogramme	20
2.3.2 Aufzeichnung monophasischer Aktionspotentiale	20
2.3.3 Digitale Datenaufzeichnung	20
2.4 Versuchsprotokoll	23
2.4.1 Veränderungen der APD ₉₀ und der Dispersion von APD ₉₀	23
2.4.2 Induktion von TdP-Arrhythmien	23
2.5 Datenanalyse und Statistik	24
3. Ergebnisse	27
3.1 Veränderung der APD₉₀	27
3.1.1 Wirkung von d-Sotalol auf die APD ₉₀	27
3.1.2 Wirkung von Ranolazin auf die APD ₉₀	28
3.1.3 Wirkung von Flunarizin auf die APD ₉₀	30
3.2 Veränderung der Dispersion von APD₉₀	33
3.2.1 Wirkung von d-Sotalol auf die Dispersion von APD ₉₀	33
3.2.2 Wirkung von Ranolazin auf die Dispersion von APD ₉₀	33

3.2.3	Wirkung von Flunarizin auf die Dispersion von APD ₉₀	36
3.3	Einfluss auf das Auftreten von EADs und TdP-Arrhythmien	37
3.3.1	Einfluss von Ranolazin auf das Auftreten von EADs und TdP-Arrhythmien	37
3.3.2	Einfluss von Flunarizin auf das Auftreten von EADs und TdP-Arrhythmien	38
4.	Diskussion	44
4.1	Auswirkung der verschiedenen Substanzen auf die APD ₉₀	44
4.2	Antiarrhythmische Wirkung von Ranolazin	47
4.3	Effekt von Flunarizin auf TdP-Arrhythmien	51
4.4	Ausblick und klinische Relevanz	52
5.	Zusammenfassung	55
6.	Literaturverzeichnis	56

Abkürzungsverzeichnis

ACS	akutes Koronarsyndrom
ANOVA	Analysis of Variance (Varianzanalyse)
AP	Aktionspotential
APD	Aktionspotentialdauer
APD ₉₀	Aktionspotentialdauer bei 90% Repolarisation
ATX-II	Seeanemontoxin II
AV	atrioventrikulär
Ca ²⁺	Calcium
CARISA	Combination Assessment of Ranolazine in Stable Angina
CL	cycle length, Zykluslänge
EADs	early Afterdepolarizations, frühe Nachdepolarisationen
EKG	Elektrokardiogramm
Endolv	linksventrikulär endokardiale Ableitung
Endorx	rechtsventrikulär endokardiale Ableitung
Epi	epikardiale Ableitung
f	Frequenz
Flun	Flunarizin
Hz	Hertz
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
IC _{a, L}	Ca ²⁺ -Einstrom über L-Typ-Ca ²⁺ -Kanäle
IC _{a, T}	Ca ²⁺ -Einstrom über T-Typ-Ca ²⁺ -Kanäle
IE	internationale Einheit
IK ₁	einwärtsgerichtete Kaliumströme
IK _r	schneller Kaliumauswärtsstrom
IK _s	langsamer Kaliumauswärtsstrom
INa	Natriumeinstrom
INa, late	später Natriumeinstrom
INa-Ca	Strom infolge des Natrium-Calcium-Austauschers

I _{to}	transienter Kaliumauswärtsstrom
K ⁺	Kalium
LV	linksventrikulär
M, mM, μM, nM	Molar, Millimolar, Mikromolar, Nanomolar
MAP	monophasische Aktionspotentiale
MARISA	Monotherapy Assessment of Ranolazine In Stable Angina
MERLIN	Metabolic Efficiency with Ranolazine for Less Ischemia in Non-ST elevation acute coronary syndrome
Mg ²⁺	Magnesium
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
mm ²	Quadratmillimeter
mN	Millinewton
mol, mmol, μmol, nmol	Mol, Millimol, Mikromol, Nanomol
mV	Millivolt
n	Anzahl der Herzen
Na ⁺	Natrium
NCX	Natrium-Calcium-Austauscher
NSTEMI	Nicht-ST-Hebungsinfarkt
P	Signifikanzniveau
pA	Pikoampere
Peak I _{Ca}	schneller Calciumeinstrom
Peak I _{Na}	schneller Natriumeinstrom
pF	Pikofarad
Ran	Ranolazin
RM-ANOVA	Repeated-Measures Analysis Of Variance
RV	rechtsventrikulär
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
Sot	d-Sotalol
TdP	Torsade de pointes

Legende zu den Abbildungen 3.1-3.23

n Anzahl der Herzen, für alle Abbildungen gilt n=5

#Kontrolle vs. d-Sotalol

*Kontrolle vs. d-Sotalol und Ranolazin bzw. Flunarizin

§d-Sotalol vs. d-Sotalol und Ranolazin bzw. Flunarizin

\$ d-Sotalol: normale K^+ -Konzentration vs. niedrige K^+ -Konzentration

+ d-Sotalol und Ranolazin bzw. Flunarizin: normale K^+ -Konzentration vs.
niedrige K^+ -Konzentration

1. Einleitung

Torsade de pointes (TdP)-Arrhythmien stellen eine potentiell lebensbedrohliche Form von polymorphen ventrikulären Tachykardien dar. Sie können als proarrhythmischer Effekt bei der Pharmakotherapie mit Klasse III-Antiarrhythmika wie d-Sotalol auftreten (Carlsson et al. 1990; Vos et al. 1995). Aufgrund der inhibierenden Wirkung auf verschiedene Kaliumströme am Herzen verlängern die meisten Klasse III-Antiarrhythmika die Aktionspotentialdauer (APD) besonders bei langsamen Herzfrequenzen. Verschiedene Studien zum späten Natriumeinstrom ($I_{Na, late}$) haben gezeigt, dass dieser in der Lage ist, das Aktionspotential (AP) am Herzen und damit auch das QT-Intervall zu verlängern. Somit führt eine Inhibition des $I_{Na, late}$ zu einer Verkürzung des APs und reduziert das QT-Intervall. Zum jetzigen Zeitpunkt ist Ranolazin der potenteste klinische Inhibitor des $I_{Na, late}$ (Sossalla und Maier 2012). Nicht außer Acht zu lassen ist die hemmende Wirkung von Ranolazin auf den schnellen Kaliumauswärtsstrom (I_{Kr}), welche ebenfalls APD und QT-Intervall verlängern kann (Antzelevitch et al. 2004b; Rajamani et al. 2008). Aufgrund dessen ist mit Ausnahme von Amiodaron die gemeinsame Verabreichung von Ranolazin mit Klasse III-Antiarrhythmika kontraindiziert. Für ein besseres Verständnis der Zusammenhänge folgt zunächst eine Einführung in die Physiologie des Myokards und in die Pathophysiologie von TdP-Arrhythmien.

Das Myokard besteht aus quergestreiften Muskelzellen, den sogenannten Myozyten. Myozyten sind über die Disci intercalares (Glanz-Streifen) miteinander verbunden und können im Bereich von Gap junctions die Erregung auf benachbarte Zellen übertragen (Sjostrand et al. 1958; Makowski et al. 1977). Sie bilden ein funktionelles Synzytium. Ein AP breitet sich also immer über alle Herzmuskelzellen aus. Grundlage der Erregbarkeit von Herzmuskelzellen ist die Fähigkeit, ein elektrisches Potential über der Zellmembran aufzubauen. Da die Zellmembran nur für bestimmte Ionen durchlässig ist (selektive Permeabilität), entsteht eine elektrische Potentialdifferenz zwischen Extra- und Intrazellularraum, das Membranpotential. Im Ruhezustand ist die Membran besonders für K^+ -Ionen durchlässig (Roden et al. 2002) und für Na^+ -Ionen nahezu undurchlässig (Monsuez 1997; Roden et al. 2002). Somit ist das Ruhepotential ein K^+ -Diffusionspotential, welches bei circa -90 mV liegt. Erreicht ein elektrischer Stimulus die Kardiomyozyten, kommt es zu einer Verschiebung des Membranpotentials zu einem positiven Potential von $+30$ mV bis

+50 mV. Dieser Aufstrich des APs erfolgt durch die Aktivierung von schnellen Na^+ -Kanälen und wird als Depolarisation bezeichnet (Abbildung 1.1). Es kommt zur Muskelkontraktion.

Physiologischerweise werden die Na^+ -Kanäle nach wenigen Millisekunden inaktiviert und schließen sich (Bers 2001). Einige dieser Kanäle bleiben jedoch geöffnet oder öffnen sich während des APs erneut (Belardinelli et al. 2006).

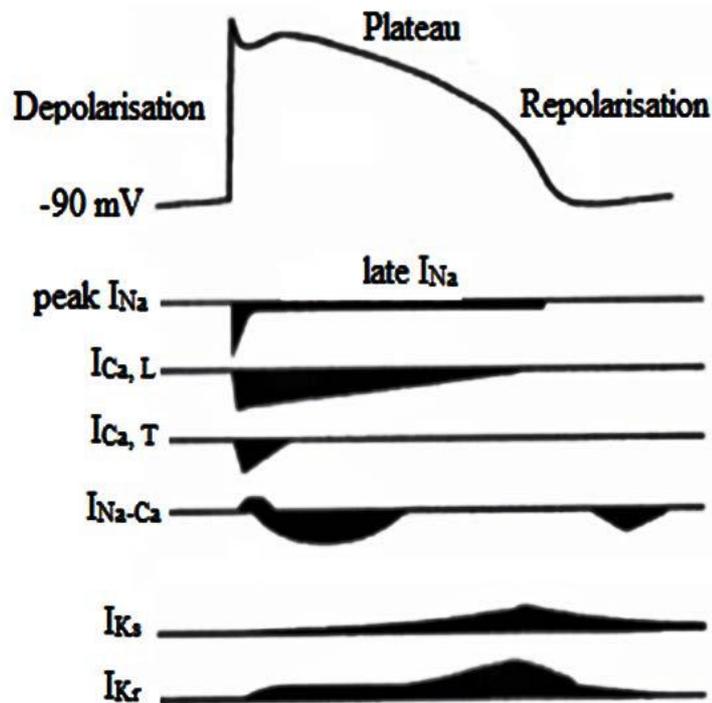


Abbildung 1.1 Schematische Abbildung des humanen kardialen APs mit zeitlicher Darstellung der dazu beitragenden Ionenströme.

I_{Na} Na^+ -Einstrom, $I_{\text{Ca,L}}$ Ca^{2+} -Einstrom über L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle, $I_{\text{Ca,T}}$ Ca^{2+} -Einstrom über T-Typ- Ca^{2+} -Kanäle, $I_{\text{Na-Ca}}$ Strom infolge des Na^+ - Ca^{2+} -Austauschers, I_{Ks} und I_{Kr} langsame und schnelle Komponente des K^+ -Auswärtsstroms. Die Ionenströme werden als Abweichung von 0 mV angegeben. Flächen unterhalb der Grundlinie stehen für Ioneneinwärtsströme, Flächen oberhalb bedeuten Ionenauswärtsströme (Dieks 2009, S.12).

Der entstehende Einstrom von Na^+ -Ionen wird als persistierender oder später Na^+ -Strom ($I_{\text{Na, late}}$) bezeichnet (Saint et al. 1992; Maltsev et al. 1998). Der $I_{\text{Na, late}}$ macht normalerweise nur 1-2 % der Amplitude des schnellen Na^+ -Stroms (peak I_{Na}) aus. Er kann im Gegensatz zum peak I_{Na} während des APs persistieren und damit unter bestimmten pathologischen Bedingungen zu einem erheblichem Na^+ -Einstrom in die Zelle führen (Makielski und Farley 2006; Hale et al. 2008; Sossalla et al. 2008b). Zu Pathologien, die eine Amplitudenzunahme des $I_{\text{Na, late}}$ und Verlängerung des APs auslösen können, gehören beispielsweise Hypoxie, Herzinsuffizienz, Vorhofflimmern oder verschiedene Formen des Long-QT-Syndroms (Wu und Corr 1994; Valdivia et al. 2005; Maltsev et al. 2007; Hale et al. 2008; Sossalla et al. 2010). Wie in Abbildung 1.2 dargestellt, nimmt der $I_{\text{Na, late}}$ auch unter ischämischen Bedingungen zu (Sossalla et al. 2008a).

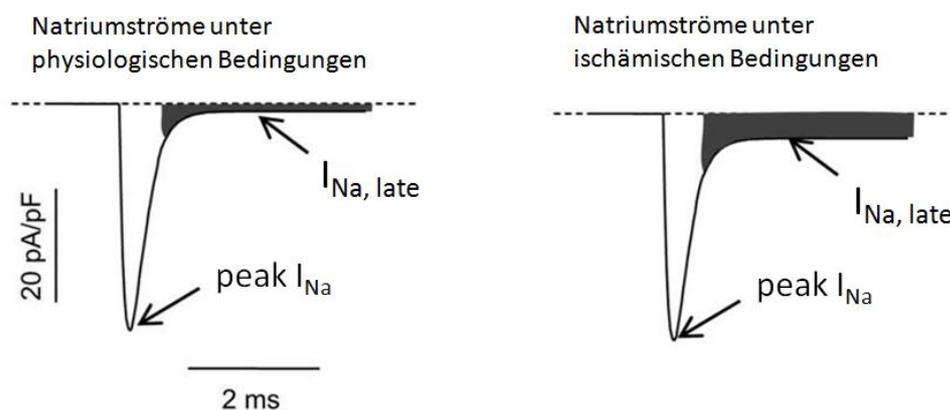


Abbildung 1.2 Vergleich kardialer Na^+ -Ströme am Herzen unter physiologischen und ischämischen Bedingungen. Bei Myokardischämie nimmt der $I_{\text{Na, late}}$ (schwarze Fläche) zu (Sossalla et al. 2008a, S.144).

Somit herrscht bei Ischämie eine erhöhte intrazelluläre Na^+ -Konzentration. Physiologischerweise pumpt der sarkolemmale Na^+ - Ca^{2+} - Austauscher (NCX) im Vorwärtsmodus während der diastolischen Relaxation ein Ca^{2+} -Ion im Austausch gegen 3 Na^+ -Ionen aus der Zelle heraus (Abbildung 1.4 A). Im umgekehrten Modus, dem Reverse Mode während der Systole, wird eine Elimination von Ca^{2+} -Ionen aus der Zelle verhindert (Maier 2009). Mit welcher Aktivität und in welche Richtung der NCX arbeitet, hängt vom Membranpotential und von den intrazellulären Na^+ - und Ca^{2+} -Konzentrationen ab (Bers 2001). Da der $I_{\text{Na, late}}$ unter ischämischen Bedingungen zunimmt und es zu einer erhöhten

intrazellulären Na^+ -Konzentration kommt, pumpt der NCX im Reverse Mode (Abbildung 1.3). Es kommt zu einer Ca^{2+} -Überladung der Zelle (Silverman und Stern 1994). Ein vermehrtes Auftreten von frühen Nachdepolarisationen (*early afterdepolarizations*, EADs) kann die Folge sein (Sims et al. 2008). Somit agiert der $I_{\text{Na, late}}$ als wichtige Komponente bei der Entstehung von Arrhythmien und seine pharmakologische Inhibition kann einen entscheidenden therapeutischen Ansatz darstellen (Scirica et al. 2007).

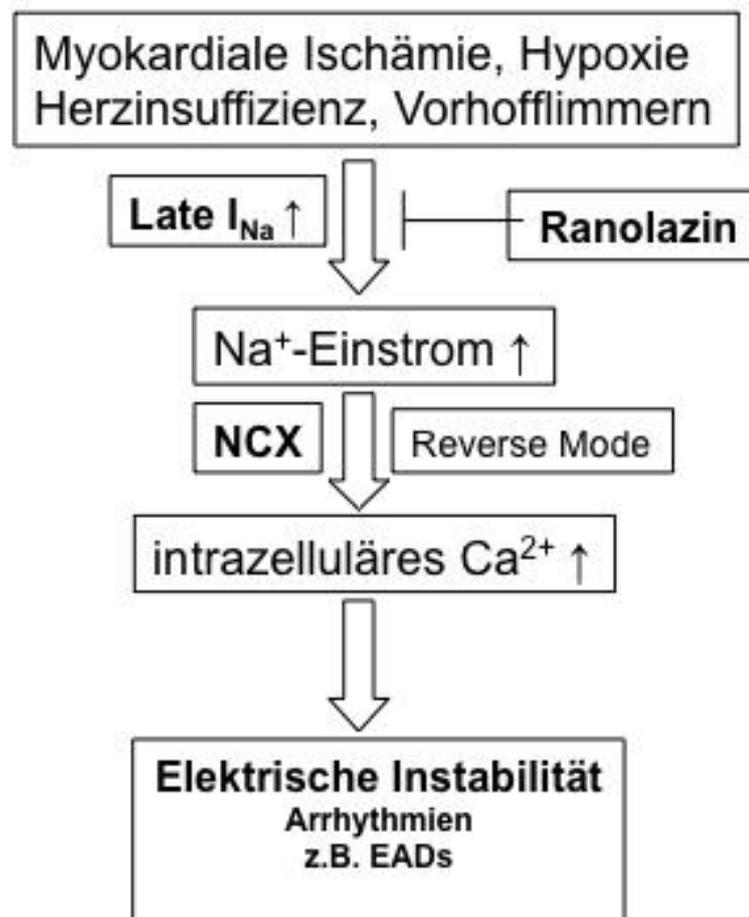


Abbildung 1.3 Schematische Darstellung der Pathophysiologie bei erhöhtem $I_{\text{Na, late}}$: Na^+ moduliert den Transportmodus des NCX. Bei einer erhöhten Na^+ -Konzentration im Intrazellularraum arbeitet der NCX im umgekehrten Modus (Reverse Mode). Es kommt zu einer Akkumulation von Ca^{2+} im Intrazellularraum und daraus folgender elektrischer Instabilität (eigene Abbildung).

Nachdem sich zu Beginn des APs die schnellen Na^+ -Kanäle geöffnet haben, öffnen sich anschließend spannungsabhängige L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle, durch die ein langsamer depolarisierender Einstrom von Ca^{2+} -Ionen ins Zytosol entlang dem Konzentrationsgradienten erfolgt ($I_{\text{Ca,L}}$, Abbildung 1.4 A). Durch die L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle kann das AP der Herzmuskelzellen über eine lange Zeit aufrechterhalten werden und eine direkte Freisetzung von Ca^{2+} aus dem sarkoplasmatischen Retikulum erfolgen (Bassani et al. 1993; Delbridge et al. 1997). Morphologisch entspricht der zytosolische Ca^{2+} -Einstrom der Plateauphase des APs (Abbildung 1.1). Die für Myokardzellen charakteristische Plateauphase dauert etwa 200-300 ms. In dieser Phase ist die Nettoladungsverschiebung fast Null. Aufgrund dessen haben Veränderungen von Ionenströmen besonders hier starke Auswirkungen auf die Dauer des APs (Keating und Sanguinetti 2001).

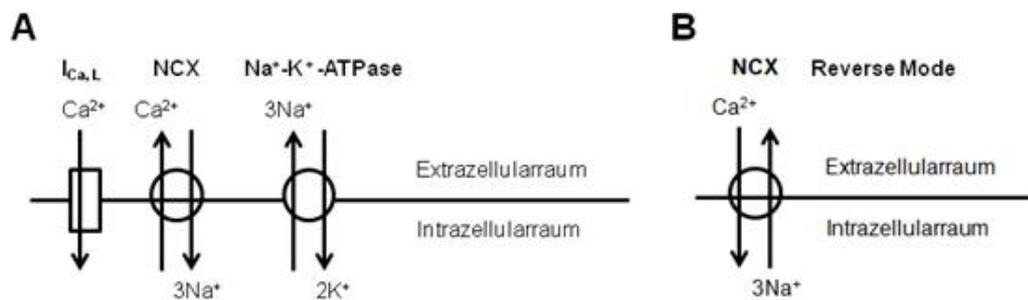


Abbildung 1.4 Schematische Darstellung der Pumpfunktion des NCX im Vorwärtsmodus und des Ca^{2+} -Einstroms über L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle ($I_{\text{Ca,L}}$). B: Pumpfunktion des NCX im Reverse Mode (eigene Abbildung).

Die Repolarisation beruht auf einem Anstieg des spannungsabhängigen Kaliumauswärtsstroms (Abbildung 1.1), wobei die langsame und die schnelle Komponente (I_{Ks} , I_{Kr}) eine entscheidende Rolle spielen (Sanguinetti und Jurkiewicz 1990). I_{Kr} wird mit zunehmender Repolarisation immer weiter aktiviert, weshalb I_{Kr} in der Endphase der Repolarisation von großer Bedeutung ist (Tseng 2001). Die Modifizierung von I_{Kr} bietet damit eine gute Möglichkeit zur Regulation der Repolarisation am Herzen.

Beim Myokard handelt es sich um ein inhomogenes Gewebe, das aus drei unterschiedlichen Zelltypen besteht. Besonders während der Repolarisation zeigen die verschiedenen Zellen ein stark unterschiedliches Verhalten, was zu großen Differenzen in der Erregungsrückbildung führen kann (Wolk et al. 1999). Außer den epikardialen und endokardialen Zellen konnte ein weiterer Zelltyp differenziert werden. Dabei handelt es sich um 5

die midmyokardialen Zellen oder M-Zellen (Sicouri und Antzelevitch 1991). Diese befinden sich sowohl im subepikardialen als auch im subendokardialen Gewebe. Ihre Zelleigenschaften konnten beim Kaninchen und Menschen beschrieben werden. M-Zellen zeigen noch andere Repolarisationsprofile als die subepikardialen oder subendokardialen Zellen. So konnte gezeigt werden, dass M-Zellen eine längere APD als andere Myozyten haben (Antzelevitch 2007). Grund dafür ist die reduzierte Ausprägung von den für die Repolarisation bedeutenden K^+ -Kanälen I_{Ks} und I_{Kr} . Darüber hinaus zeigten Sicouri und Antzelevitch, dass die APD in M-Zellen unter Bradykardie deutlich länger ist, vor allem im linken Ventrikel (Sicouri und Antzelevitch 1991). Ursache hierfür ist die bereits erwähnte geringe Zahl an K^+ -Kanälen im Gegensatz zu anderen Myozyten (Burashnikov und Antzelevitch 1999). Bei schneller Stimulation unterscheidet sich die APD der M-Zellen von anderen Zellarten nicht. Die beschriebenen regionalen Unterschiede in der Dauer des APs und damit auch der Refraktärzeit spielen eine entscheidende Rolle in der Entstehung von Herzrhythmusstörungen.

Bei EADs handelt es sich um pathologische Depolarisationen mit positiver Potentialänderung während der Repolarisationsphase (Abbildung 1.5). Sie treten bevorzugt beim Bestehen eines erhöhten $I_{Na, late}$ auf (Maltsev et al. 2007; Song et al. 2008). Wird ein kritisches Schwellenpotential für einen depolarisierenden Ionenstrom erreicht, wird ein AP ausgelöst (Volders et al. 2000). Eine Verlängerung der Repolarisation ist als antiarrhythmisch einzustufen. d-Sotalol, ein Klasse III-Antiarrhythmikum (Abbildung 1.8), verlängert die APD und reduziert die Dispersion der ventrikulären Repolarisation (Williams 1984; Zabel et al. 1997a). Es supprimiert somit das Auftreten von Tachyarrhythmien (Mason 1993). Allerdings kann eine Verlängerung der Repolarisation auch proarrhythmisch wirken. Ein elektrophysiologischer Parameter zur Beurteilung der ventrikulären Repolarisation ist die Dispersion der Repolarisation. Sie ist ein Zeichen für die Inhomogenität der Repolarisationsdauer. Die Dispersion der Repolarisation wird bestimmt durch die Differenz zwischen der längsten und kürzesten APD. Für eine pathologisch erhöhte Dispersion der Repolarisation wurde ein proarrhythmisches Potential beschrieben (Baker et al. 2000). Zu einer kritischen Verlängerung der Repolarisationsphase kommt es, wenn einwärtsgerichtete depolarisierende Ströme die auswärtsgerichteten repolarisierenden Ströme übersteigen (January und Riddle 1989).

Der positive Ioneneinstrom wird durch Ca^{2+} -Kanäle, Na^+ -Kanäle oder den NCX vermittelt. Es wurde diskutiert, dass eine verlängerte Repolarisation die Reaktivierung von L-Typ- Ca^{2+} -Kanälen erhöht, es zu einer Zunahme von positiven Ionen im Zellinneren und damit zur Depolarisation kommt (January und Riddle 1989; Hondeghem et al. 2001; Milberg et al. 2002). Zusätzlich begünstigt die Blockade der auswärtsgerichteten repolarisierenden Stromkomponenten I_{Kr} und I_{Ks} den Netto-Depolarisationsstrom (Kaseda et al. 1989). Eine I_{Kr} -Inhibition wurde primär für nicht antiarrhythmisch wirkende Substanzen, wie zum Beispiel Makrolidantibiotika oder Antihistaminika und für antiarrhythmisch wirkende Substanzen, wie zum Beispiel Klasse III-Antiarrhythmika beschrieben (Monahan et al. 1990; Eckardt et al. 1998; Haverkamp et al. 2000; Milberg et al. 2002). Bei einer Blockade des I_{Kr} kommt es zu einem verminderten K^+ -Auswärtsstrom, auf den eine übermäßige Verlängerung des APs folgt und der noch vor der vollständigen Repolarisation zu erneuten Depolarisationen bzw. EADs führen kann.

Zusammenfassend kann man festhalten, dass für die Entstehung von EADs ein erhöhter Netto-Einwärtsstrom ($\text{I}_{\text{Ca, L}}$, I_{Na} , NCX) oder ein verminderteter Netto-Auswärtsstrom (I_{Kr} , I_{Ks}) erforderlich ist. EADs gelten als Auslöser für TdP-Arrhythmien (Habbab und el-Sherif 1990; Antzelevitch und Sicouri 1994). Sie triggern die Aktivität in den Herzmuskelzellen und können zu einem Reentry-Mechanismus und TdP-Arrhythmien führen. Bei TdP-Arrhythmien handelt es sich um eine potentiell lebensbedrohliche Form von poly-

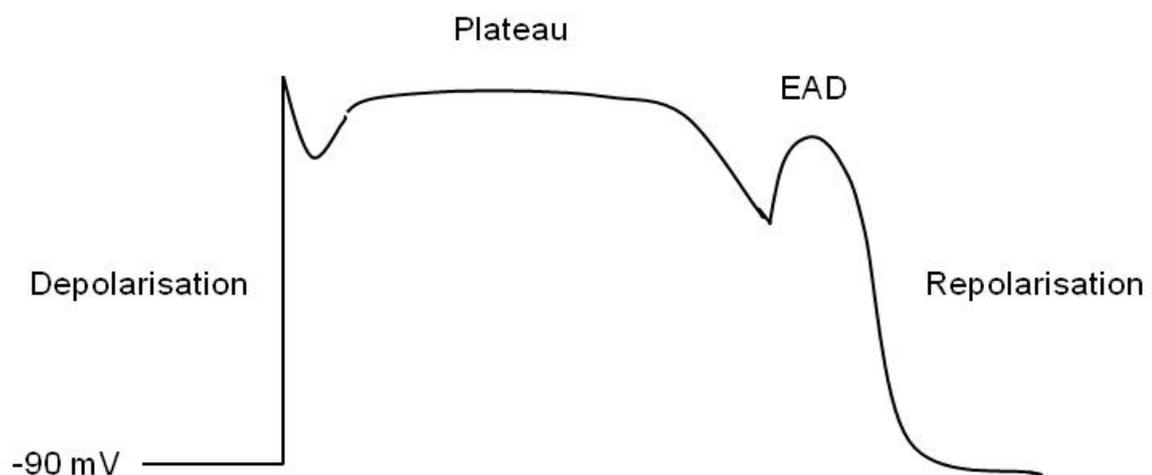


Abbildung 1.5 EADs während der Repolarisationsphase des kardialen APs. Ein verlängertes AP begünstigt das Auftreten von EADs (eigene Abbildung).

morphen ventrikulären Tachykardien (Dessertenne 1966). Im Elektrokardiogramm (EKG) stellen sie sich als Rotation der Kammerkomplexe um die isoelektrische Linie dar (Abbildung 1.6 A). Die Tachykardiefrequenz liegt bei 150-250/min (Dessertenne 1966). TdP-Arrhythmien terminieren vorwiegend spontan, können aber auch in Kammerflimmern übergehen (Eckardt et al. 1998; Herold 2013). Faktoren die das Auftreten dieser gefährlichen ventrikulären Tachykardie begünstigen sind zum Beispiel Elektrolytverschiebungen wie Hypokaliämie oder Hypomagnesiämie (Haverkamp et al. 2000). Infolgedessen gehört die intravenöse Gabe von Magnesium zur gängigen Therapie von TdP-Arrhythmien (Arstall et al. 1992). An der Pathophysiologie dieser Herzrhythmusstörungen sind neben EADs ein verlängertes QT-Intervall und ein Reentry-Mechanismus infolge einer Verlängerung der Dispersion der Repolarisation beteiligt (Cranefield und Aronson 1991; Antzelevitch et al. 1995). Hierbei stellt eine erhöhte Dispersion der Repolarisation ein mögliches EKG-Kriterium in der Diagnostik von QT-Syndromen darstellt (Zabel et al. 1997a; Moennig et al. 2001). Somit gelten TdP-Arrhythmien als gefährliche Nebenwirkungen von QT-verlängernden Medikamenten (Haverkamp 2002). Es gibt eine Vielzahl von Medikamenten, die zu einer abnormen QT-Verlängerung führen können. Dazu gehören zum Beispiel verschiedene Antiarrhythmika, Antibiotika oder Psychopharmaka (Haverkamp et al. 2000). Klasse III-Antiarrhythmika wie d-Sotalol führen über eine Blockade von K^+ -Kanälen zu einer Verlängerung des QT-Intervalls (D'Alonzo et al. 1999). Da auch für Ranolazin ein inhibitorischer Effekt auf I_{Kr} beschrieben wurde, ist die zusätzliche Gabe eines Klasse III-Antiarrhythmikums kontraindiziert - mit Ausnahme von Amiodaron (Antzelevitch et al. 2004b; Rajamani et al. 2008). Eine erstmalige Assoziation des Long-QT-Syndroms mit Medikamentengabe wurde 1964 beschrieben (Selzer und Wray 1964). Neben dem erworbenen führt auch das angeborene Long-QT-Syndrom zu potentiell lebensbedrohlichen TdP-Arrhythmien (Lazzara 1993; Viskin 1999). Zusätzlich gibt es Risikofaktoren, die den Patienten für eine QT-Verlängerung disponieren. Hierzu zählen zum Beispiel Bradykardie (Kurita et al. 1992), myokardiale Hypertrophie (Tomaselli und Marban 1999) oder Elektrolytstörungen wie Hypokaliämie (Jackman et al. 1988).

In der humanmedizinischen Forschung wurden verschiedene Methoden und Modelle entwickelt um den Pathomechanismus von TdP-Arrhythmien untersuchen zu können. Die Eigenschaften und der Mechanismus dieser ventrikulären Herzrhythmusstörung wurden

bisher an ventrikulären transmuralen Muskelproben, am isolierten Kaninchenherzen und an verschiedenen Ganztiermodellen untersucht. Zabel et al. zeigten 1997 erstmals am isolierten Kaninchenherzmodell das Auftreten von TdP-Arrhythmien mittels Bradykardie, des Klasse-III Antiarrhythmikums d-Sotalol und einer verminderten Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Konzentration (Zabel et al. 1997b). d-Sotalol ist ein I_{Kr} -Blocker (Carmeliet 1985), der EADs induzieren kann (Sicouri et al. 1997). Nicht nur am isolierten Kaninchenherzmodell, sondern auch Studien am intakten Kaninchenmodell zeigten die Reproduzierbarkeit von TdP-Arrhythmien. Carlsson beschrieb ein Modell, bei dem Methoxamine und Klasse III-Antiarrhythmika zu TdP-Arrhythmien führten (Carlsson et al. 1990). Das Kaninchenherz zeigte ein ausgeprägtes Ansprechen auf den α_1 -Rezeptoragonisten Methoxamin, der zu einer erhöhten Ca^{2+} -Konzentration in der Zelle führte. Dies könnte der mögliche Auslöser für die beobachteten TdP-Arrhythmien sein (Volders et al. 2000). An diesem Kaninchenmodell wurden verschiedene I_{Kr} -Blocker getestet. Alle führten zur Auslösung von TdP-Arrhythmien (Buchanan et al. 1993; Carlsson et al. 1993). Auch am Hundemodell konnte unter der Gabe von Methoxaminen und I_{Kr} -Blockern eine erhöhte Anfälligkeit für TdP-Arrhythmien gezeigt werden (Derakhchan et al. 1998; Schram et al. 2004). Vos et al. haben ein in vivo Modell entwickeln können, das das reproduzierbare Auftreten von TdP-Arrhythmien bei Hunden mit komplettem AV-Block ermöglicht. Mittels Bradykardie und intravenöser Applikation von d-Sotalol wurden TdP-Arrhythmien provoziert (Vos et al. 1995).

In der vorliegenden Arbeit wurden gesunde isolierte Kaninchenherzen an einer Langendorff-Perfusion elektrophysiologisch untersucht. Als Versuchstiere dienten weibliche weiße Neuseeland-Kaninchen. Für die Experimente wurden weibliche Tiere ausgewählt, da die Prävalenz des Auftretens von TdP-Arrhythmien durch Unterschiede der Geschlechtshormone bei Frauen größer ist als bei Männern (Kawasaki et al. 1995). Zur Forschung an Herzerkrankungen werden schon seit langem Kaninchen als Tiermodelle verwendet (Hasenfuss 1998). Das Myokard von Kaninchen weist entscheidende Gemeinsamkeiten mit dem des Menschen auf und hat sich deshalb in der humanmedizinischen Forschung etabliert (Marian 2005). Ein besonderer Vorteil besteht darin, dass sowohl beim Menschen als auch beim Kaninchen I_{Kr} stärker ausgeprägt ist als I_{Ks} . Diese Besonderheit spielt bei der Untersuchung des Mechanismus der Repolarisation eine entscheidende Rolle (Carmeliet 1992).

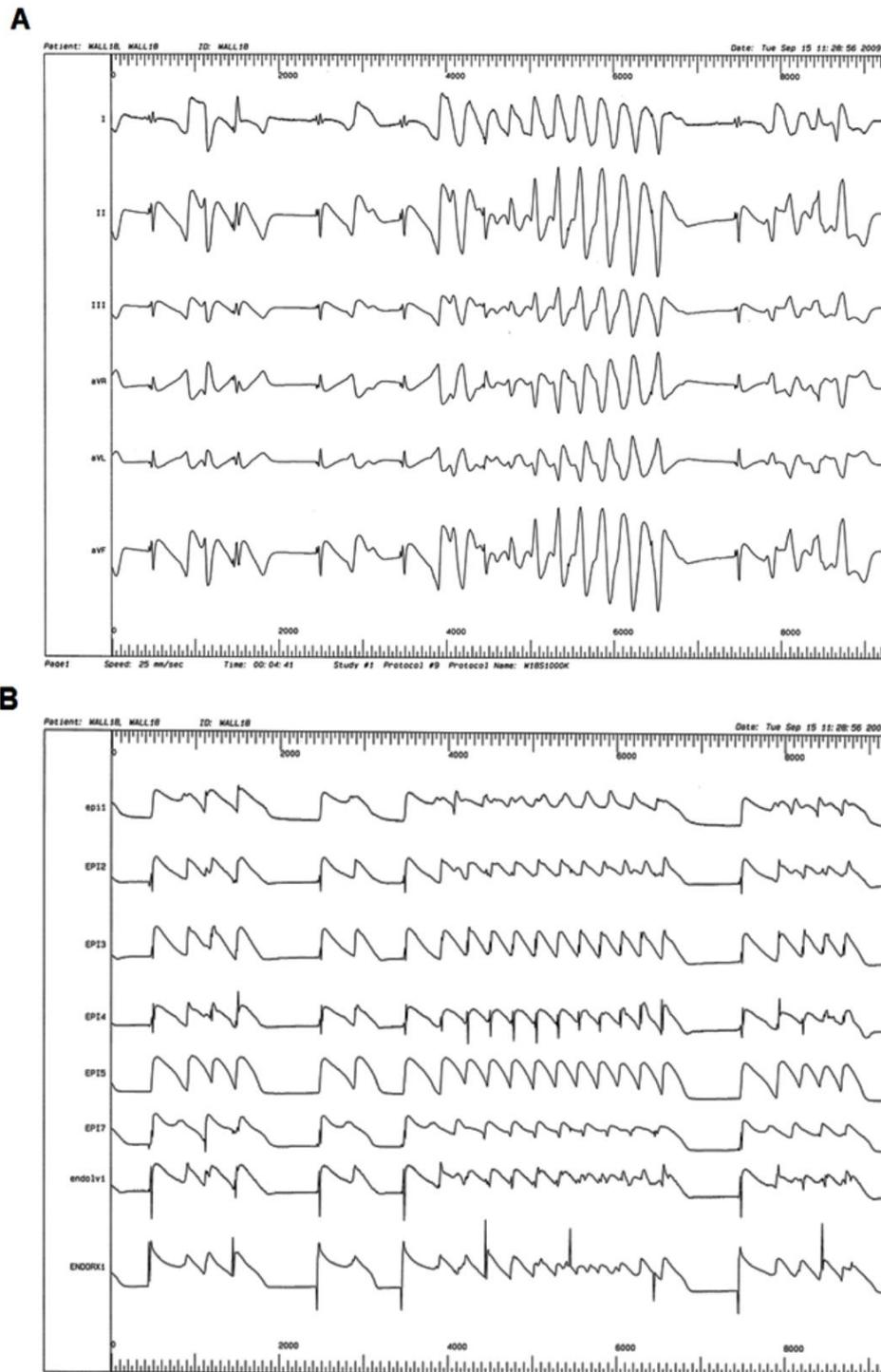


Abbildung 1.6 A: Darstellung von TdP-Arrhythmien im EKG: Rotation der Kammerkomplexe um die isoelektrische Linie. I, II, III, aVR, aVL, aVF = Standard-EKG-Ableitungen. **B: Darstellung von TdP-Arrhythmien in multiplen simultanen MAP-Ableitungen:** Schläge mit EADs, die mindestens eine ventrikuläre Dreier-Salve oder länger im Sinne einer TdP triggern. Epi = epikardiale Ableitung, Endolv = linksventrikulär endokardiale Ableitung, Endorx = rechtsventrikulär endokardiale Ableitung (eigene Abbildung).

Die Langendorff-Methode ist in diesem Kontext besonders gut geeignet, da die für Arrhythmien mitverantwortliche Anatomie und die Integrität des Herzens unter Entkopplung vom zentralen Nervensystem erhalten bleibt (Eckardt et al. 1998). Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass im Gegensatz zu Forschungen an einzelnen Zellen, bei dieser Methode die Zell-Zell-Verbindungen (*gap junctions*) erhalten sind (Hoyt et al. 1990). Mit dem Modell des isolierten Kaninchenherzens ist es möglich, Medikamente bezüglich ihrer Wirkung auf TdP-Arrhythmien zu untersuchen. Forschungen mit SEA0400 am Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen zeigten, dass die Blockade des NCX Arrhythmien vom Typ TdP reduziert (Milberg et al. 2008). Neben der Inhibition des NCX kann eine erhöhte intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration der Zelle durch Blockade von Ca^{2+} -Kanälen verhindert werden, was dem Auftreten von EAD-abhängig erworbenen TdP-Arrhythmien vorbeugt (Verduyn et al. 1995; Burashnikov und Antzelevitch 1998). Flunarizin erzielt eine solche Reduktion der Ca^{2+} -Konzentration der Zelle durch eine Hemmung von kardialen L- und T-Typ- Ca^{2+} -Kanälen (Tytgat et al. 1988; Ragsdale et al. 1991; Tytgat et al. 1996). Flunarizin ist ein Piperazinderivat und gehört zu den Klasse IV-Antiarrhythmika (Abbildung 1.9). Es reduzierte in experimentellen Studien am Almkalant/Sotalol Kaninchenherzmodell das Auftreten von TdP-Arrhythmien (Verduyn et al. 1995). Ein Jahr später zeigten auch Carlsson et al., dass Flunarizin über eine Senkung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration in der Lage ist, Almkalant-induzierte TdP-Arrhythmien in Methoxamin-Kaninchen zu reduzieren (Carlsson et al. 1996). Anknüpfend an diese Forschungsergebnisse sollte durch die Verwendung von Flunarizin als Vergleichssubstanz in der vorliegenden Arbeit am isolierten Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen die Möglichkeit der Reduktion von EADs und TdP-Arrhythmien gezeigt werden. Neben der direkten Modulation der Ca^{2+} -Homöostase über den NCX oder die Ca^{2+} -Kanäle kann diese auch über den bereits erwähnten $\text{I}_{\text{Na, late}}$ beeinflusst werden. Der bisher potenteste klinische Inhibitor des $\text{I}_{\text{Na, late}}$ ist Ranolazin (Sossalla und Maier 2012). Ranolazin gehört zu den Piperazinderivaten (Abbildung 1.7). Es handelt sich um eine Substanz mit antianginöser Wirkung ohne hämodynamische Effekte wie Beeinflussung der Herzfrequenz oder des Blutdrucks (Pepine und Wolff 1999; Chaitman et al. 2004a; Chaitman et al. 2004b).

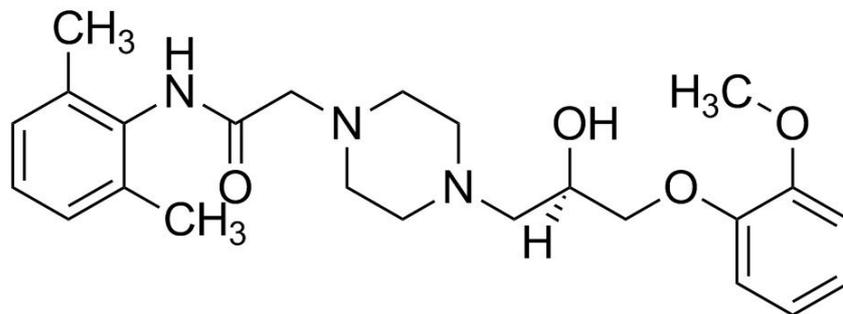


Abbildung 1.7 Strukturformel Ranolazin (eigene Abbildung).

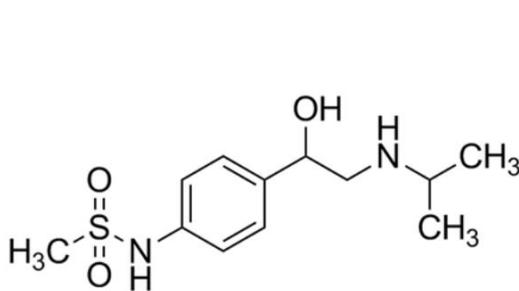


Abbildung 1.8 Strukturformel d-Sotalol
(eigene Abbildung).

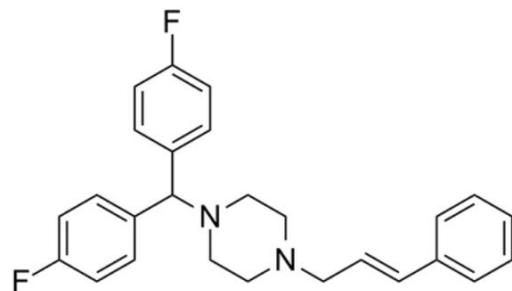


Abbildung 1.9 Strukturformel Flunarizin
(eigene Abbildung).

Bei Untersuchungen zur elektrophysiologischen Wirkung von Ranolazin fand man im therapeutischen Bereich von 2-6 $\mu\text{mol/l}$ eine Inhibition des $I_{\text{Na, late}}$, des I_{Kr} und des I_{Ca} (Antzelevitch et al. 2004b). Wie bereits erwähnt kommt es bei Hypoxie, Ischämie, Herzinsuffizienz und Herzinfarkt zu einer Erhöhung des $I_{\text{Na, late}}$ (Ju et al. 1996; Huang et al. 2001; Maltsev et al. 2007). Zu Beginn einer kardialen Ischämie kommt es durch den erhöhten $I_{\text{Na, late}}$ (Abbildung 1.2) zu einem Anstieg der Na^+ -Konzentration in den Myozyten (Ver Donck et al. 1993). Antzelevitch et al. konnten in Myozyten vom Hund und vom Meerschweinchen nachweisen, dass Ranolazin diese Pathophysiologie über eine Hemmung des $I_{\text{Na, late}}$ unterbricht (Antzelevitch et al. 2004b). Somit verhindert Ranolazin eine pathologische Relaxation des Myokards bei Ischämie (Antzelevitch et al. 2004b; Sossalla et al. 2008a). Bei simulierter Ischämie mittels sauerstofffreier Radikale oder des Seaneomentoxins-II (ATX-II) kam es unter 9 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin zu einer verminderten intrazellulären Na^+ - und Ca^{2+} -Konzentration. Dies ist unter anderem auf die

Verhinderung des Reverse Mode des NCX zurückzuführen (Song et al. 2004; Fraser et al. 2006; Song et al. 2006).

Ranolazin ist ein neues antianginöses Medikament (Antzelevitch et al. 2004b). Seit Februar 2009 ist es in Deutschland als Therapie der chronischen stabilen Angina pectoris bei Versagen der konventionellen Therapie zugelassen. Die antiischämischen Eigenschaften von Ranolazin erklärt man sich durch eine reduzierte diastolische Wandspannung, die eine bessere Myokardperfusion bewirkt (Venkataraman et al. 2009). Schon 1994 zeigten Gralinski et al. die kardioprotektive Wirkung von Ranolazin am isolierten Kaninchenherzmodell. Ranolazin bewirkte eine reduzierte postischämische Kontraktur des Myokards (Gralinski et al. 1994). Auch die Verhinderung des Reverse Mode des NCX resultiert in einer verbesserten diastolischen Funktion des Herzens (Song et al. 2006). Neben der Blockade des $I_{Na, late}$ hemmt Ranolazin auch den peak I_{Na} (Undrovinas et al. 2006). Hierbei muss man zwischen der Wirkung von Ranolazin auf die Na^+ -Ströme im Atrium und im Ventrikel unterscheiden. In ventrikulären Myozyten ist die Blockade des peak I_{Na} sehr viel geringer ausgeprägt als die Blockade des $I_{Na, late}$ (Antzelevitch et al. 2004b; Belardinelli et al. 2006; Sossalla et al. 2008b). So braucht man an isolierten ventrikulären Herzmuskelzellen unter Sinusrhythmus zur Blockade des peak I_{Na} eine mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) von etwa 250 $\mu\text{mol/l}$, während man zur Inhibition des $I_{Na, late}$ nur 6 $\mu\text{mol/l}$ benötigt (Undrovinas et al. 2006). Nicht außer Acht zu lassen ist die hemmende Wirkung von Ranolazin auf die schnellen aktivierbaren K^+ -Ströme (I_{Kr}). Durch die inhibierende Wirkung auf die I_{Kr} wird die QT-Zeit verlängert. Bei bestehender Verlängerung des QT-Intervalls ist bekannt, dass gehäuft TdP-Arrhythmien auftreten (Viskin 1999). Unter diesem Gesichtspunkt wird der sichere Einsatz von Ranolazin als Antiarrhythmikum angezweifelt. Zwar konnte in Experimenten an linksventrikulären Myozyten auch eine signifikante Inhibition von I_{Ca} mit der therapeutischen Konzentration (2-6 $\mu\text{mol/l}$) erreicht werden, was zu einer Verkürzung der APD beiträgt (Antzelevitch et al. 2004b), jedoch konnte damit nicht ausgeschlossen werden, dass bestimmte Gegebenheiten die Gefahr für die Auslösung von EADs erhöhen.

Ob Ranolazin als antiarrhythmisches Medikament Verwendung finden kann, ist nach heutiger Studienlage weiterhin umstritten. Einerseits führt es zu einer Reduktion von TdP-Arrhythmien (Antoons et al. 2010) und verursacht keine hämodynamischen Effekte wie Beeinflussung der Herzfrequenz oder des Blutdrucks. Andererseits führt es zu einer QT-

Verlängerung (Pepine und Wolff 1999; Chaitman et al. 2004a; Chaitman et al. 2004b). Da Ranolazin seit 2009 in Europa zugelassen ist, ist von besonderem Interesse, ob es proarrhythmische Effekte hat. Die Ergebnisse der im Jahr 2007 veröffentlichten MERLIN (Metabolic Efficiency with Ranolazine for Less Ischemia in Non-ST elevation acute coronary syndrome) -TIMI-36-Studie, trugen dazu bei, dass Ranolazin 2009 die Zulassung zur symptomatischen Therapie der chronischen stabilen Angina pectoris in Europa erhielt (Morrow et al. 2007). Es wurde gezeigt, dass Ranolazin trotz QT-Verlängerung nach intravenöser oder oraler Applikation keine klinischen Risiken für den Patienten hervorruft. Zusätzlich fand man, dass Ranolazin zu einer relativen Reduktion (13%) des Risikos für rezidivierende Ischämien führt. Allerdings soll es nur als Zusatzmedikament eingesetzt werden, wenn die Standardtherapie keine ausreichende Symptomverbesserung bewirkt. Schließlich sollte nicht außer Acht gelassen werden, dass bereits für andere I_{Kr} -Blocker wie d-Sotalol oder Dofetilide eine Erhöhung der Dispersion der Repolarisation und ein vermehrtes Auftreten von TdP-Arrhythmien bekannt ist (Shimizu und Antzelevitch 1999; Gillis 2000; Eckardt et al. 2002). Die I_{Kr} -blockierende Komponente von Ranolazin könnte eine gefährliche Erhöhung der Dispersion der ventrikulären Repolarisation in Kombination mit d-Sotalol hervorrufen. Bisher konnte dieses Risiko nicht ausgeschlossen werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung von Ranolazin auf die Aktionspotentialdauer bei 90% Repolarisation (APD_{90}) und die ventrikuläre Dispersion von APD_{90} am Langendorff-perfundierten isolierten Kaninchenherzen zu evaluieren. Darüber hinaus sollte die kombinierte Anwendung mit einem weiteren I_{Kr} -Inhibitor, d-Sotalol, unter physiologischen Bedingungen und bei niedriger K^+ -Konzentration in Hinblick auf das Auftreten von TdP-Arrhythmien untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1 Pharmaka

Pharmaka	Summenformel	Bezugsquelle
Natrium-Chlorid	NaCl	Merck, Darmstadt, Deutschland
Kalium-Chlorid	KCl	Merck, Darmstadt, Deutschland
Magnesiumchlorid	MgCl ₂	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natrium-Sulfat	Na ₂ SO ₄	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumhydrogenphosphat	NaHPO ₄	Merck, Darmstadt, Deutschland
Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natrium-Hydrogencarbonat	NaHCO ₃	Merck, Darmstadt, Deutschland
Calcium-Chlorid	CaCl ₂	Merck, Darmstadt, Deutschland
Adenosin	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	Sigma Aldrich, München, Deutschland
Thiopental	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂ S	Abbott, Wiesbaden, Deutschland
Sotalol	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	Sigma Aldrich, München, Deutschland
Ranolazin	C ₂₄ H ₃₃ N ₃ O ₄	GileadSciences, München, Deutschland
Flunarizin	C ₂₆ H ₂₆ F ₂ N ₂	Sigma Aldrich, München, Deutschland

Tabelle 2.1 Pharmaka

Die in dieser Arbeit verwendeten Substanzen waren von bestmöglich erwerblichem Reinheitsgrad. Alle Substanzen, ausgenommen Thiopental, wurden in Pulverform, entsprechend den Angaben des Herstellers aufbewahrt und unmittelbar vor Beginn des Experiments in Lösung gebracht.

2.2 Langendorff-perfundiertes Kaninchenherz

Das In-vitro-Modell des isolierten perfundierten Kaninchenherzens wurde erstmals 1895 von Oskar Langendorff beschrieben (Langendorff 1895). Bei dem Modell besteht die

Möglichkeit unter standardisierten Bedingungen isolierte Kaninchenherzen zu perfundieren und elektrophysiologische Untersuchungen durchzuführen. Für die Versuche der vorliegenden Arbeit wurde das Langendorff-Modell um ein simuliertes 12-Kanal-Oberflächen-EKG und um bis zu 12 monophasische Aktionspotentiale (MAP) erweitert (Zabel et al. 1995). Die MAP wurden von Endokard und Epikard des linken und rechten Ventrikels abgeleitet.

2.2.1 Versuchsaufbau

Bei dem Versuchsaufbau handelte es sich um ein retrograd aortal nach Langendorff perfundiertes isoliertes Kaninchenherzmodell (Hugo Sachs Electronic, Medical Research Instrumentation, March-Hugstetten, Deutschland). Zum Modell gehörten zusätzlich ein simuliertes 12-Kanal-Oberflächen-EKG und bis zu 12 MAP. Der grundlegende Versuchsaufbau des retrograd aortal perfundierten Langendorff-Herzens ist in Abbildung 2.1 dargestellt.

Die modifizierte Tyrode-Lösung (siehe 2.2.2) wurde in einem Behälter während des gesamten Versuchs mit Carbogen (95% Sauerstoff, 5% Kohlendioxid) angereichert. Das Perfusat wurde über eine Schlauchverbindung mittels einer Rollerpumpe (MCP Pumpe, Ismatec, Berlin, Deutschland) mit einer konstanten Flussgeschwindigkeit von 50 ml/h befördert. Über eine Luftfalle und eine Heizspirale wurde das Perfusat zur Kanüle transportiert. Diese befand sich in der isolierten Aorta des Kaninchenherzens. Mit Hilfe der Heizspirale (Wärmer M3, Lauda, Berlin, Deutschland) wurde das Perfusat auf 37°C erwärmt. Es wurde bei jedem Versuch die Temperatur fortlaufend kontrolliert. Der Perfusionsdruck von 80 – 100 mmHg wurde mit einem Manometer kontrolliert und gegebenenfalls über eine Druckschraube reguliert. Eine Luftfalle sorgte dafür, dass größere Gasmenigen aus dem Schlauch der Rollerpumpe abgefangen und Gasembolien verhindert wurden. Vor und während des Versuchs wurden verschiedene Parameter wie die Temperatur, der pH-Wert der Tyrode-Lösung und der Perfusionsdruck überwacht und, wenn erforderlich, fortlaufend korrigiert.

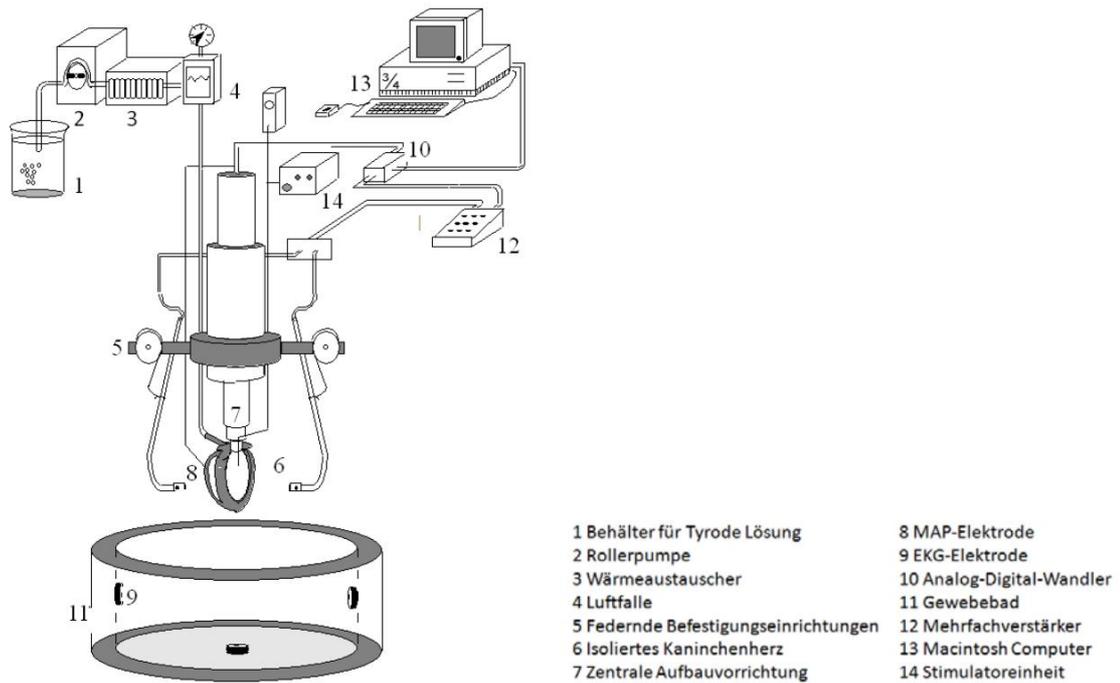


Abbildung 2.1 Schematische Abbildung des Versuchsaufbaus (modifiziert nach Zabel 2011, S.15).

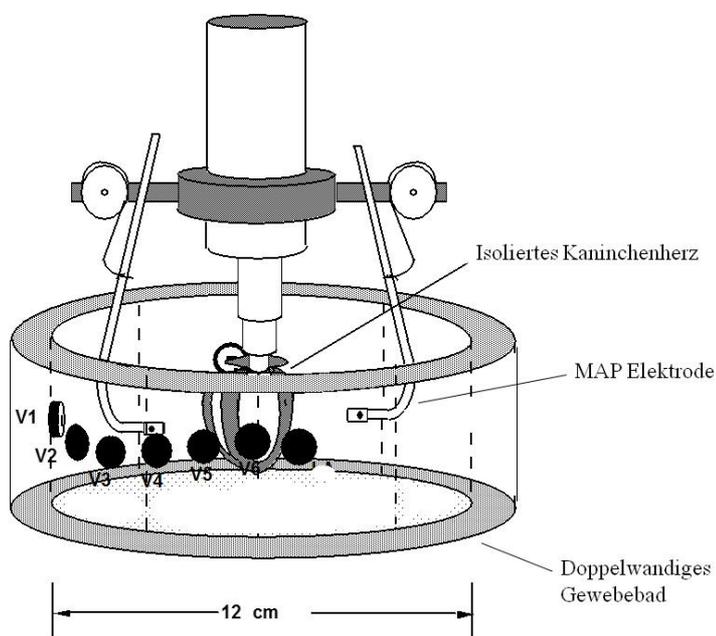


Abbildung 2.2 Schematische Darstellung des isolierten Kaninchenherzens und der EKG-Elektroden im Gewebebad (modifiziert nach Zabel 2011, S. 16).

2.2.2 Perfusionslösung

Zur Perfusion wurde eine Tyrode-Lösung verwendet. Sie entspricht einem Krebs-Henseleit-Puffer. Die Zusammensetzung ist aus Tabelle 2.2 ersichtlich.

Bezeichnung	Summenformel	Konzentration
Natriumchlorid	NaCl	115,0 mmol/l
Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	20,0 mmol/l
Kaliumchlorid	KCl	2,0 mmol/l
Natriumhydrogenphosphat	NaHPO ₄	2,0 mmol/l
Magnesiumchlorid	MgCl ₂	1,2 mmol/l
Natriumsulfat	Na ₂ SO ₄	1,2 mmol/l
Natriumhydrogencarbonat	NaHCO ₃	20,0 mmol/l
Calciumchlorid	CaCl ₂	1,25 mmol/l

Tabelle 2.2 Zusammensetzung der Tyrode-Lösung entsprechend dem Krebs-Henseleit-Puffer.

Zur Herstellung der Lösung direkt vor dem Versuch diente entmineralisiertes Wasser. Die Tyrode-Lösung wurde stets mit Carbogen angereichert um die Oxygenierung zu gewährleisten und den pH-Wert konstant bei 7,40 zu halten. Adenosin wurde der Lösung in einer Konzentration von 0,1 µmol hinzugefügt umso eine maximale Koronarperfusion zu gewährleisten (Franz et al. 1992).

Das Herz wurde über eine Kanüle in der Aorta mit dem Langendorff-Apparat verbunden. Ein zur Stimulation genutzter MAP-Kombinationskatheter wurde über eine Öffnung im rechten Vorhof in die Spitze des rechten Ventrikels eingeführt. Anschließend wurden die MAP-Elektroden auf Epikard und Endokard des isolierten Kaninchenherzens positioniert. Der Aufbau wurde in ein doppelwandiges Gewebepad mit 12 cm Durchmesser getaucht. Das 12-Kanal-Oberflächen-EKG wurde ebenfalls in den Gewebepadbehälter getaucht, die Defibrillationselektroden an den Wänden angebracht und beides in die entsprechende Position gebracht. Die Defibrillationselektroden wurden einander gegenüber angebracht und erzeugten so ein Defibrillationsschockfeld. Zur Vermeidung einer Mikroembolisation wurde das Perfusat ohne Rezirkulation nach dem Überflussprinzip verworfen.

2.2.3 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten weibliche weiße Neuseeland-Kaninchen mit einem Gewicht zwischen 3,5 kg und 5 kg. Die Tiere wurden im Tierstall des Universitätsklinikums Göttingen untergebracht. Die Erlaubnis des Tierschutzbeauftragten der Universität zu Göttingen, Herrn Prof. Dr. Hubertus Jarry, lag bei der Versuchsdurchführung vor.

2.2.4 Isolierung des Kaninchenherzens

Zur Narkose wurde dem Versuchstier über eine Ohrvene 50mg/kg Thiopental langsam appliziert. Gleichzeitig wurde zur Vermeidung einer Thrombenbildung Heparin mit einer Dosis von 500 IE verabreicht. Durch starke Schmerzreize wurde versucht, Reflexe auszulösen. Sobald diese nicht mehr nachweisbar waren, begann die Präparation durch Eröffnung des Thorax mit Hilfe einer medianen Sternotomie. Nachdem bei dem freiliegenden Herzen das Perikard eröffnet und die großen zuführenden Gefäße abgetrennt waren, wurde es umgehend in eine eisgekühlte Tyrode-Lösung gelegt. Durch Freipräparation der Aorta konnte in diese eine Kanüle eingeführt und befestigt werden. Anschließend wurde das isolierte Kaninchenherz in das Wärmebad eingetaucht. Nach kurzer Anlaufphase begann dieses mit seiner Eigenfrequenz zu schlagen. Der Zeitraum zwischen Narkosebeginn bis zur Perfusion des Herzens betrug nicht mehr als zwei bis drei Minuten.

2.2.5 Ablation des AV-Knotens

Da die Eigenfrequenz des Kaninchenherzens für die Versuche zu hoch war, wurde eine mechanische Ablation des AV-Knotens durchgeführt. Dazu wurden die Spangen einer chirurgischen Pinzette in beide Vorhöfe eingeführt und bis zum kaudalen Teil des interatrialen Septums geführt. Durch festes Zusammendrücken kam es zu einem sofortigen, nicht mehr reversiblen, kompletten AV-Block mit einer Kammerersatzfrequenz von 40-50/min. Falls es in der folgenden Beobachtungszeit zu einer Erholung der AV-Überleitung kam, wurde das Ganze wiederholt.

2.2.6 Stimulation des Herzens

Mit Hilfe eines Schrittmachergerätes (Universal Heart Stimulator, Biotronik SE & Co. KG, Berlin, Deutschland) konnten die Kaninchenherzen über den oben bereits erwähnten MAP-Kombinationskatheter im rechten Ventrikel mit den gewünschten Zykluslängen stimuliert werden.

2.3 Datenaufzeichnung

2.3.1 Aufzeichnung volumengeleiteter Elektrokardiogramme

Zur Simulation einer Einthoven-Konfiguration wurden vier Silber-Silberchlorid-Elektrodenpellets (In Vivo Metric, Healdsburg, Kalifornien, USA) im Gewebebad angeordnet (Abbildung 2.2). Die Elektroden wurden unterhalb des Herzens und an den Wänden des Gewebebads positioniert. Mit diesem Versuchsaufbau konnte durch die leitenden Eigenschaften der Tyrode-Lösung ein EKG aufgezeichnet werden. Das Bard Labsystem 2.3 ermöglichte die Weiterverarbeitung der Signale und die Ableitung aller 12 Standard-EKG-Ableitungen (I, II, III, aVL, aVR, aVF, V₁ – V₆). Abbildung 2.3 und Abbildung 2.4 zeigen Beispiele für die Aufzeichnung der EKG-Signale.

2.3.2 Aufzeichnung monophasischer Aktionspotentiale

Auf einem Kunststoffring des Langendorff-Apparates waren 6-8 Elektrodenhalter federnd befestigt. An diesen wurden Silber-Silberchlorid-Elektroden (Boston Scientific, Marlborough, USA) zur Aufzeichnung von MAP befestigt. Mit Hilfe der Federung war es möglich, die Elektroden mit konstantem Druck auf dem Epikard auszurichten. Sie wurden auf dem rechten und linken Ventrikel positioniert. Die epikardialen Katheter wurden während des Versuchs in ihrer Position nur minimal verändert. Neben diesen epikardialen Elektroden wurden über die MAP-Kombinationskatheter zwei endokardiale MAP aus dem rechten und linken Ventrikel abgeleitet. Bei den endokardialen Kathetern gab es keinen Federmechanismus, sodass diese im Verlauf des Versuchs gegebenenfalls leicht angedrückt werden mussten. Alle MAP-Signale wurden mit einem Multikanal-Differential-Gleichstromverstärker (Model 1009, EP Technologies, Sunnyvale, Kalifornien, USA) vorverstärkt. Die Aufzeichnung von MAP ist ein etabliertes Verfahren zur Verlaufsbeobachtung der Repolarisation bei verschiedenen Tiermodellen (Eckardt et al. 2003). Die Abbildung 2.5 zeigt beispielhaft 9 aufgezeichnete MAP bei einer Zykluslänge von 500 ms.

2.3.3 Digitale Datenaufzeichnung

Die experimentellen Daten der Versuchsprotokolle wurden auf einem 486-PC-Computer (Bard Electrophysiology, Lab System 5.5) mit komprimierter Datenspeicherung auf optischen WORM-Medien (Write-Once-Read-Many) gespeichert. Unter Gebrauch der in der

Systemsoftware (Lab-System 5.5) integrierten Datenexport-Funktion konnten diese auf Disketten zwischengespeichert werden. Der Datentransfer wurde mit dem Übertragen auf einen Apple-Macintosh-Computer abgeschlossen. Dort erfolgte die Datenanalyse und statistische Auswertung.



Abbildung 2.3 Beispiel für die Aufzeichnung der EKG-Ableitungen I, II, III, aVL, aVR und aVF: RV-Pacing mit CL=500 ms, f=120/min, der Lagetyp entspricht einem Mitteltyp entsprechend der gewünschten Ausrichtung des isolierten Herzens im Gewebepad (eigene Abbildung).

2. Material und Methoden

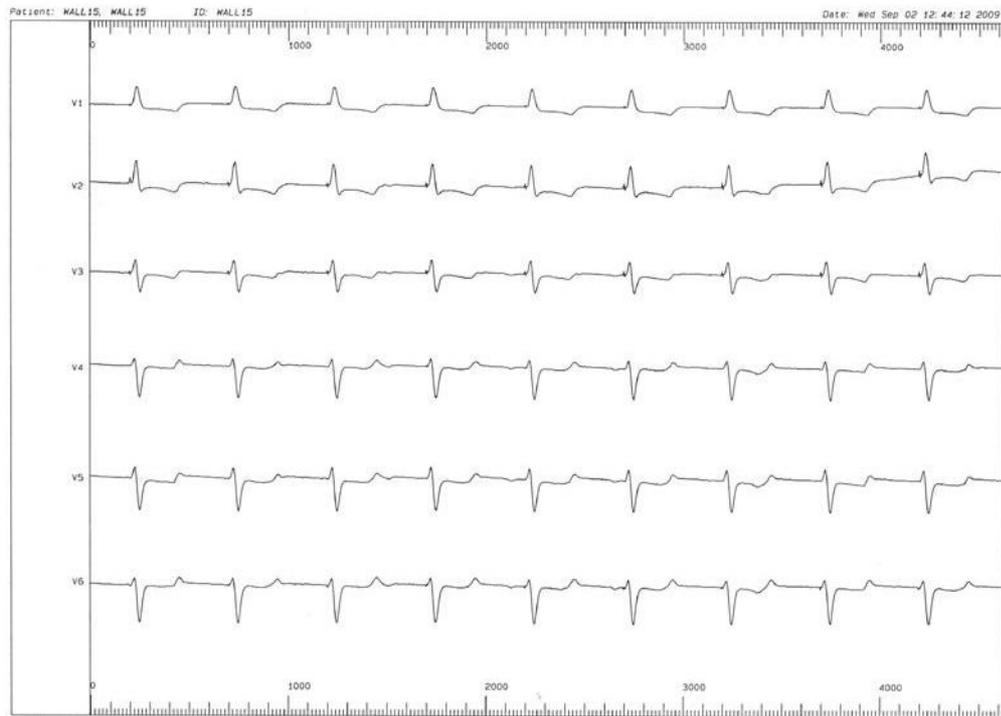


Abbildung 2.4 Beispiel für die Aufzeichnung der EKG-Ableitungen V₁-V₆: RV-Pacing mit CL=500 ms, f=120/min, geringe ST-Senkungen, große R in V₁/V₂ (eigene Abbildung).

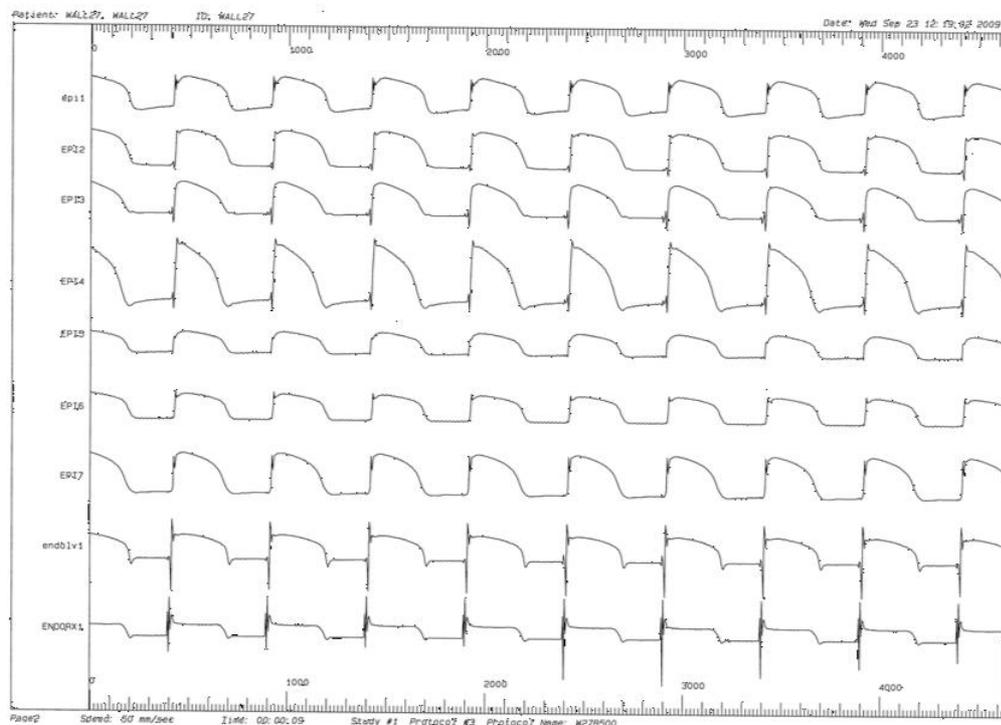


Abbildung 2.5 Beispiel von 9 simultan aufgezeichneten MAP: Stimulation über den Endorx1 mit CL=500 ms, f=120/min, die mittlere APD₉₀ beträgt 243 ms, die Dispersion von APD₉₀ beträgt 44 ms (eigene Abbildung).

2.4 Versuchsprotokoll

2.4.1 Veränderungen der APD₉₀ und der Dispersion von APD₉₀

Zur Untersuchung von Veränderungen der APD₉₀ und Dispersion der ventrikulären Repolarisation bei verschiedenen Frequenzen und Konzentrationen, diente folgendes Protokoll. Nach Erreichen eines Steady-State bei einer Basiszykluslänge von 1000 ms wurde diese auf 800, 500 und 400 ms verringert. Die Stimulation erfolgte dabei über die rechtsventrikulär endokardiale Ableitung (Endorx). Die Aufzeichnung der Ausgangsdaten bei der jeweiligen Zykluslänge (CL) erfolgte nach mindestens 100 Schlägen, die nicht durch eine ventrikuläre Extrasystole für mindestens 25 Schläge unterbrochen wurden (Kontrolle). Nach Abschluss der Datenaufzeichnung wurde der Perfusionslösung d-Sotalol in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l zugegeben. Nach frühestens einer Minute Perfusion mit d-Sotalol erfolgte die Datenaufzeichnung bei einer Basiszykluslänge von 1000, 800, 500 und 400 ms. Um Veränderungen der Parameter durch Ranolazin und Flunarizin zu untersuchen, wurden die Substanzen in den entsprechenden Konzentrationen der Tyrode-Lösung zu d-Sotalol hinzugefügt. Dabei wurde Ranolazin in einer Konzentration von 5 oder 10 $\mu\text{mol/l}$ und Flunarizin in einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ verwendet. Die Aufzeichnung der Daten erfolgte unter den gleichen Bedingungen und bei den gleichen Zykluslängen wie in den bereits beschriebenen Protokollschritten.

2.4.2 Induktion von TdP-Arrhythmien

Zur Induktion von TdP-Arrhythmien wurde folgendes Protokoll verwendet. Nach Erfassung des Steady-State für die Kontrolle und d-Sotalol wurde im folgenden Protokollschritt ein Perfusat mit erniedrigter K^+ -Konzentration (25% $\text{K}^+ = 1,2 \text{ mmol/l}$) und d-Sotalol in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l verwendet. Die Daten wurden bei einer Zykluslänge von 1000 ms dokumentiert. Sobald getriggerte Arrhythmien auftraten wurde die Basisstimulation unterbrochen, um diese nicht zu überlagern. Nach spätestens 5 Minuten wurde die Perfusion mit erniedrigter K^+ -Konzentration beendet und eine normale Tyrode-Lösung für mindestens 30 Minuten perfundiert. Anschließend wurde das gleiche Protokoll wiederholt mit einer Tyrode-Lösung, die zusätzlich zu d-Sotalol Ranolazin oder Flunarizin in den entsprechenden Dosierungen enthielt. Das experimentelle Protokoll ist in Abbildung 2.6 dargestellt.

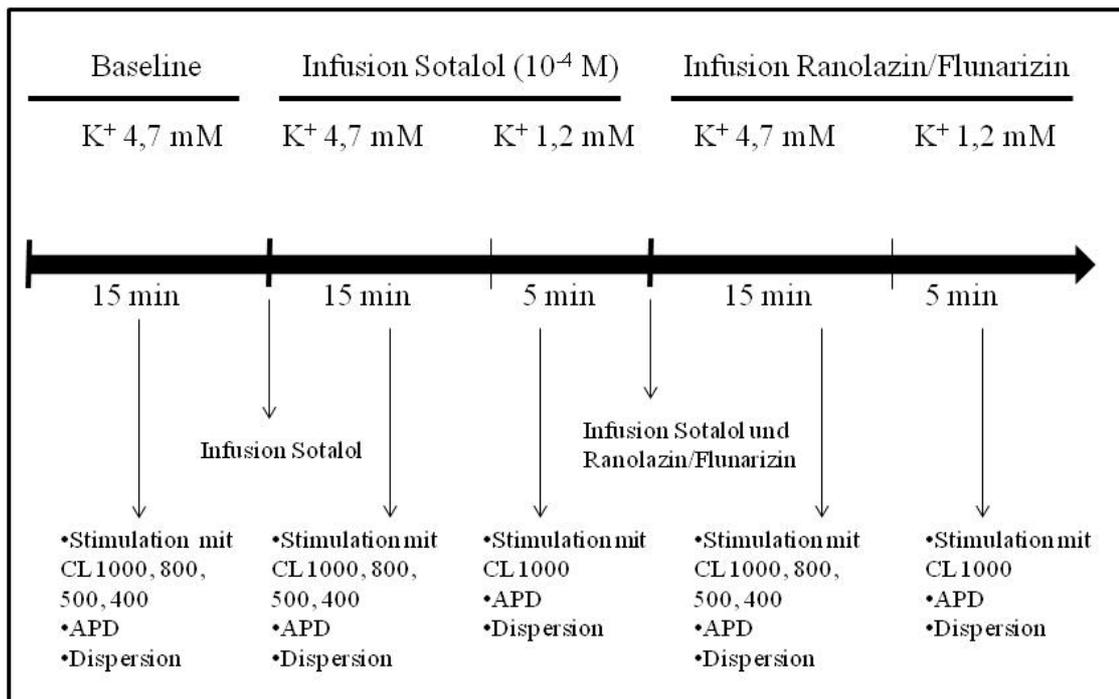


Abbildung 2.6 Experimentelles Protokoll.

2.5 Datenanalyse und Statistik

Mit Hilfe einer interaktiven Labview-Analysesoftware (Programmiersprache Labview Version 2.2 für Macintosh, National Instruments, Austin, USA) wurden ausgewählte AP eingelesen und vergrößert auf dem Computerbildschirm angezeigt (Abbildung 2.8). Die Auswertung der MAP-Signale erfolgte anhand der Parameter APD₉₀ und Dispersion von APD₉₀. Die Parameter wurden wie folgt definiert: APD₉₀ bezeichnet das Intervall vom steilsten Anstieg der Depolarisation (MAP-Aufstrich) bis zur 90%igen Repolarisation des APs. Die Dispersion von APD₉₀ wurde als die größtmögliche Differenz aller APD₉₀-Messwerte in den auswertbaren Ableitungen definiert. Für die abschließende Datenanalyse wurden nur Versuche mit mindestens 5 auswertbaren MAP-Ableitungen verwendet. Abbildung 2.9 zeigt ein Beispiel für die Aufzeichnung eines MAPs mit den entsprechend markierten Parametern.

Die Auszählung der EADs erfolgte für jedes Experiment für 120 s. EADs wurden als positive Auslenkung vor Abschluss der Repolarisationsphase des Aktionspotentials definiert (Abbildung 2.7).

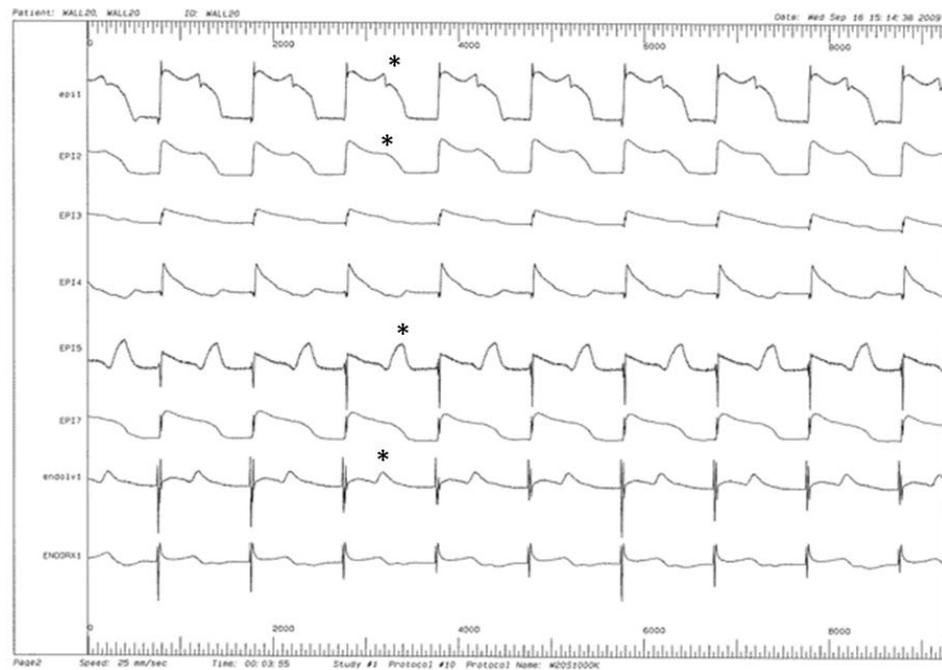


Abbildung 2.7 Beispiel für EADs (*): Positive Auslenkung vor Abschluss der Repolarisationsphase des Aktionspotentials (eigene Abbildung).

Die Rohdaten der Experimente wurden in GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) importiert und dort statistisch und graphisch ausgewertet. Die statistische Analyse erfolgte mit dem gepaarten Student t-Test und der Zwei-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) bei wiederholten Messungen sowie dem Holm-Sidak-Post-Hoc-Test. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0.05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Die Daten sind im Ergebnisteil als arithmetisches Mittel \pm Standardfehler des Mittelwertes (*standard error of the mean*=S.E.M.) dargestellt. Dieser berechnet sich wie folgt:

$$\text{S.E.M.} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Formel 2.1 S.E.M.: Standardfehler des Mittelwertes, n : Anzahl, σ : Varianz, σ : Standardabweichung

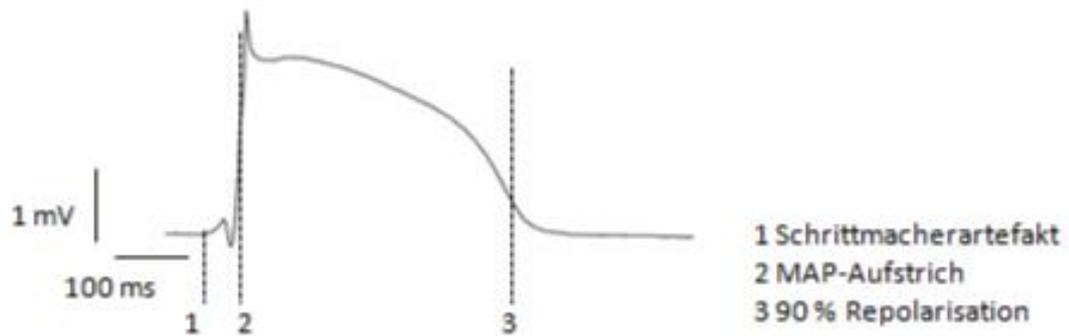


Abbildung 2.8 Aufzeichnung eines MAP mit Kennzeichnung der relevanten Parameter (eigene Abbildung).

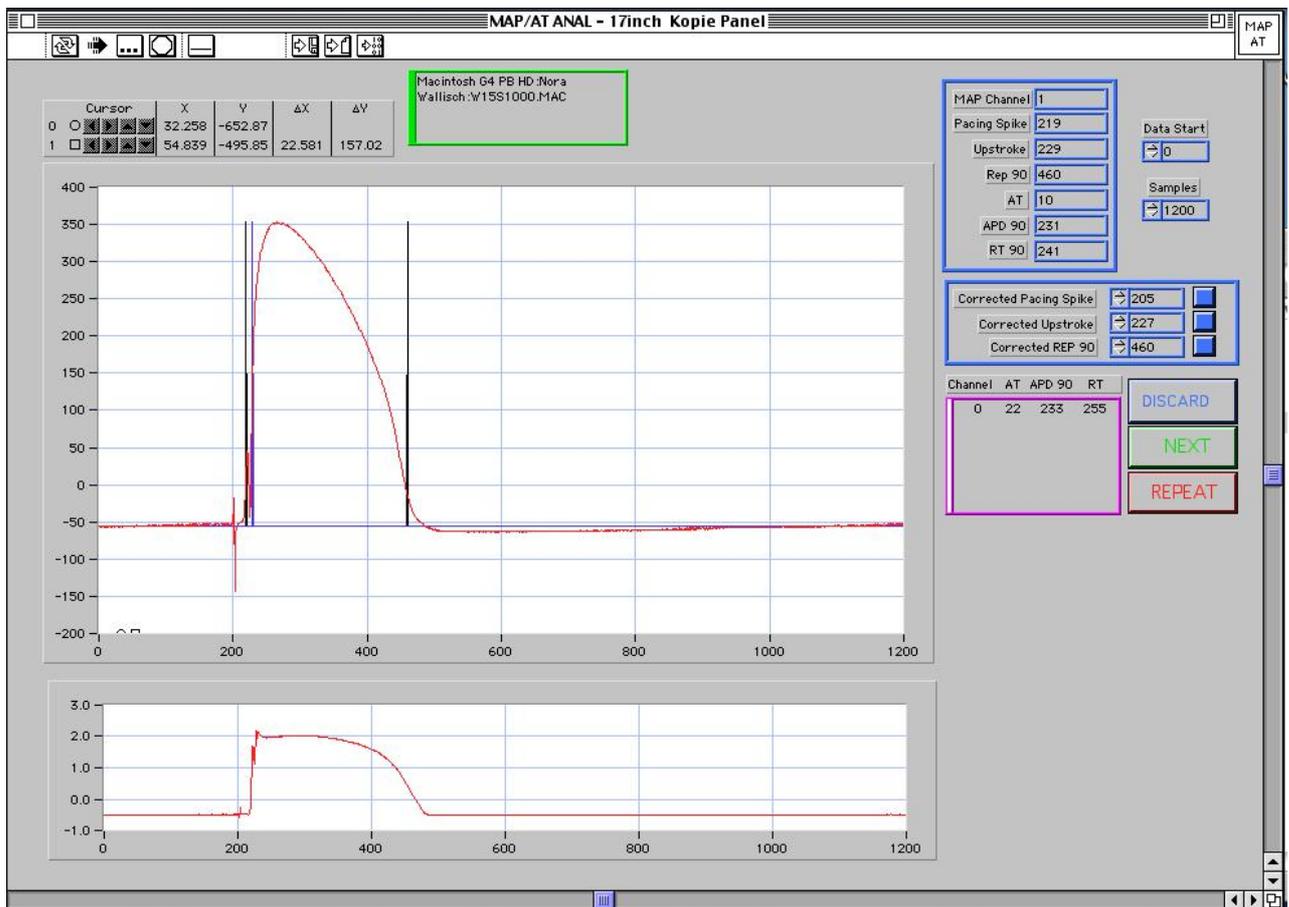


Abbildung 2.9 Darstellung der Labview-Analysesoftware zur Auswertung der AP auf APD₉₀ und Dispersion von APD₉₀ (eigene Abbildung).

3. Ergebnisse

3.1 Veränderung der APD₉₀

3.1.1 Wirkung von d-Sotalol auf die APD₉₀

Isolierte Kaninchenherzen wurden mit einer Tyrode-Lösung am Langendorff-Modell perfundiert und mit zunehmenden Zykluslängen stimuliert.

Unter Kontrollbedingungen betrug die APD₉₀ bei einer Zykluslänge von 800 ms 205 ± 24 ms. Nach Zugabe von 10^{-4} mol/l d-Sotalol kam es zu einem statistisch signifikanten Anstieg der APD₉₀ auf 238 ± 22 ms (jeweils n=5, p<0,05). Bei einer Zykluslänge von 400 ms stieg die APD₉₀ von 168 ± 12 ms auf 193 ± 9 ms nach der Gabe von d-Sotalol an. Abbildung 3.1 und Abbildung 3.2 veranschaulichen die signifikante Verlängerung der APD₉₀ durch d-Sotalol bei einer Zykluslänge von 800 ms.

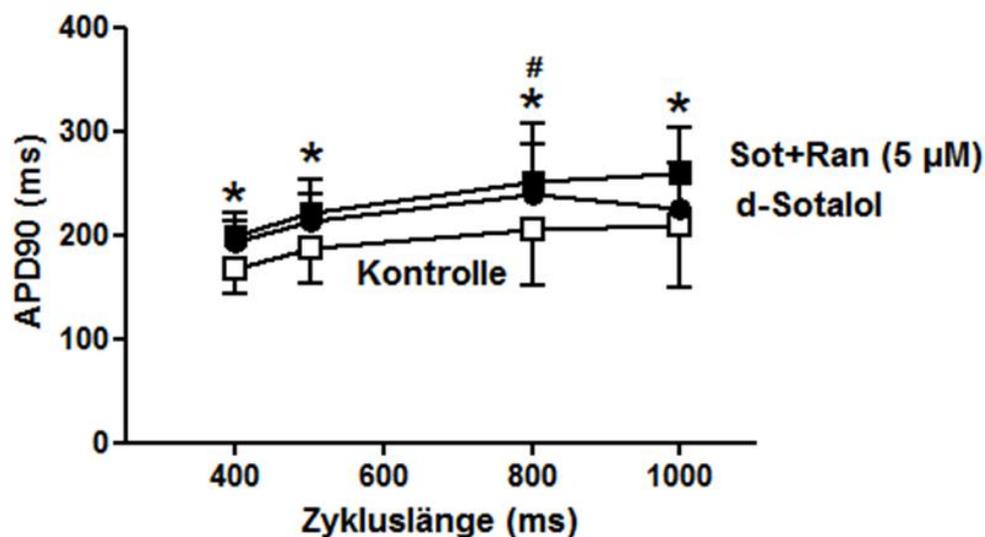


Abbildung 3.1 Einfluss von d-Sotalol (Sot) und Ranolazin (Ran) auf die APD₉₀ in Abhängigkeit von der Zykluslänge. d-Sotalol zeigte bei einer Zykluslänge von 800 ms eine signifikante (#) Verlängerung der APD₉₀ verglichen mit der Kontrolle. Die Kombination von d-Sotalol mit 5 µmol/l Ranolazin zeigte bei allen Zykluslängen eine Signifikanz (*) im Vergleich zur Kontrolle.

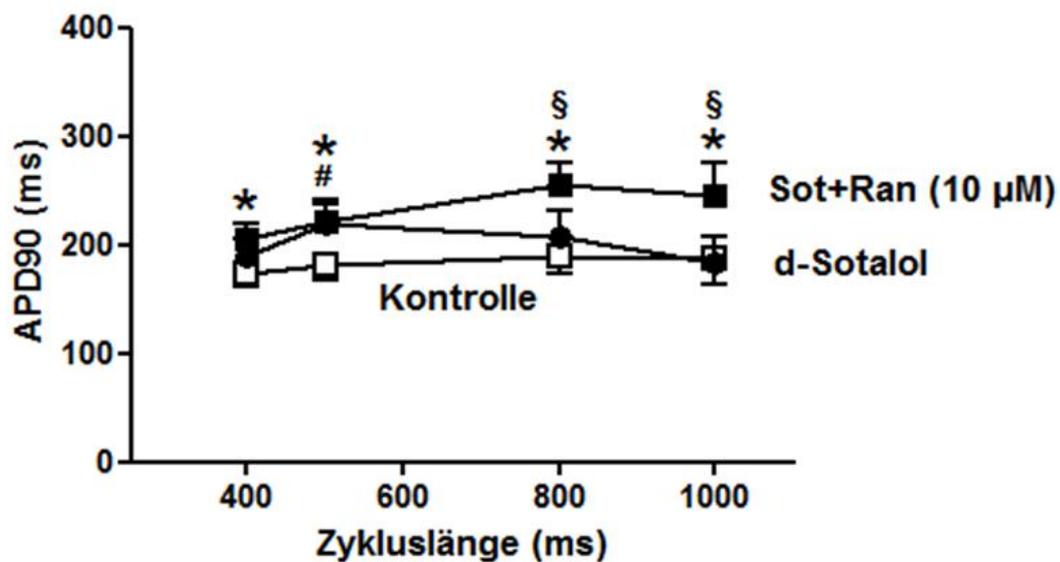


Abbildung 3.2 Einfluss von d-Sotalol und Ranolazin auf die APD₉₀ in Abhängigkeit von der Zykluslänge. d-Sotalol führte zu einer signifikanten (#) Verlängerung der APD₉₀ bei einer Zykluslänge von 500 ms verglichen mit der Kontrolle. Durch Zugabe von 10 µmol/l Ranolazin zu d-Sotalol wurde die APD₉₀ noch weiter verlängert (§). Im Vergleich der Kontrolle mit der gleichzeitigen Gabe von d-Sotalol und 10 µmol/l Ranolazin konnte eine signifikant (*) verlängerte APD₉₀ beobachtet werden.

3.1.2 Wirkung von Ranolazin auf die APD₉₀

In Abbildung 3.1 ist zu erkennen, dass es bei der Infusion von d-Sotalol in Kombination mit 5 µmol/l Ranolazin zu einer signifikanten Erhöhung der APD₉₀ verglichen mit der Kontrolle kam (Zykluslänge von 800 ms, jeweils n=5, p<0,01 RM-ANOVA). Die APD₉₀ war mit 251 ± 25 ms höher als die APD₉₀ von 238 ± 22 ms unter alleiniger Anwesenheit von d-Sotalol. Es zeigte sich jedoch keine statistische Signifikanz zwischen Herzen, die mit d-Sotalol alleine und Herzen, die in Kombination mit 5 µmol/l Ranolazin behandelt wurden (p=0,52 RM-ANOVA). Im Gegensatz dazu kam es nach der zusätzlichen Gabe von 10 µmol/l Ranolazin zu d-Sotalol zu einer statistisch signifikanten Verlängerung der APD₉₀ (jeweils n=5, Abbildung 3.2). Bei einer Stimulation mit einer Zykluslänge von 800 ms verlängerte sich die APD₉₀ von 207 ± 11 ms unter alleiniger d-Sotalolinfusion auf 255 ± 10 ms nach zusätzlicher Gabe der doppelten Konzentrationsmenge von Ranolazin (jeweils n=5, p<0,05 RM-ANOVA).

Man gelangt zur gleichen Beobachtung, wenn man sich die Ergebnisse bei Zufuhr der Tyrode-Lösung mit erniedrigter K^+ -Konzentration (1,2 mmol/l) ansieht. Es zeigte sich keine statistisch signifikante Verlängerung der APD_{90} nach Infusion von 5 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin zusätzlich zu d-Sotalol verglichen mit alleiniger d-Sotalolinfusion (Abbildung 3.3, jeweils $n=5$, $p=0,1$ RM-ANOVA). Bei Zufuhr von 10^{-4} mol/l d-Sotalol zur Lösung mit erniedrigter K^+ -Konzentration lag die APD_{90} bei 378 ± 50 ms, nach dem Hinzufügen von 5 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin betrug die APD_{90} 434 ± 50 ms. Dagegen zeigte sich bei kombinierter Gabe von d-Sotalol und 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin ein statistisch signifikanter Anstieg der APD_{90} auf 348 ± 20 ms im Vergleich zur alleinigen d-Sotalolgabe mit einer APD_{90} von 275 ± 28 ms (Abbildung 3.4, jeweils $n=5$, $p<0,01$ RM-ANOVA).

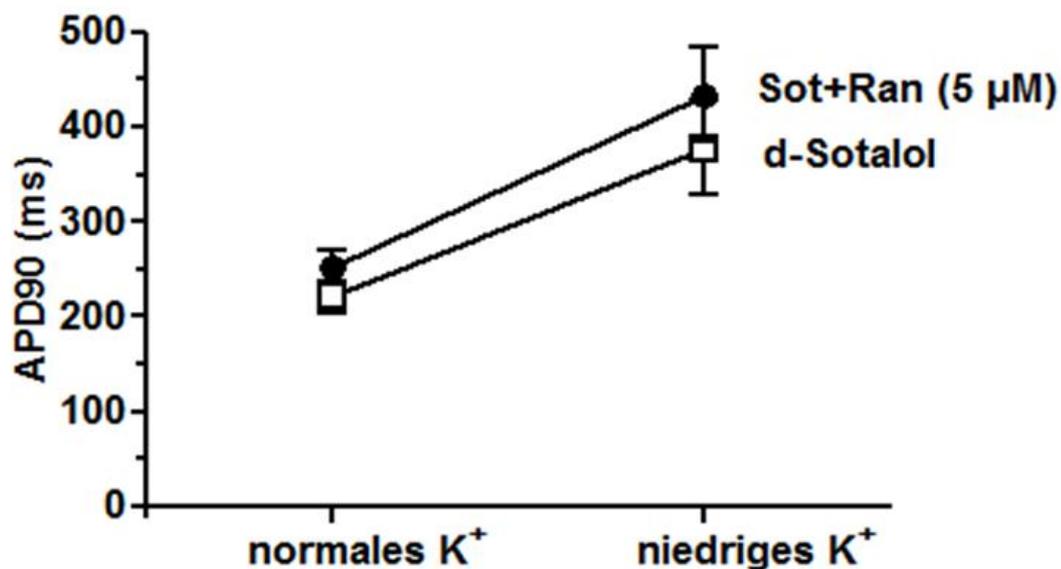


Abbildung 3.3 Einfluss einer vorübergehend erniedrigten K^+ -Konzentration auf die APD_{90} .

Die K^+ -Konzentration wurde jeweils für 5 min auf 25% gesenkt. Beim Vergleich der APD_{90} von Herzen die mit d-Sotalol behandelt wurden und solchen, denen zusätzlich 5 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin verabreicht wurde, zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

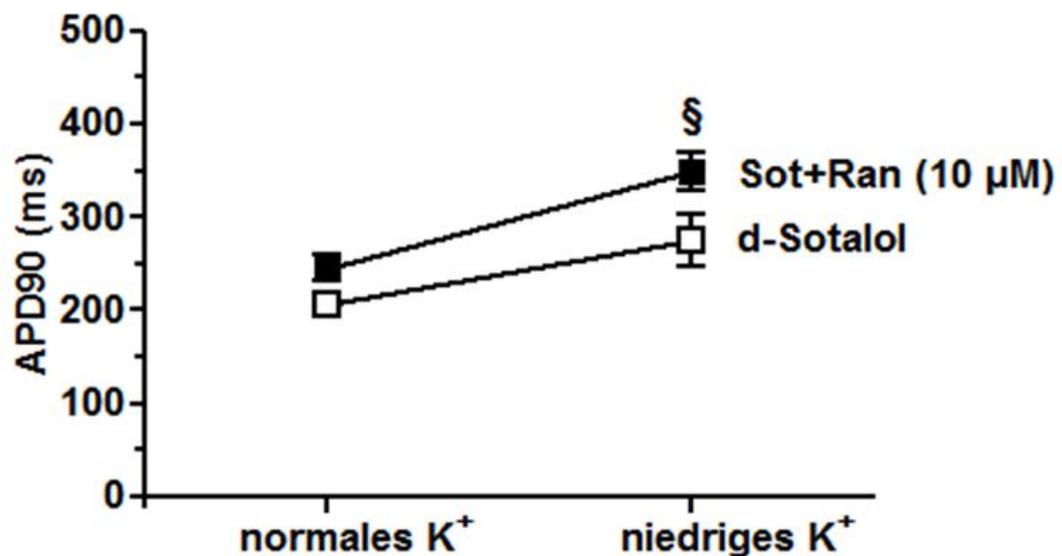


Abbildung 3.4 Einfluss einer vorübergehend erniedrigten K⁺-Konzentration auf die APD₉₀. Die K⁺-Konzentration wurde jeweils für 5 min auf 25% gesenkt. Vergleicht man die APD₉₀ nach Gabe von d-Sotalol ohne Ranolazin und nach Gabe von d-Sotalol mit 10 µmol/l Ranolazin, so beobachtet man eine signifikante (§) Verlängerung bei der zusätzlichen Applikation von 10 µmol/l Ranolazin.

3.1.3 Wirkung von Flunarizin auf die APD₉₀

Bei der kombinierten Gabe von d-Sotalol und 10 µmol/l Flunarizin zeigte sich keine signifikante Änderung der APD₉₀ im Vergleich mit der alleinigen d-Sotalolgabe (n=5, p>0,05 RM-ANOVA, Abbildung 3.5). Es konnte auch kein frequenzabhängiger Effekt beobachtet werden. Bei einer Zykluslänge von 1000 ms lag die APD₉₀ während alleiniger d-Sotalolgabe bei 227 ± 4 ms und nach Infusion von Flunarizin bei 225 ± 9 ms. Bei hohen Stimulationsfrequenzen von 400 ms betrug die APD₉₀ 190 ± 6 ms unter d-Sotalol bzw. 189 ± 2 unter d-Sotalol und Flunarizin. Stellt man die Werte der APD₉₀ bei Kombination von d-Sotalol und Flunarizin den Werten der Kontrolle gegenüber, so stellt man fest, dass es zu einer statistisch signifikanten Erhöhung der APD₉₀ durch Flunarizin kam. Die APD₉₀ stieg von 175 ± 4 ms auf 189 ± 2 ms an (Zykluslänge von 400 ms, jeweils n=5, p<0,05 RM-ANOVA).

Wurde die K⁺-Konzentration während der Infusion von d-Sotalol auf 1,2 mmol/l verringert, so kam es zu einer statistisch signifikanten Erhöhung der APD₉₀ von 227 ± 4 ms auf 347 ± 22 ms (jeweils n=5, p<0,01 vs. normale K⁺-Konzentration, Abbildung 3.7). Be-

trachtet man die Ergebnisse nach Zugabe von Flunarizin zu d-Sotalol verglichen mit der alleinigen d-Sotalolinfusion, so zeigt sich keine statistisch signifikante Veränderung der APD₉₀ bei Zufuhr der Tyrode-Lösung mit erniedrigter K⁺-Konzentration (jeweils n=5, p>0,05 RM-ANOVA). Bei niedriger K⁺-Konzentration und Verabreichung von d-Sotalol betrug die APD₉₀ 347 ± 22 ms und ging nach Hinzufügen von Flunarizin auf 281 ± 23 ms zurück. Diese Reduktion war statistisch nicht signifikant (jeweils n=5, p>0,05 RM-ANOVA, Abbildung 3.6).

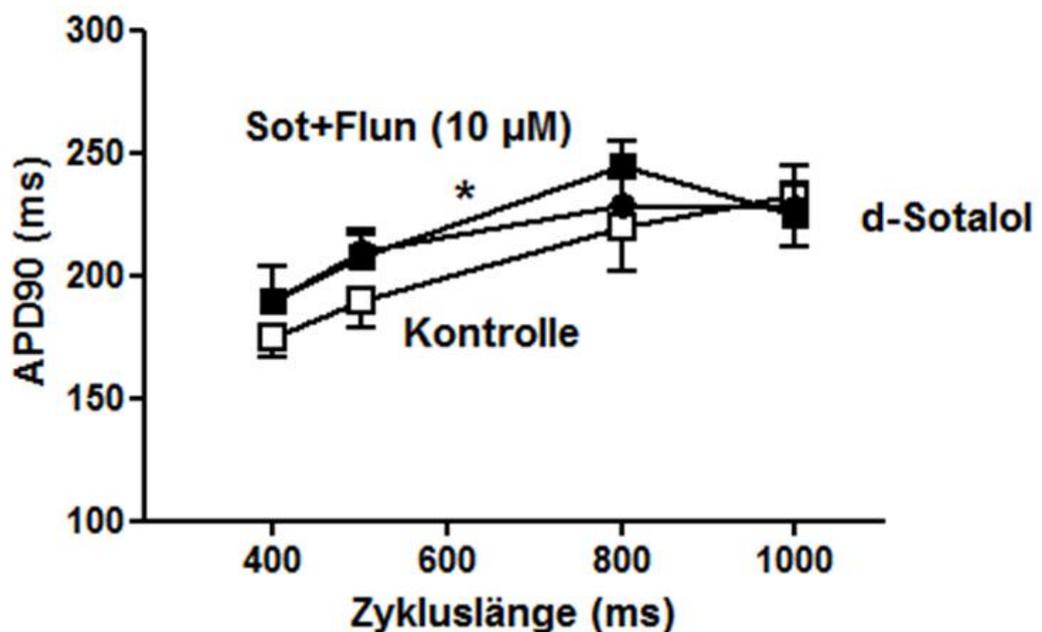


Abbildung 3.5 Einfluss von d-Sotalol und 10 μmol/l Flunarizin auf die APD₉₀ in Abhängigkeit von der Zykluslänge. Im Vergleich der Kontrolle mit der gleichzeitigen Gabe von d-Sotalol und Flunarizin konnte eine signifikant (*) verlängerte APD₉₀ beobachtet werden.

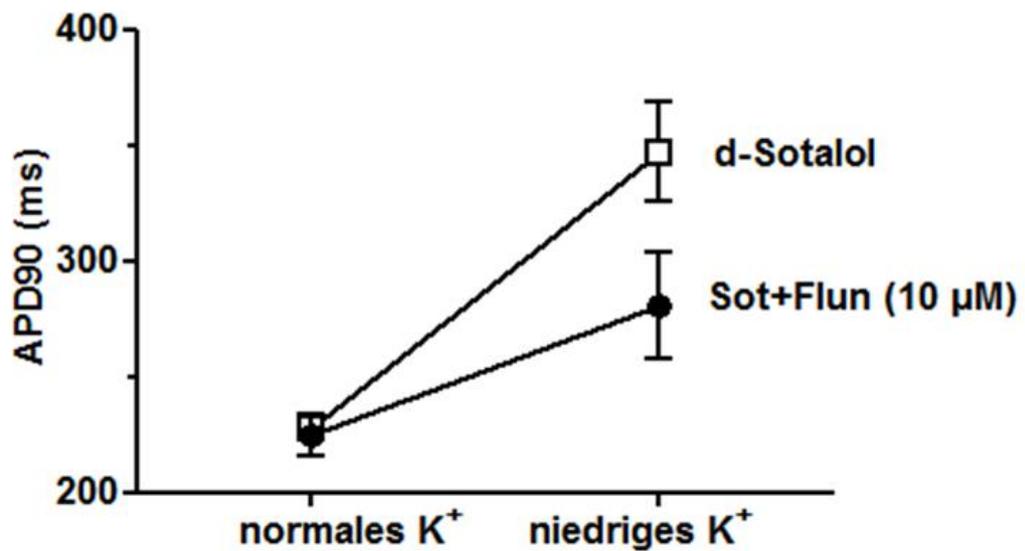


Abbildung 3.6 Einfluss einer vorübergehend erniedrigten K⁺-Konzentration auf die APD₉₀. Bei Vergleich von APD₉₀ nach Gabe von d-Sotalol und nach Gabe von d-Sotalol mit 10 µmol/l Flunarizin zeigt sich keine statistisch signifikante Änderung.

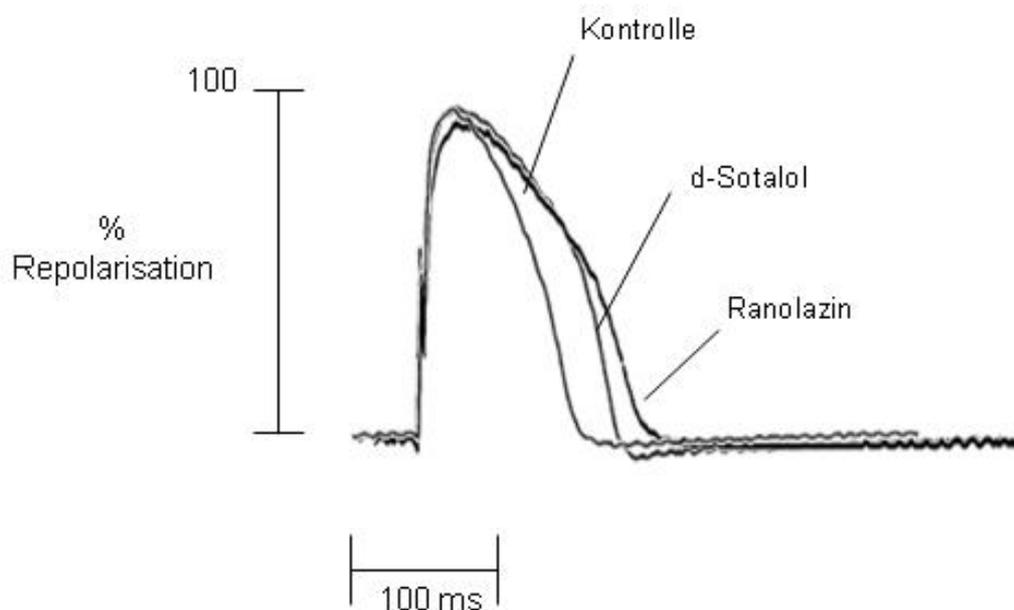


Abbildung 3.7 Repräsentative MAP von einem Experiment zur Darstellung der Wirkung von Ranolazin auf die APD₉₀ im Vergleich zur Kontrolle und d-Sotalol (eigene Abbildung).

3.2 Veränderung der Dispersion von APD₉₀

3.2.1 Wirkung von d-Sotalol auf die Dispersion von APD₉₀

Nach Zugabe von d-Sotalol erfolgte die Stimulation erneut mit den Zykluslängen 400, 500, 800, und 1000 ms. Aus Abbildung 3.8 wird ersichtlich, dass es bei einer Zykluslänge von 800 ms unter d-Sotalol im Vergleich zur Kontrolle zu einer deutlichen Erhöhung der Dispersion von APD₉₀ von 37 ± 4 ms auf 72 ± 10 ms kam (jeweils $n=5$, $p<0,01$ RM-ANOVA).

3.2.2 Wirkung von Ranolazin auf die Dispersion von APD₉₀

Im Durchschnitt lag die Dispersion von APD₉₀ bei einer Zykluslänge von 800 ms in Gegenwart von d-Sotalol und $5 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin bei 48 ± 8 ms. Sie war damit statistisch nicht signifikant unterschiedlich zur Kontrolle (jeweils $n=5$, $p=0,26$ RM-ANOVA, Abbildung 3.8). Dagegen kam es nach der Zugabe von $10 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin zu d-Sotalol zu einer signifikanten Reduktion der Dispersion von APD₉₀ im Vergleich zur alleinigen Gabe von d-Sotalol (jeweils $n=5$, $p<0,05$ RM-ANOVA, Abbildung 3.9). Wenn die K^+ -Konzentration während einer niedrigen Stimulationsfrequenz von 1000 ms auf $1,2 \text{ mmol/l}$ reduziert wurde, stieg die Dispersion von APD₉₀ unter d-Sotalol an (jeweils $n=5$, $p<0,05$). Auch die Kombination von d-Sotalol mit Ranolazin führte zu einer deutlichen Erhöhung der Dispersion von APD₉₀ bei niedriger K^+ -Konzentration (jeweils $n=5$, $p<0,05$ vs. normale K^+ -Konzentration). So stieg die Dispersion von APD₉₀ unter Gabe von d-Sotalol und $5 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin nach Senkung auf 25% der K^+ -Konzentration signifikant von 46 ± 6 ms auf 179 ± 43 ms an (Abbildung 3.10). Bei der kombinierten Gabe von d-Sotalol und $10 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin erhöhte sich die Dispersion von APD₉₀ von 70 ± 24 ms auf 150 ± 19 ms nach Senkung der K^+ -Konzentration (Abbildung 3.11).

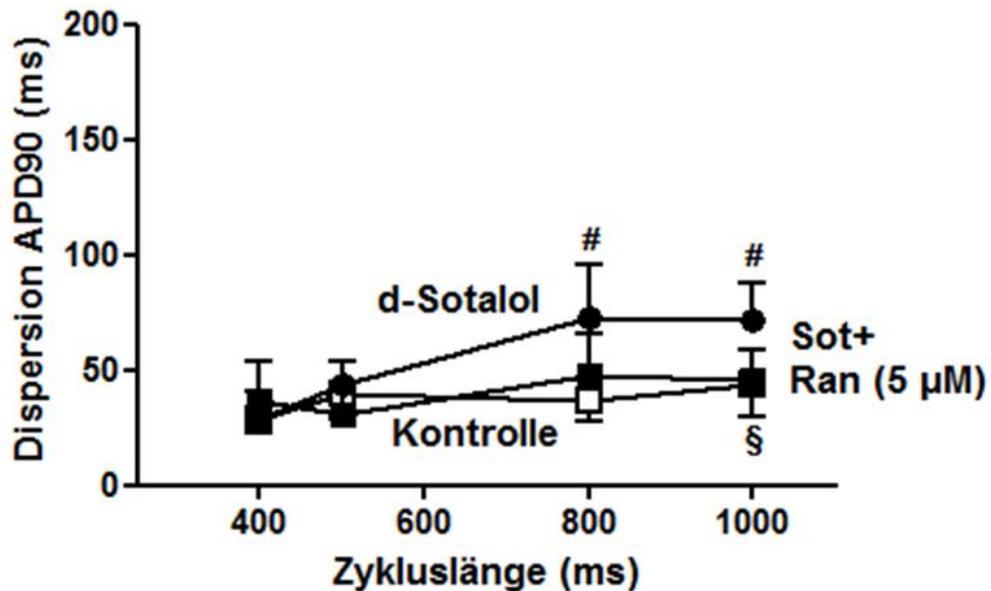


Abbildung 3.8 Einfluss von d-Sotalol und Ranolazin auf die Dispersion von APD₉₀ in

Abhängigkeit von der Zykluslänge. Nach Gabe von d-Sotalol kam es zu einer signifikant (#) erhöhten Dispersion von APD₉₀ verglichen mit der Kontrolle. Bei einer Zykluslänge von 1000 ms kam es durch die zusätzliche Gabe von 5 µmol/l Ranolazin zu d-Sotalol zu einer signifikanten (§) Reduktion der Dispersion von APD₉₀.

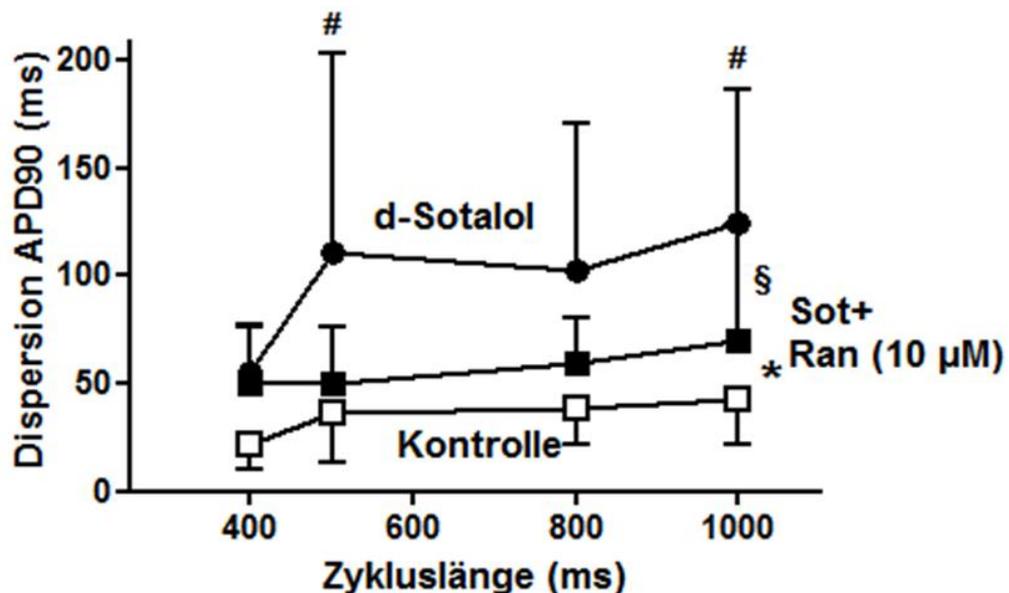


Abbildung 3.9 Einfluss von d-Sotalol und Ranolazin auf die Dispersion von APD₉₀ in

Abhängigkeit von der Zykluslänge. Die durch d-Sotalol hervorgerufene signifikante (#) Erhöhung der Dispersion von APD₉₀, konnte durch die Zugabe von 10 µmol/l Ranolazin signifikant (§) reduziert werden. Auch im Vergleich mit der Kontrolle führte die Kombination von d-Sotalol und 10µmol/l Ranolazin zu einem signifikanten (*) Rückgang der Dispersion von APD₉₀.

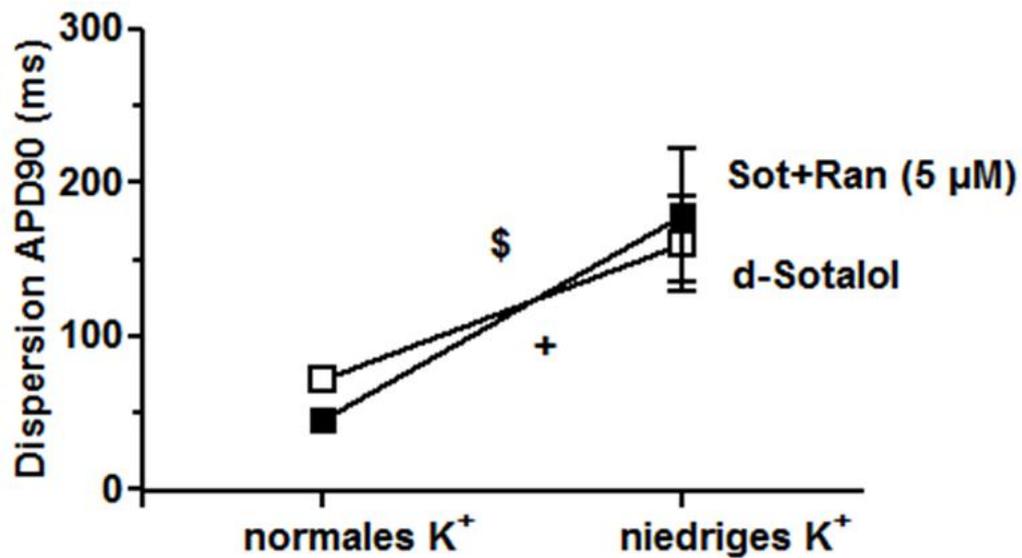


Abbildung 3.10 Einfluss einer vorübergehend erniedrigten K⁺-Konzentration auf die Dispersion von APD₉₀. Bei einer niedrigen K⁺-Konzentration von 25% führte d-Sotalol alleine (\$) oder in Kombination mit 5 µmol/l Ranolazin (+) zu einer signifikanten Erhöhung der Dispersion von APD₉₀ im Vergleich zur normalen K⁺-Konzentration.

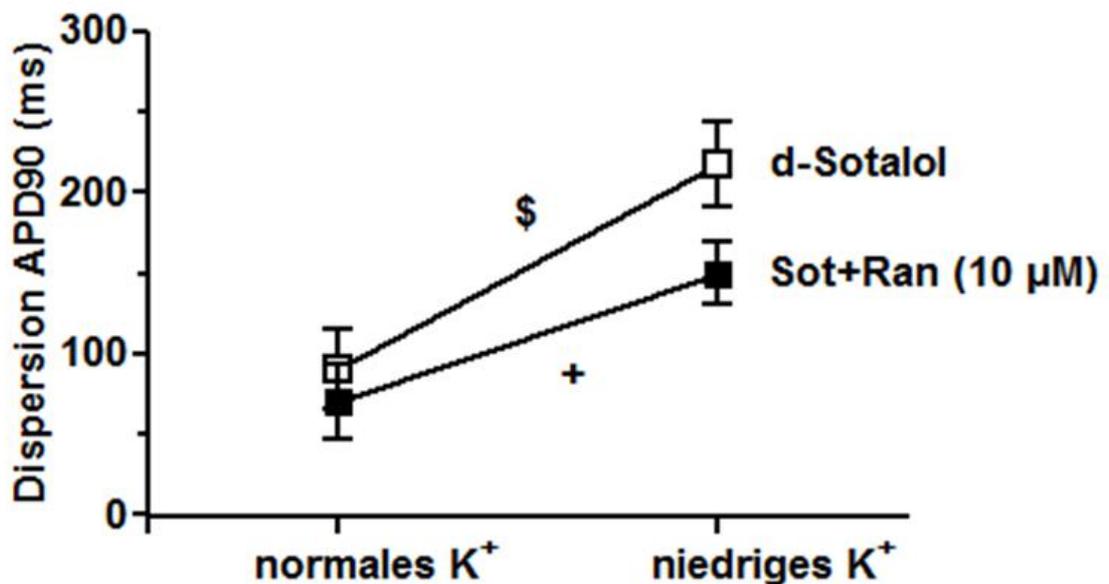


Abbildung 3.11 Einfluss einer vorübergehend erniedrigten K⁺-Konzentration auf die Dispersion von APD₉₀. Bei einer niedrigen K⁺-Konzentration von 25% führte d-Sotalol alleine (\$) oder in Kombination mit 10 µmol/l Ranolazin (+) zu einer signifikanten Erhöhung der Dispersion von APD₉₀ im Vergleich zur normalen K⁺-Konzentration.

3.2.3 Wirkung von Flunarizin auf die Dispersion von APD₉₀

Die Dispersion von APD₉₀ lag bei einer Zykluslänge von 1000 ms bei 51 ± 6 ms nach der Zugabe von d-Sotalol und $10 \mu\text{mol/l}$ Flunarizin. Sie war somit statistisch nicht signifikant im Vergleich zur Kontrolle mit einer Dispersion der APD₉₀ von 42 ± 8 ms (jeweils $n=5$, $p>0,05$ RM-ANOVA, Abbildung 3.12). Nach alleiniger Zugabe von d-Sotalol lag die Dispersion der APD₉₀ bei 41 ± 4 ms. Dementsprechend zeigte sich keine Signifikanz im Vergleich zur gemeinsamen Gabe von d-Sotalol und Flunarizin (Zykluslänge 1000 ms, jeweils $n=5$, $p>0,05$ RM-ANOVA).

Bei der alleinigen Infusion von d-Sotalol zeigte sich nach Reduktion der K^+ -Konzentration auf $1,2 \text{ mmol/l}$ eine deutliche Erhöhung der Dispersion von APD₉₀ von 50 ± 10 ms auf 181 ± 36 ms. Diese war statistisch signifikant (jeweils $n=5$, $p=0,01$ vs. normale K^+ -Konzentration, Abbildung 3.13). Bei der Zufuhr von d-Sotalol und $10 \mu\text{mol/l}$ Flunarizin lag die Dispersion von APD₉₀ während der niedrigen K^+ -Konzentration bei 61 ± 6 ms. Demzufolge war sie statistisch signifikant im Vergleich zur Verabreichung von d-Sotalol bei erniedrigter K^+ -Konzentration (jeweils $n=5$, $p=0,01$ RM-ANOVA, Abbildung 3.13).

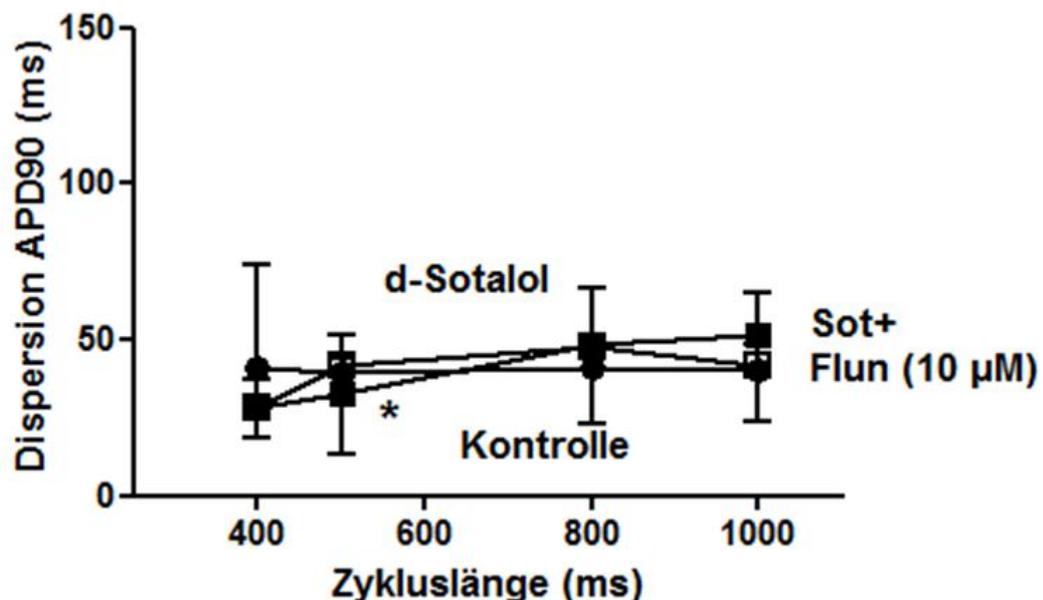


Abbildung 3.12 Einfluss von d-Sotalol und $10 \mu\text{mol/l}$ Flunarizin auf die Dispersion von APD₉₀ in Abhängigkeit von der Zykluslänge. Nach der kombinierten Gabe von d-Sotalol und Flunarizin kam es zu einer signifikant (*) erhöhten Dispersion von APD₉₀ verglichen mit der Kontrolle.

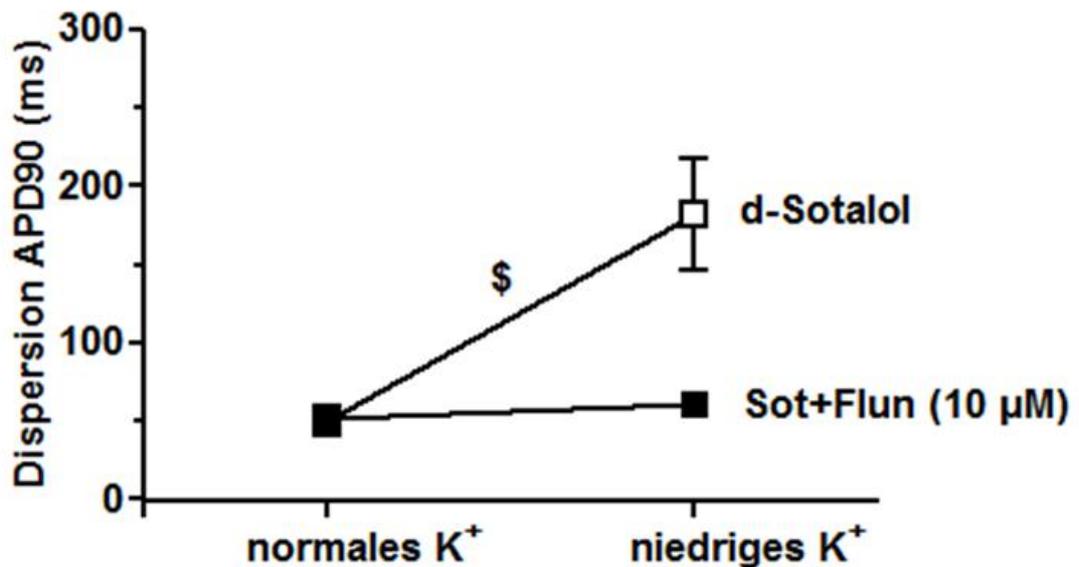


Abbildung 3.13 Einfluss einer vorübergehend erniedrigten K⁺-Konzentration auf die Dispersion von APD₉₀. Bei Infusion der Tyrode-Lösung mit niedriger K⁺-Konzentration und d-Sotalol, zeigte sich eine statistisch signifikante Erhöhung der Dispersion verglichen mit Werten bei normaler K⁺-Konzentration und Gabe von d-Sotalol (\$).

3.3 Einfluss auf das Auftreten von EADs und TdP-Arrhythmien

3.3.1 Einfluss von Ranolazin auf das Auftreten von EADs und TdP-Arrhythmien

Bei einer normalen K⁺-Konzentration von 4,8 mmol/l unter Steady-State-Bedingungen wurden keine EADs und keine TdP-Arrhythmien beobachtet. Sobald die K⁺-Konzentration auf 25% gesenkt wurde, konnten in allen Experimenten EADs und TdP-Arrhythmien beobachtet werden. Die Auszählung der EADs erfolgte für jedes Experiment für 120 s. TdP-Arrhythmien wurden als Schläge mit mindestens drei getriggerten Schlägen definiert. Sie traten zur gleichen Zeit auf wie eine erhöhte APD₉₀, eine erhöhte Dispersion von APD₉₀ und eine erhöhte Anzahl an EADs. Es zeigte sich kein Unterschied in der Anzahl der EADs bei d-Sotalol alleine oder in Kombination mit 5 µmol/l Ranolazin. Bei der Infusion von d-Sotalol traten im Durchschnitt 108 ± 5 EADs/120s auf, während nach Zugabe von 5 µmol/l Ranolazin 104 ± 14 EADs/120s auftraten ($p=0,79$, Abbildung 3.14). Die höhere Konzentration Ranolazin von 10 µmol/l reduzierte das getriggerte Auf-

treten von EADs. Wie in Abbildung 3.15 veranschaulicht, zeigte sich eine signifikante Reduktion von 99 ± 13 EADs/120s auf 45 ± 12 EADs/120s ($p < 0,05$). Betrachtet man die Veränderung in der Anzahl der getriggerten Schläge unter der Therapie mit Ranolazin, so kann man konstatieren, dass Ranolazin das Auftreten von TdP-Arrhythmien unterdrückt. Bei Herzen, die nur mit einer niedrigen K^+ -Konzentration und d-Sotalol behandelt wurden, zeigten sich 9 ± 3 TdP/Experiment. Nach der Zugabe von $5 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin kam es zu einem Rückgang der TdP-Arrhythmien in den Experimenten auf 5 ± 3 TdP/Experiment. Dieser war statistisch nicht signifikant ($p = 0,37$, Abbildung 3.17). Ranolazin in einer Konzentration von $10 \mu\text{mol/l}$ reduzierte das Auftreten von TdP-Arrhythmien signifikant von 4 ± 1 TdP/Experiment auf $0,6 \pm 0,6$ TdP/Experiment ($p < 0,05$, Abbildung 3.18).

3.3.2 Einfluss von Flunarizin auf das Auftreten von EADs und TdP-Arrhythmien

Die Anzahl der EADs betrug unter erniedrigter K^+ -Konzentration und d-Sotalol 117 ± 6 EADs/120s. Nach der Zugabe von Flunarizin gingen die EADs auf 70 ± 64 EADs/120s zurück. Diese Reduktion war statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$, Abbildung 3.16). Die Anzahl der getriggerten Schläge betrug bei Zufuhr der Tyrode-Lösung mit d-Sotalol und niedriger K^+ -Konzentration 7 ± 1 TdP/Experiment. Nach Verabreichung von $10 \mu\text{mol/l}$ Flunarizin kam es zu einer vollständigen Supprimierung der TdP-Arrhythmien ($p = 0,001$, Abbildung 3.19).

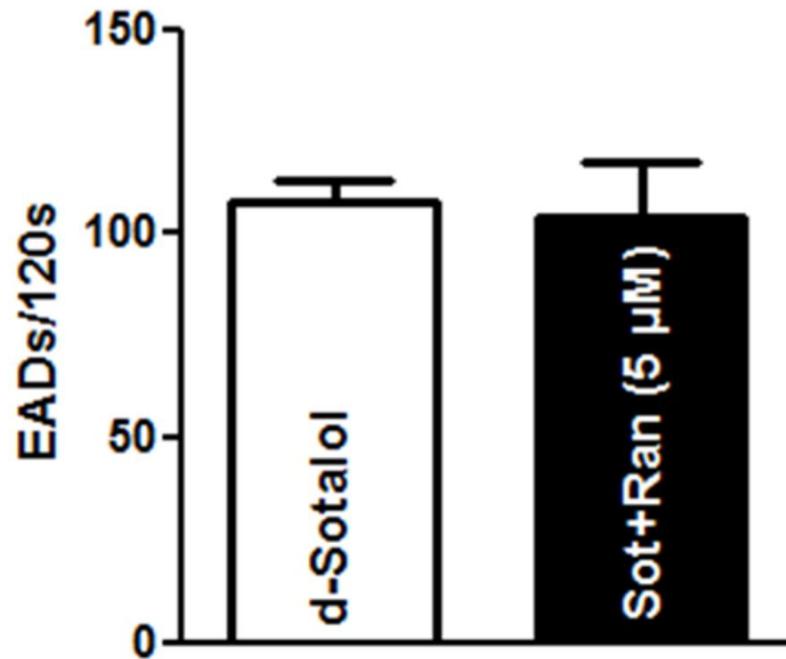


Abbildung 3.14 Mittelwerte der Anzahl von EADs von Herzen, die mit d-Sotalol alleine oder in Kombination mit 5 µmol/l Ranolazin behandelt wurden. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

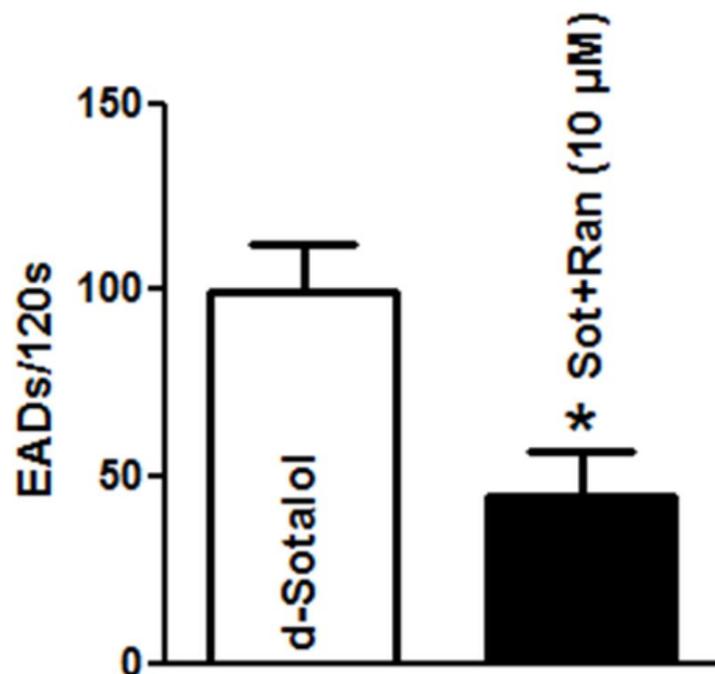


Abbildung 3.15 Mittelwerte der EADs von Herzen, die mit d-Sotalol alleine oder in Kombination mit 10 µmol/l Ranolazin behandelt wurden. Unter der Behandlung mit d-Sotalol und 10 µmol/l Ranolazin zeigte sich ein signifikanter (*) Rückgang von EADs verglichen mit der alleinigen Behandlung mit d-Sotalol.

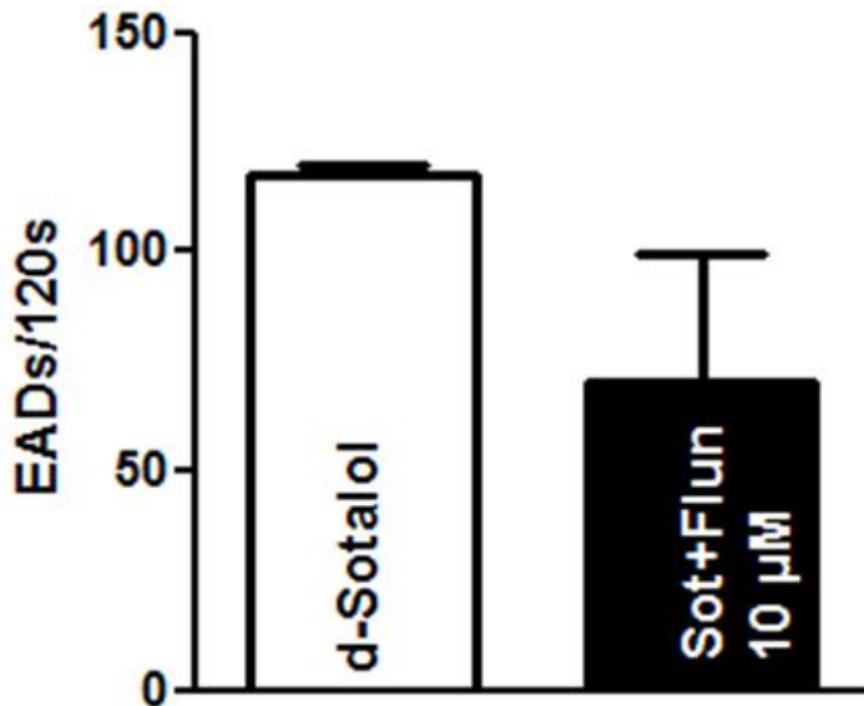


Abbildung 3.16 Mittelwerte der EADs von Herzen, die mit d-Sotalol alleine oder in Kombination mit 10 µmol/l Flunarizin behandelt wurden. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

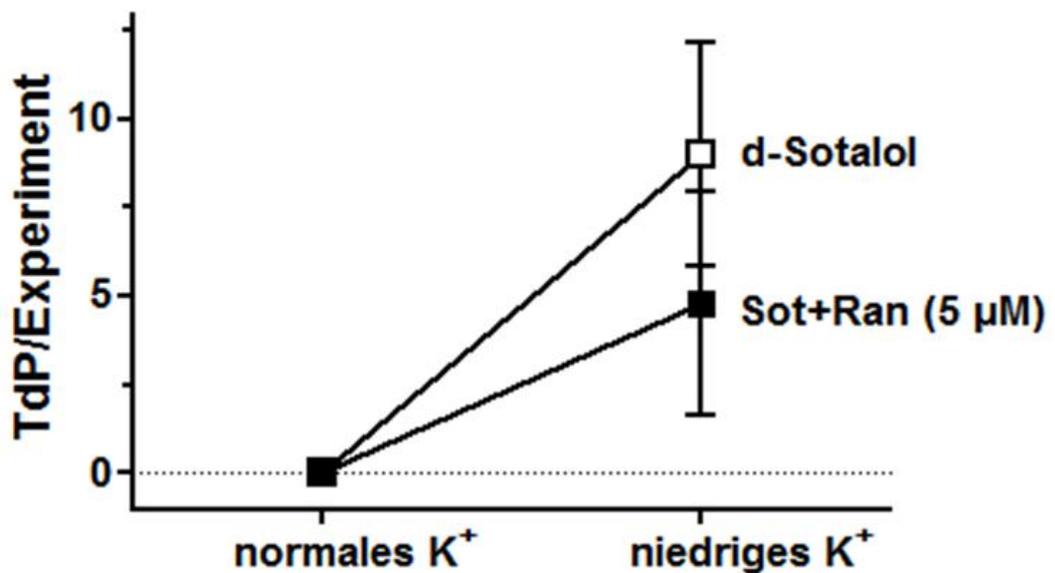


Abbildung 3.17 Mittelwerte der TdP von Herzen, die mit d-Sotalol alleine oder in Kombination mit 5 µmol/l Ranolazin behandelt wurden. Die Zugabe von 5 µmol/l Ranolazin bewirkte einen nicht signifikanten Rückgang von TdP.

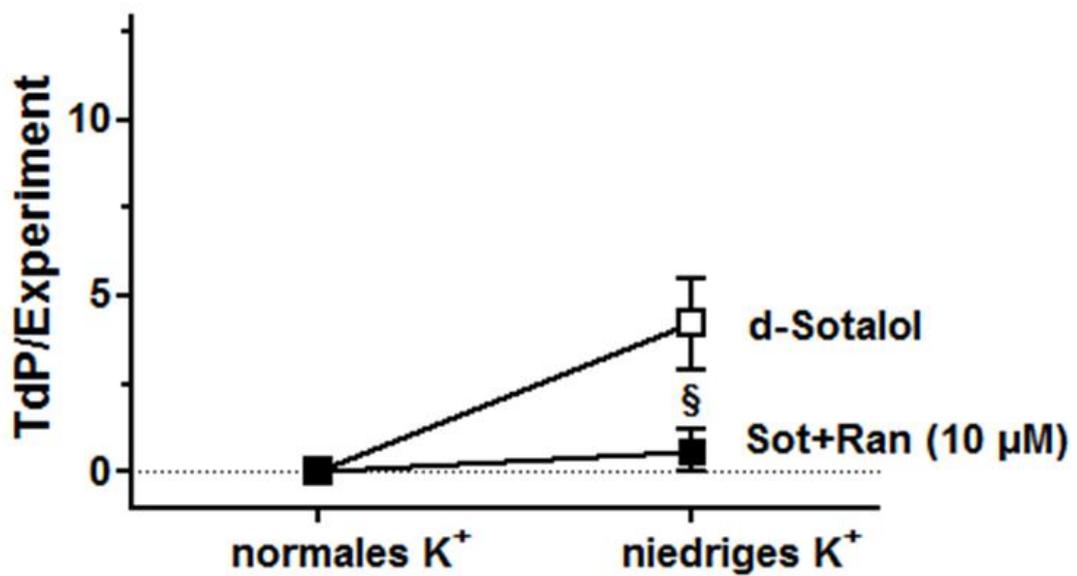


Abbildung 3.18 Mittelwerte der TdP von Herzen, die mit d-Sotalol alleine oder in Kombination mit 10 µmol/l Ranolazin behandelt wurden. Die Zugabe von 10 µmol/l Ranolazin bewirkte einen signifikanten (§) Rückgang von TdP.

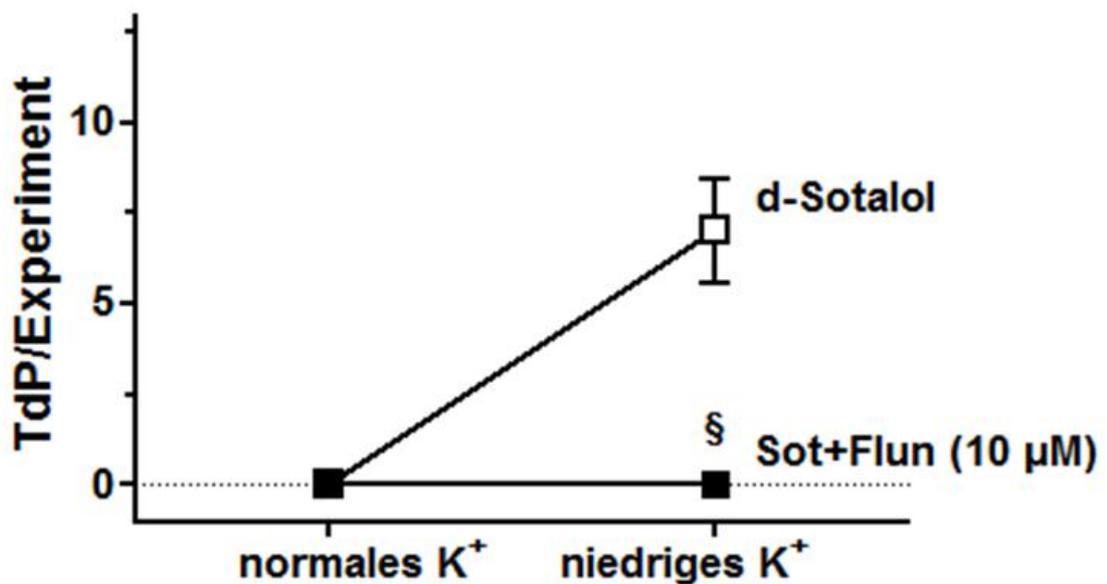


Abbildung 3.19 Mittelwerte der TdP von Herzen, die mit d-Sotalol alleine oder in Kombination mit 10 µmol/l Flunarizin behandelt wurden. Die Zugabe von 10 µmol/l Flunarizin bewirkte eine komplette Supprimierung von TdP-Arrhythmien (§).

3. Ergebnisse

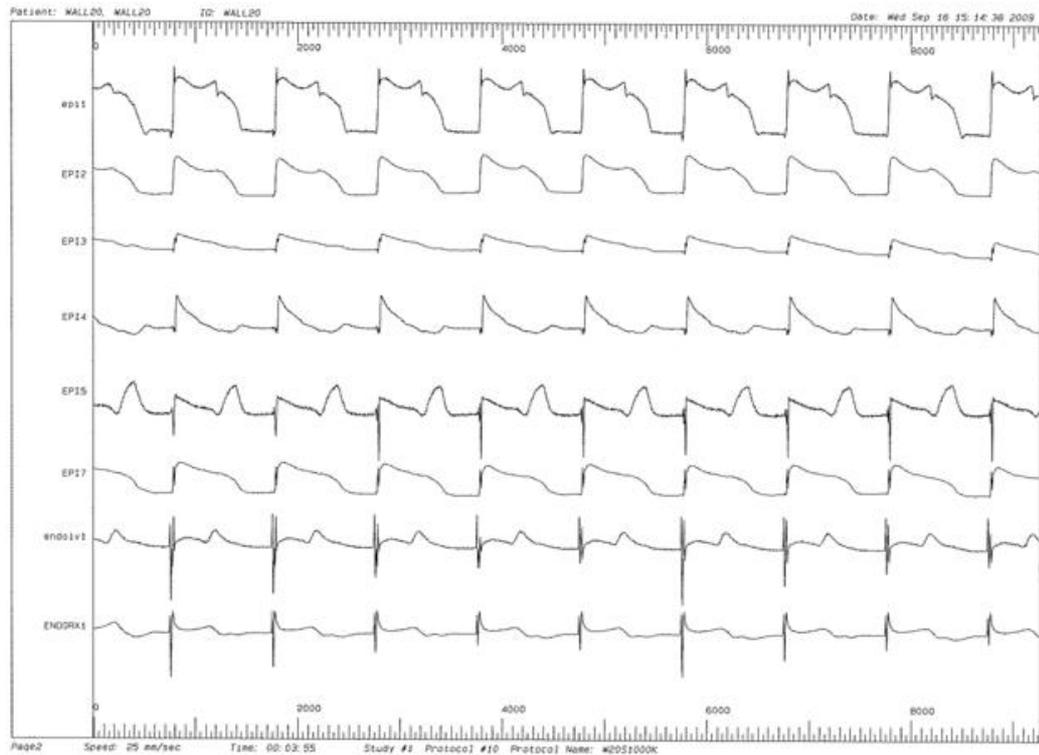


Abbildung 3.20 Beispiel für das Auftreten von EADs bei niedriger K^+ -Konzentration und Verabreichung von 10^{-4} mol/l d-Sotalol bei einer Zykluslänge von 1000 ms (eigene Abbildung).

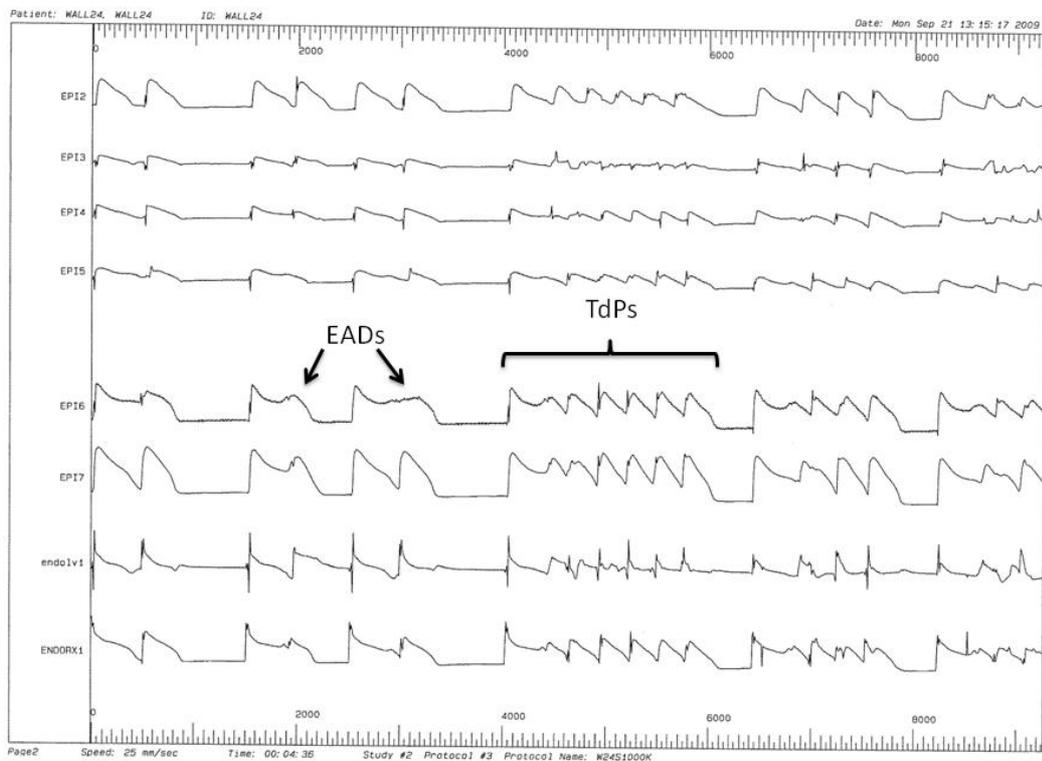


Abbildung 3.21 Beispiel von EADs, die nach Erreichen eines kritischen Schwellenpotentials TdP triggern (eigene Abbildung).

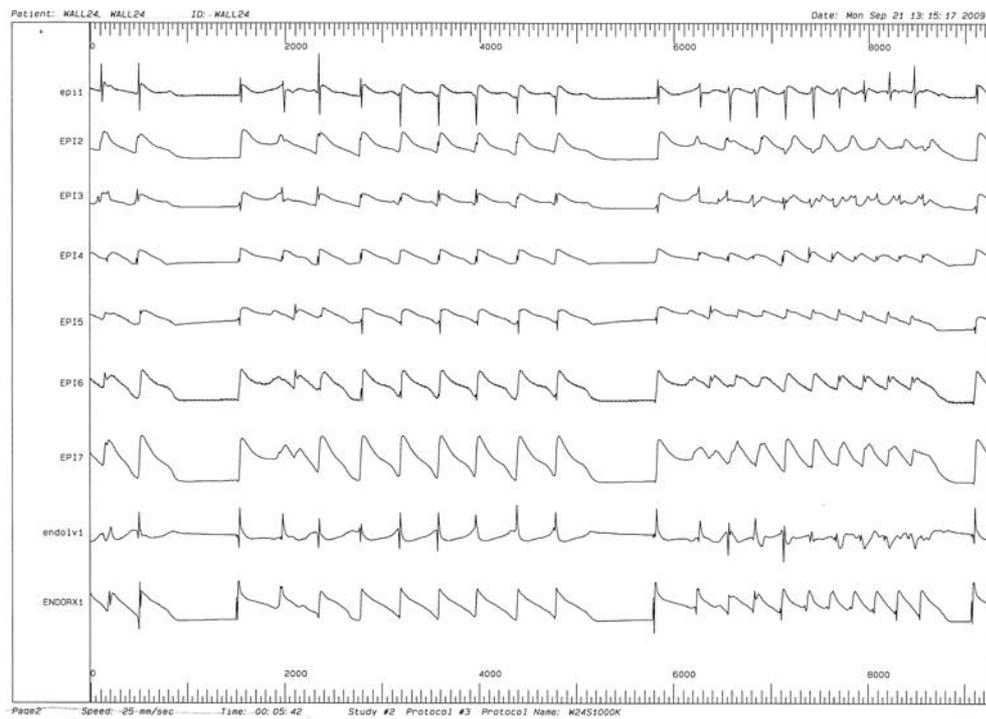


Abbildung 3.22 Beispiel für eine Episode von TdP bei niedriger K^+ -Konzentration und d-Sotalol (eigene Abbildung).

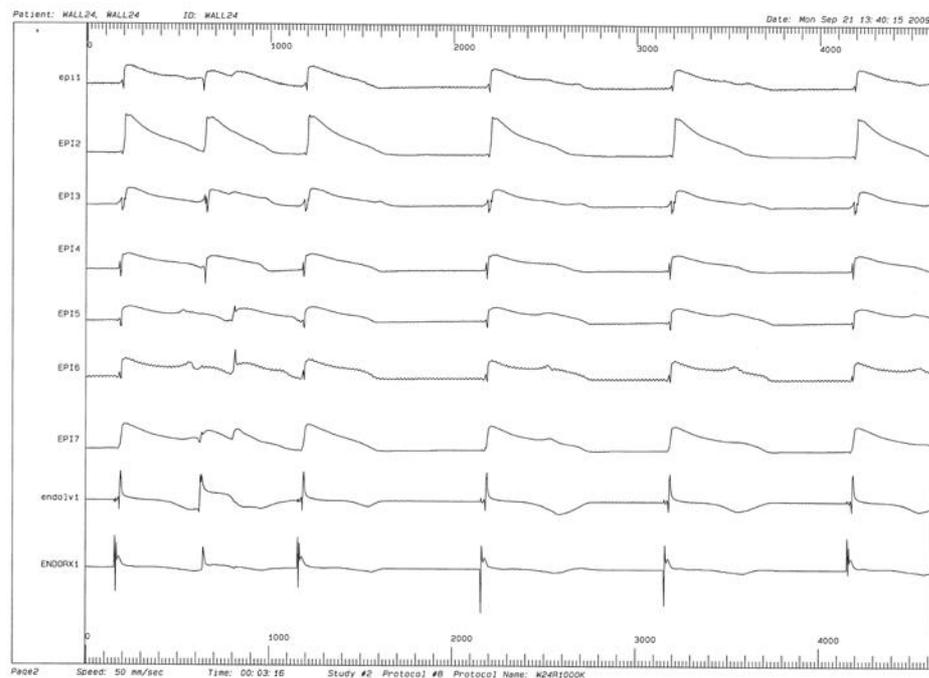


Abbildung 3.23 Beispiel für eine Episode von TdP bei niedriger K^+ -Konzentration, d-Sotalol und $5 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin. Ranolazin führte zu einem Rückgang von TdP (eigene Abbildung).

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die kombinierte Anwendung von d-Sotalol und Ranolazin am Langendorff-Kaninchenherzen untersucht. Dabei wurden elektrophysiologische Veränderungen und die Sicherheit in der Anwendung am isolierten Säugetierherzen untersucht. Zur Datenerhebung und Analyse dienten elektrophysiologische Parameter. Ranolazin ist ein neues Medikament, das in der Lage ist einen pathologisch erhöhten $I_{Na, late}$, aber auch den I_{Kr} zu reduzieren. Diese Kombination bietet neue Ansätze in der klinischen antiarrhythmischen Therapie. Entscheidend für den weiteren Einsatz ist die Sicherheit hinsichtlich proarrhythmischer Effekte. Nach ersten klinischen Ergebnissen führt Ranolazin bei einigen Patienten zu einer Verlängerung des QT-Intervalls (Chaitman 2006). Dieser Effekt kann das Risiko für das Auftreten von TdP-Arrhythmien erhöhen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu evaluieren, ob die inhibierende Wirkung von Ranolazin auf den I_{Kr} und die damit verbundene Verlängerung der APD_{90} eine Kontraindikation für eine simultane Applikation von Ranolazin mit Antiarrhythmika der Klasse III darstellen kann. Dabei konnte zunächst bestätigt werden, dass das Klasse III-Antiarrhythmikum d-Sotalol zu einer Verlängerung der APD_{90} und einer signifikant erhöhten Dispersion von APD_{90} führt. Im Weiteren zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit eindeutig, dass die kombinierte Anwendung von Ranolazin mit d-Sotalol nicht mit einem erhöhten proarrhythmischen Risiko einhergeht. Die Kombination von d-Sotalol und 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin führte zu einer signifikanten Reduktion der Dispersion von APD_{90} und zu einer geringeren Inzidenz von EADs und Episoden von TdP-Arrhythmien.

4.1 Auswirkung der verschiedenen Substanzen auf die APD_{90}

Sotalol ist ein Klasse III-Antiarrhythmikum und ein nicht selektiver β -Blocker. Sein Wirkmechanismus besteht in einer Inhibition des I_{Kr} während der Repolarisation (Haverkamp et al. 2000). d-Sotalol wird häufig zur Therapie von supraventrikulären Tachykardien, insbesondere in der Rhythmustherapie von Vorhofflimmern, eingesetzt (Chiang et al. 2013). Schon früh zeigte sich jedoch, dass Klasse III-Antiarrhythmika proarrhythmische Aktivität besitzen (Buchanan et al. 1993; Vos et al. 1995). Eine bekannte Nebenwirkung von Klasse III-Antiarrhythmika ist die Auslösung von ventrikulären Tachykardien vom Typ TdP (Zabel et al. 1997a; Eckardt et al. 1998). In der SWORD-

Studie zeigte sich eine erhöhte Mortalität unter der oralen Therapie mit d-Sotalol (Waldo et al. 1995). Aufgrund potentiell proarrhythmischer Eigenschaften von Antiarrhythmika sollen alle neuen Medikamente dieser Kategorie diesbezüglich experimentell getestet werden (Haverkamp et al. 2000; Anderson et al. 2002).

Flunarizin gehört als Ca^{2+} -Antagonist zu den Klasse IV-Antiarrhythmika. Es führte in den vorliegenden Versuchen bei der gemeinsamen Verabreichung mit d-Sotalol zu keiner signifikanten Änderung der APD_{90} im Vergleich zur alleinigen d-Sotalolgabe. Flunarizin kann als direkter Ca^{2+} -Antagonist Arrhythmien von Typ TdP hemmen, ohne eine Veränderung der APD_{90} zu bewirken (Verduyn et al. 1995). Auch unter dem Einfluss einer niedrigen K^+ -Konzentration zeigte sich in den vorliegenden Experimenten keine statistisch signifikante Änderung der APD_{90} durch Flunarizin.

Wie bereits erwähnt wurde für d-Sotalol ein proarrhythmisches Potential beschrieben, weshalb die Kombination von Klasse III-Antiarrhythmika mit Ausnahme von Amiodaron mit Ranolazin zurzeit kontraindiziert ist (Fachinformation Ranexa®). d-Sotalol führte in der vorliegenden Arbeit zu einer signifikanten Verlängerung der APD_{90} . Dieses Ergebnis bestätigt eine Arbeit von Zabel et al., bei der d-Sotalol zu einer dosis- und frequenzabhängigen Erhöhung der APD_{90} führte (Zabel et al. 1997a). Eine weitere experimentelle Studie am Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen zeigte ebenfalls, dass 10 $\mu\text{mol/l}$ d-Sotalol zu einer Zykluslängen-abhängigen Verlängerung der APD_{90} führt (Eckardt et al. 2002). In der vorliegenden Studie führte die kombinierte Gabe von 5 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin und d-Sotalol zu einer erhöhten APD_{90} . Diese war allerdings nicht signifikant verglichen mit der alleinigen Verabreichung von d-Sotalol. Im Gegensatz dazu kam es unter Therapie mit d-Sotalol und 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin zu einer weiteren Verlängerung der APD_{90} . Dieser dosisabhängige Effekt von Ranolazin auf die kardiale APD ist außergewöhnlich und lässt sich vermutlich auf die verschiedenen IC_{50} -Werte in der Inhibition von I_{Kr} und $\text{I}_{\text{Na, late}}$ durch Ranolazin zurückführen. Dies soll im Folgenden näher erläutert und diskutiert werden.

Mit einer therapeutischen Dosis von Ranolazin von 2-8 $\mu\text{mol/l}$ wurde in ventrikulären Myozyten von herzinsuffizienten Hunde der $\text{I}_{\text{Na, late}}$ 38-mal stärker inhibiert als der peak I_{Na} mit einer IC_{50} von 6,5 vs. 244 $\mu\text{mol/l}$. Während der $\text{I}_{\text{Na, late}}$ mit 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin zu 55% gehemmt wurde, geschah dies beim peak I_{Na} nur zu etwa 5% (Undrovinas et al. 2006). Die so hervorgerufene Verringerung des Netto-Einwärtsstromes von Ionen führte

zu einer Verkürzung der APD. Neben einer Hemmung des $I_{Na, late}$ inhibiert Ranolazin in Myozyten den I_{Kr} mit einer Potenz von $\sim 12 \mu\text{mol/l}$ ($IC_{50} = 11,5 \mu\text{mol/l}$), was zu einer Verlängerung der APD führt (Antzelevitch et al. 2004b). Die Wirkung von Ranolazin auf die APD wird also bestimmt über das Ausmaß der Hemmung der Ionenkanäle I_{Kr} (Netto-Auswärtsstrom) und $I_{Na, late}$ (Netto-Einwärtsstrom) während der Repolarisationsphase des kardialen APs (Sossalla und Maier 2012). Darüber hinaus bewirkt Ranolazin auf ventrikulärer Ebene bei unterschiedlichen Amplituden des $I_{Na, late}$ unterschiedliche Veränderungen der APD (Antzelevitch et al. 2004b). Versuche an ventrikulären Myozyten vom Schwein zeigten, dass Ranolazin bei erhöhtem $I_{Na, late}$ das Potential aufweist, diesen Kanal zu reduzieren und antiarrhythmisch zu wirken (Song et al. 2004). Die gleiche Wirkung konnte in ventrikulären Myozyten vom Kaninchen beobachtet werden. In den Experimenten kam es unter ATX-II zu einer Erhöhung des $I_{Na, late}$ und der intrazellulären Na^+ - und Ca^{2+} -Konzentrationen. Ranolazin reduzierte diesen Effekt. Durch die Hemmung des $I_{Na, late}$ kam es weder zu einem Anstieg der intrazellulären Na^+ -Konzentration noch der Ca^{2+} -Konzentration (Sossalla et al. 2008b). In Studien mit erhöhtem $I_{Na, late}$, wie zum Beispiel bei Herzinsuffizienz, Ischämie oder pharmakologisch erzeugt, zeigte sich somit eine Verkürzung der APD durch Ranolazin (Song et al. 2004; Song et al. 2006; Undrovins et al. 2006; Toischer et al. 2013). Auffällig ist, dass es in den vorliegenden Versuchen am gesunden Kaninchenherzen mit kleiner Amplitude des $I_{Na, late}$ (Sossalla et al. 2008b) zu keiner Verkürzung der APD kam. Vielmehr kam es bei der kombinierten Applikation von $10 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin und d-Sotalol zu einer weiteren Verlängerung der APD. Bei der Gabe von $10 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin übertrifft die Blockade des I_{Kr} somit die Blockade des $I_{Na, late}$. Die vorliegenden Ergebnisse der Experimente am Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen bestätigen das Resultat der kombinierten Anwendung von Ranolazin mit verschiedenen Klasse III-Antiarrhythmika aus anderen Studien, dass die APD nicht verkürzt wird. Frommeyer et al. führten ebenfalls Versuche am Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen durch. Ranolazin und d-Sotalol führten zusammen zu einer weiteren Erhöhung der APD verglichen mit alleiniger Verabreichung von d-Sotalol (Frommeyer et al. 2012). Die gezeigte Konzentrationsabhängigkeit dieser Studie und der vorliegenden Studie lässt sich vermutlich auf die verschiedenen IC_{50} -Werte in der Inhibition von I_{Kr} und $I_{Na, late}$ durch Ranolazin zurückführen. $5 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin liegt nahe an der IC_{50} von $6,5 \mu\text{mol/l}$, was eine Hemmung des $I_{Na, late}$ wahrscheinlich macht. Im Gegensatz dazu liegt die IC_{50} von 10

$\mu\text{mol/l}$ Ranolazin nahe an der IC_{50} von I_{Kr} ($12 \mu\text{mol/l}$). Diese Tatsache lässt eine Verlängerung der APD vermuten (Antzelevitch et al. 2004b; Undrovinas et al. 2006; Rajamani et al. 2008).

4.2 Antiarrhythmische Wirkung von Ranolazin

In der vorliegenden Arbeit wurden antiarrhythmogene beziehungsweise arrhythmogene Eigenschaften von Ranolazin am isolierten Langendorff-Kaninchenherzmodell untersucht. Das Modell wurde 1895 erstmals von Oskar Langendorff beschrieben (Langendorff 1895). Die Vorteile des Modells liegen darin, dass es entsprechend der Fragestellung modifiziert werden kann, leicht durchzuführen und zu standardisieren ist. Zudem ist es beim isolierten perfundierten Herzen möglich, pathophysiologische Prozesse ohne Einfluss des metabolischen, humoralen oder nervalen Systems anhand bestimmter Parameter der Herzfunktion zu untersuchen. Dies ist bei In-vivo-Herzmodellen aufgrund des Einflusses des Gesamtorganismus nicht möglich. Jedoch können die Erkenntnisse vom Modell des isolierten Herzen nicht direkt im Gesamtorganismus angewendet werden (Sutherland und Hearse 2000). Die entscheidenden Vorteile der Langendorff-Methode liegen in dem Erhalt der für Arrhythmien mitverantwortlichen Anatomie und Integrität des Herzens und dem Erhalt von Zell-Zell-Verbindungen (Hoyt et al. 1990; Eckardt et al. 1998). Das Modell des isolierten perfundierten Säugetierherzens bietet somit eine gute Möglichkeit, Medikamente in Hinblick auf ihre Wirkung auf TdP-Arrhythmien zu untersuchen.

In dem vorliegenden Modell wurden TdP-Arrhythmien mittels Bradykardie, dem Antiarrhythmikum d-Sotalol und einer vorübergehenden Hypokaliämie erzeugt. Das Auftreten von TdP-Arrhythmien erhöht sich bei Bradykardie, da sich die Parameter der Repolarisation bei niedrigen Zykluslängen erhöhen (Verduyn et al. 1997; Maruyama et al. 2011). Auch ist seit langem belegt, dass eine Hypokaliämie einen proarrhythmischen Effekt am Herzen hat (Yang und Roden 1996; Roden 2004). Bei Wiederholung des Protokolls waren die TdP-Arrhythmien reproduzierbar. Sowohl die Zykluslänge von 1000 ms, die Rotation der Kammerkomplexe um die isoelektrische Linie im EKG als auch die induzierenden Faktoren legen den Schluss nahe, dass es sich hierbei um Arrhythmien ähnlich denen unter klinischen Bedingungen handelt (Zabel et al. 1997b). Darüber hinaus konnten in den vorliegenden Versuchen EADs in Zusammenhang mit dem Auftreten von TdP-

Arrhythmien in den MAP aufgezeichnet werden. Diese gelten, wie bereits erwähnt und in klinischen Studien bestätigt, als Auslöser von TdP-Arrhythmien (El-Sherif et al. 1988; El-Sherif et al. 1989). In den Versuchen wurde mit d-Sotalol in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l eine maximal mögliche I_{Kr} -Blockade hervorgerufen (Nattel et al. 1989). Trotzdem kann in dieser Situation mit einer niedrigen K^+ -Konzentration eine zusätzliche Inhibition des K^+ -Kanals erreicht werden (Yang und Roden 1996). Durch spezielle Modifikation des Langendorff-Modells war es in den Experimenten dieser Arbeit möglich gleichzeitig MAP-Signale und ein 12-Kanal-EKG abzuleiten, aufzuzeichnen und anhand dessen die Arrhythmien zu beurteilen.

TdP-Arrhythmien stellen den typischen proarrhythmischen Effekt von Klasse III-Antiarrhythmika dar und stehen in engem Zusammenhang mit einer Erhöhung der Dispersion der ventrikulären Repolarisation (Surawicz 1989; Hohnloser und Singh 1995). Die proarrhythmische Wirkung von d-Sotalol, einem Vertreter der Klasse III-Antiarrhythmika, lässt sich auf eine Erhöhung der Dispersion der ventrikulären Repolarisation zurückführen. In einer Studie von Zabel et al. führte d-Sotalol in einer Konzentration von 10^{-5} mol/l bei verschiedenen Zykluslängen zu einem Anstieg der Dispersion der ventrikulären Repolarisation (Zabel et al. 1997a). Währenddessen kam es unter Therapie mit Amiodaron zu keiner Erhöhung der Dispersion. Dieses Ergebnis passt zu den klinischen Beobachtungen einer geringeren Inzidenz von Arrhythmien unter Amiodarontherapie (Hohnloser et al. 1994; Singh et al. 1995).

In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch gezeigt, dass die für d-Sotalol beschriebene Erhöhung der Dispersion der ventrikulären Repolarisation durch Ranolazin nicht verstärkt wird. Ranolazin war sogar in der Lage, die durch d-Sotalol erhöhte Dispersion der ventrikulären APD zu reduzieren. Im Verlauf der Experimente dieser Arbeit veröffentlichten Frommeyer et al. eine Studie am Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen, in der sie zu sehr ähnlichen Ergebnissen kamen. Die Infusion von d-Sotalol bewirkte ebenfalls eine Erhöhung der APD und eine Erhöhung der Dispersion der ventrikulären Repolarisation. Die zusätzliche Infusion von $10 \mu\text{mol/l}$ Ranolazin zu d-Sotalol führte jedoch im Gegensatz zu den hier vorliegenden Ergebnissen nicht zu einer Erhöhung der APD. Zu einer weiteren Erhöhung der ventrikulären Repolarisation kam es sowohl in der Studie von Frommeyer et al. als auch in der vorliegenden Studie nicht (Frommeyer et al. 2012). Es konnte mit den vorliegenden Ergebnissen sogar eine Reduktion beschrieben werden.

In anderen Untersuchungen am Kaninchenherzen wurden mit Hilfe von E-4031, 4-Aminopyridin und Bariumchlorid die Ionenströme I_{to} , I_{Kr} und I_{K1} gehemmt und damit die Repolarisationsreserve gesenkt (Wu et al. 2009). Es wurde gezeigt, dass der $I_{Na, late}$ an der Regulation der ventrikulären Repolarisation, der APD und Arrhythmogenese beteiligt ist, wenn die Repolarisationsreserve niedrig ist. Tetrodotoxin und Ranolazin induzierten eine signifikante Reduktion der Dispersion der Repolarisation, der APD und des QT-Intervalls. In Zusammenschau mit den Ergebnissen dieser Arbeit kann man schlussfolgern, dass der $I_{Na, late}$ in Herzen mit reduzierter Repolarisationsreserve arrhythmisch wirkt. Daraus ergibt sich mit der Inhibition des $I_{Na, late}$ durch Ranolazin eine Möglichkeit zur antiarrhythmischen Therapie.

Die transmuralen Unterschiede des $I_{Na, late}$ und die verlängerte APD können zu einem Anstieg der transmuralen Dispersion der Repolarisation und des QT-Intervalls führen, was wiederum ein Auslöser für TdP-Arrhythmien sein kann (Antzelevitch und Belardinelli 2006). I_{Kr} -Blocker wie d-Sotalol können EADs induzieren (Sicouri et al. 1997). Ranolazin ist imstande, diese Trigger für Arrhythmien zu unterdrücken (Song et al. 2004). Dies lässt sich zurückführen auf den Umstand, dass die Inhibition des $I_{Na, late}$ als Modulator der ventrikulären Repolarisation an Bedeutung gewinnt, wenn I_{Kr} bzw. I_{Ks} reduziert sind (Wu et al. 2009). Möglicherweise erklären auch die unterschiedlichen Amplituden des $I_{Na, late}$ entlang des linken Ventrikels die vorhandenen Beobachtungen. M-Zellen reagieren auf QT-verlängernde Medikamente mit einer unverhältnismäßig starken Verlängerung der APD verglichen mit anderen Zellen des linken Ventrikels. Deshalb wird vermutet, dass der $I_{Na, late}$ in M-Zellen am größten ist (Antzelevitch et al. 1991). Dementsprechend kommt es durch Ranolazin vorwiegend in M-Zellen zu einer Verkürzung der APD und folglich zu einer Reduktion der transmuralen Dispersion der Repolarisation (Antzelevitch et al. 2004b). Neben der Wirkung von Ranolazin auf ventrikuläre Arrhythmien wurde auch die Wirkung auf atriale Myozyten untersucht. Der antiarrhythmische Effekt auf Vorhofebene wurde bei einer therapeutischen Plasmakonzentration von 2-8 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin ausgeübt (Antzelevitch et al. 2011). Experimente an atrialen Myozyten vom Kaninchen und vom Menschen veranschaulichen die Reduktion von proarrhythmischer Aktivität (Burashnikov et al. 2007; Sossalla et al. 2010). Eine Studie von Sossalla et al. suggeriert bereits die Anwendung von Ranolazin als Antiarrhythmikum: in der Therapie von Vorhofflimmern. An isolierten atrialen Myozyten konnte gezeigt werden, dass Ranolazin bei Vorhofflim-

mern zu einer ausgeprägteren Inhibition des $I_{Na, late}$ als bei Sinusrhythmus führt. In Zusammenschau mit der Vermutung, dass der $I_{Na, late}$ bei Vorhofflimmern stark erhöht ist, könnte Ranolazin daher eine neue Therapiemöglichkeit bei Patienten mit Vorhofflimmern bieten (Sossalla et al. 2010).

Um weiterführende klinische Studien in Hinblick auf die antiarrhythmische Wirkung von Ranolazin führen zu können, sollte jedoch der Effekt am Ventrikel evaluiert werden. Dementsprechend wurde in der vorliegenden Arbeit am isolierten Kaninchenherzen gezeigt, dass die für d-Sotalol beschriebene Erhöhung der Dispersion der ventrikulären Repolarisation durch Ranolazin nicht verstärkt wird. Im Gegenteil, Ranolazin reduzierte die durch d-Sotalol erhöhte Dispersion der ventrikulären APD. So kam es bei der gemeinsamen Verabreichung von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin und d-Sotalol zu einem geringeren Auftreten von EADs. Des Weiteren konnte in den Versuchen mit 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin eine signifikante Reduktion von TdP-Arrhythmien beobachtet werden. Es gibt bisher nur eine weitere Studie am Ganztierherzmodell zur Wirkung von Ranolazin auf TdP-Arrhythmien. Die Resultate der vorliegenden Versuche bestätigen die Ergebnisse der Studie von Frommeyer et al., dass die gemeinsame Verabreichung von Ranolazin und Klasse III-Antiarrhythmika vertretbar ist, da eine Suppression von EADs bzw. TdP-Arrhythmien erfolgt (Frommeyer et al. 2012).

In Studien am intakten Säugetiermodell konnte ebenso ein antiarrhythmisches Potential von Ranolazin beobachtet werden. Im Kaninchenmodell wurde ein inhibierender Einfluss von Ranolazin auf das Auftreten von TdP-Arrhythmien beschrieben. Die TdP-Arrhythmien wurden durch den I_{Kr} -Blocker Clofilium hervorgerufen, welcher die APD_{90} verlängerte (Wang et al. 2008). Vorbehandlung mit Ranolazin reduzierte diese Verlängerung und beugte zusätzlich dem Auftreten von TdP-Arrhythmien vor. Nachbehandlung mit Ranolazin nach der ersten Episode TdP beendete diese und verhinderte weitere Episoden. Im In-Vitro-Schweinmodell für das Long-QT-Syndrom wurde demonstriert, dass Ranolazin ATX-II induzierte EADs und ventrikuläre Tachykardien reduzierte (Wu et al. 2004). In einer weiteren Studie am Säugetiermodell zeigte die Arbeitsgruppe von Antoons et al. bei Hunden mit chronischem AV-Block, dass Dofetilide-induzierte TdP-Arrhythmien durch Ranolazin reduziert werden (Antoons et al. 2010). Die genannten Studien am intakten Säugetiermodell kommen somit zu dem gleichen Ergebnis wie die vor-

liegende Arbeit. Ranolazin hat einen inhibierenden Einfluss auf das Auftreten von TdP-Arrhythmien.

Neben diesen Studien erfolgten auch experimentelle Untersuchungen auf zellulärer Ebene. An linksventrikulären Herzmuskelzellen vom Kaninchen wurde gezeigt, dass Ranolazin keine EADs hervorruft und zu keiner Erhöhung der Dispersion der ventrikulären Repolarisation führt (Antzelevitch et al. 2004b). Zwei Jahre später fand man an ventrikulären Myozyten vom Hund mit chronischem Herzversagen eine Unterdrückung von EADs durch Ranolazin (Undrovins et al. 2006).

Es gibt also verschiedene Studien auf zellulärer Ebene, am Säugetiermodell und an Patienten, die die Wirkung von Ranolazin auf TdP-Arrhythmien untersucht haben und ebenso wie die vorliegende Arbeit zu dem Resultat gekommen sind, dass Ranolazin das Auftreten von TdP-Arrhythmien reduziert. Zusätzlich wurde in der vorliegenden Arbeit eine Dosisabhängigkeit von Ranolazin bei der Unterdrückung von arrhythmogenen Triggern beobachtet.

4.3 Effekt von Flunarizin auf TdP-Arrhythmien

Flunarizin inhibiert die kardialen Ca^{2+} -Kanäle und verhindert eine Akkumulation von Ca^{2+} im Zytosol (Tytgat et al. 1988). Es wird vermutet, dass so eine Erhöhung der Dispersion verhindert und damit dem Auftreten von EADs und TdP-Arrhythmien vorgebeugt wird (Burashnikov und Antzelevitch 1998). In den vorliegenden Experimenten zeigte sich bei erniedrigter K^+ -Konzentration eine statistisch signifikante Reduktion der Dispersion von APD₉₀ durch Flunarizin nach Zugabe zu d-Sotalol. Weiterhin bewirkte Flunarizin einen Rückgang von EADs. Dieser war statistisch nicht signifikant. Bei Versuchen an Hunden mit chronischem AV-Block war die Terminierung von TdP-Arrhythmien assoziiert mit einer Verkürzung der APD, einer Reduktion der Dispersion von APD und dem Rückgang von EADs. Eine Behandlung der Hunde mit dem I_{Kr} -Blocker d-Sotalol oder Almokalant führte zum Auftreten von EADs bzw. TdP-Arrhythmien. Durch Flunarizin konnten diese Arrhythmien reduziert werden (Verduyn et al. 1995; Vos et al. 1995). Die vorliegende Arbeit bestätigt diese Ergebnisse. Eine signifikante Reduktion von TdP-Arrhythmien durch 10 $\mu\text{mol/l}$ Flunarizin konnte in den Experimenten erreicht werden. Die Infusion einer Lösung mit erniedrigter K^+ -Konzentration, d-Sotalol und Flunarizin führte zu einer kompletten Unterdrückung von TdP-Arrhythmien. Die Arbeitsgruppe von

Carlsson et al. kam zu dem gleichen Resultat bei Experimenten am Methoxamin-Kaninchen. Flunarizin war in der Lage Alkaloind-induzierte TdP-Arrhythmien zu reduzieren (Carlsson et al. 1996). Sowohl in den vorliegenden Experimenten am gesunden Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen als auch bei den Experimenten an Hunden mit chronischem AV-Block war das Vorkommen von TdP-Arrhythmien verbunden mit dem Auftreten von EADs. Arbeiten an Myozyten vom Hund wiesen die supprimierende Wirkung von Flunarizin gegen EADs nach (Burashnikov und Antzelevitch 1998). Die Zusammenschau der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit den Resultaten anderer experimenteller Studien zur Wirkung von Flunarizin auf TdP-Arrhythmien bestätigt die Möglichkeit der Reduktion von EADs und TdP-Arrhythmien durch Flunarizin am isolierten Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen.

4.4 Ausblick und klinische Relevanz

Ranolazin ist seit 2009 in Deutschland zur Therapie der chronischen stabilen Angina pectoris zugelassen. Es wurde jedoch bei manchen Patienten, welche mit Ranolazin therapiert wurden, eine Verlängerung des QT-Intervalls beobachtet, was der Grund für die Kontraindikation in der Kombination mit Klasse III-Antiarrhythmika außer Amiodaron ist (Fachinformation Ranexa®). Im Allgemeinen erhöht ein verlängertes QT-Intervall das Risiko für den plötzlichen Herztod und kann mit lebensgefährlichen ventrikulären Tachykardie vom Typ TdP einhergehen (Viskin 1999).

Die vorliegenden Ergebnisse widerlegen diese These durch die Beobachtung, dass die Zugabe von Ranolazin weder die arrhythmogenen Trigger, noch die Inzidenz von TdP-Arrhythmien erhöht hat. Es konnte hingegen gezeigt werden, dass mit der Applikation von 10 µmol/l Ranolazin zu d-Sotalol ein effektiver Rückgang des Auftretens von TdP-Arrhythmien erzielt wurde, obwohl es zu einer leichten Erhöhung der APD kam. Die Erkenntnisse am isolierten Kaninchenherz würden also die Sicherheit in der Anwendung von Ranolazin trotz seiner I_{Kr} -blockierenden Eigenschaften unterstützen. Für die Kombination von Ranolazin mit dem Klasse III-Antiarrhythmikum Amiodaron konnte die Sicherheit bereits belegt werden (Miles und Murdock 2010). Der effiziente Einsatz zur Therapie von atrialen und ventrikulären Arrhythmien und das geringe proarrhythmische Potential von Amiodaron wird seinen komplexen kanalblockierenden Eigenschaften zugeschrieben (Hohnloser et al. 1994). Somit scheinen nicht alle QT-verlängernden Pharmaka

mit dem Auftreten von TdP-Arrhythmien assoziiert zu sein. Diese Medikamente besitzen meist die Eigenschaft I_{Kr} , I_{Ks} und $I_{Na, late}$ zu hemmen, wie auch Ranolazin.

Im Laufe der letzten Jahre erfolgten zunächst klinische Studien an Patienten mit stabiler Angina pectoris zur Beurteilung der Ranolazinwirkung als Monotherapie und als Kombinationstherapie zusätzlich zur antianginösen Therapie. In der MARISA (Monotherapy Assessment of Ranolazine In Stable Angina) – Studie wurden die Patienten eine Woche lang mit Ranolazin oder mit Placebo behandelt. Unter Ranolazintherapie verbesserte sich die Symptomatik signifikant. Die Ergometrie wurde nur von 52% der Patienten abgebrochen. Im Gegensatz dazu brachen 70% der Patienten, die mit Placebo behandelt wurden, die Ergometrie ab (Chaitman et al. 2004a). In der CARISA (Combination Assessment of Ranolazine in Stable Angina) – Studie erfolgte bei Patienten mit stabiler Angina pectoris begleitend zu einer antianginösen Therapie mit β -Blockern oder Ca^{2+} -Antagonisten die Verabreichung von Ranolazin oder Placebo. Die Anfallsfrequenz der Angina wurde von 3,3-mal pro Woche unter Placebo auf 2,1-mal pro Woche unter Ranolazin signifikant reduziert (Chaitman et al. 2004b). In beiden Studien war das Ergebnis in der Ranolazingruppe eine verbesserte Leistungsfähigkeit, eine verbesserte Zeit bis zu ischämischen Beschwerden und ein verbessertes Zeitintervall bis zu einer ST-Streckensenkung von 1 mm. In den Jahren 2004-2006 untersuchte die MERLIN (Metabolic Efficiency with Ranolazine for Less Ischemia in Non-ST elevation acute coronary syndrome) -TIMI-36-Studie, inwiefern sich die Gabe von Ranolazin bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ACS) und Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI) zusätzlich zur Standardtherapie auswirkt (Morrow et al. 2007). Die Ergebnisse dieser großen Studie mit 6560 Patienten sprechen nicht für eine Anwendung von Ranolazin beim ACS. Allerdings kann die klinische Sicherheit bei oraler und intravenöser Verabreichung zur antiarrhythmischen Therapie gewährleistet werden. Bei weiterführenden Auswertungen der Daten konnte man eine reduzierte Angina pectoris-Symptomatik und klinisch reduzierte Arrhythmien 7 Tage nach ACS nachweisen (Scirica et al. 2007). Ranolazin bewirkte eine ca. 36%ige Reduktion von ventrikulären Tachykardien mit ≥ 8 Schlägen. Besonders ausgeprägt war dieser antiarrhythmische Effekt bei einer QT-Zeit von mehr als 450 ms mit einer Reduktion von bis zu 47%. Zudem wurde bei ca. 45% der Patienten mit verminderter Ejektionsfraktion ($EF < 40\%$) das Risiko für den plötzlichen Herztod nach Gabe von Ranolazin deutlich reduziert (Scirica et al. 2007). Somit stellt Ranolazin nach verschiedenen klinischen Studien

(MARISA, CARISA, MERLIN TIMI-36) eine gute Zusatzmedikation bei Patienten mit chronischer therapieresistenter Angina pectoris dar.

Neben den eben beschriebenen Studien zur antiarrhythmischen Wirkung von Ranolazin auf ventrikulärer Ebene, wurde die Rolle von Ranolazin als Zusatzmedikation bei atrialen Herzrhythmusstörungen wie Vorhofflimmern in verschiedenen Studien evaluiert (Sossalla et al. 2010). Bei den bisherigen Studien handelt es sich jedoch lediglich um kleine Patientenstudien, die sich mit der Rolle von Ranolazin in der Vorbeugung von Vorhofflimmern oder ventrikulären Tachyarrhythmien befasst haben. Große randomisierte Studien zur Überprüfung der Sicherheit und der Effizienz von Ranolazin liegen bislang nicht vor (Saad et al. 2016). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen deutlich, dass Ranolazin in Kombination mit d-Sotalol nicht zu einem erhöhten proarrhythmischen Risiko führt, obwohl die APD durch 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin verlängert wird. Dieses Phänomen lässt sich durch den inhibitorischen Effekt von Ranolazin auf den $I_{\text{Na, late}}$ erklären.

Gegenstand weiterer Arbeiten - vor allem am Patienten - sollte es sein, die klinische Sicherheit von Ranolazin in der Kombination mit Klasse III-Antiarrhythmika zu prüfen, um einerseits die Rolle und Sicherheit von Ranolazin in der Prophylaxe, andererseits in der Therapie von atrialen und ventrikulären Herzrhythmusstörungen zu evaluieren.

5. Zusammenfassung

Bei TdP-Arrhythmien handelt es sich um ventrikuläre Tachykardien, die durch EADs und eine erhöhte Dispersion der ventrikulären Repolarisation induziert werden können. TdP-Arrhythmien stellen die typische proarrhythmische Wirkung von Klasse III-Antiarrhythmika wie d-Sotalol dar. Ranolazin ist ein neues Medikament, das einen pathologisch erhöhten $I_{Na, late}$ und den I_{Kr} reduziert. Eine Hemmung des Ionenstroms über den $I_{Na, late}$ führt zu einer Verkürzung der APD_{90} , wohingegen die Inhibition des I_{Kr} zu einer Verlängerung der APD_{90} führt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung von Ranolazin auf die APD_{90} und die ventrikuläre Dispersion von APD_{90} am Langendorff-perfundierten Kaninchenherzen zu untersuchen. Des Weiteren sollten neue Erkenntnisse bezüglich der Wirkung von Ranolazin auf EAD-abhängig getriggerte TdP-Arrhythmien erlangt werden. Der Ca^{2+} -Antagonist Flunarizin diente dabei als Vergleichssubstanz, welche in der Lage ist, TdP-Arrhythmien zu unterdrücken. In der vorliegenden Arbeit am gesunden isolierten Kaninchenherzen führte Flunarizin in einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ zu einer Reduktion der Dispersion von APD_{90} , einem Rückgang von EADs und zu einer vollständigen Supprimierung von TdP-Arrhythmien. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit am gesunden isolierten Kaninchenherzen zeigen, dass die Kombination von Ranolazin und d-Sotalol nicht mit einem proarrhythmischen Risiko assoziiert ist. d-Sotalol ist ein Antiarrhythmikum der Klasse III und führt über eine Blockade des I_{Kr} zu einer Zunahme der APD_{90} und der Dispersion von APD_{90} . Obwohl auch Ranolazin den I_{Kr} hemmt, kommt es nach Zugabe von 5 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin zu 10^{-4} mol/l d-Sotalol nicht zu einer weiteren Verlängerung der APD_{90} . Zusätzlich kommt es nicht zu einer Induktion von TdP-Arrhythmien. Darüber hinaus kam es nach Zugabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ Ranolazin zu d-Sotalol sogar zu einer signifikanten Reduktion der Dispersion von APD_{90} . Zwar führte die höhere Konzentration von Ranolazin zu einer Verlängerung der APD_{90} , aber es zeigte sich ein Rückgang in der Inzidenz von EADs und TdP-Arrhythmien. Dieses Ergebnis ist am besten durch die Inhibition des $I_{Na, late}$ zu erklären. Weiterführende klinische Studien sollten die klinische Wirksamkeit und Sicherheit von Ranolazin in einer möglichen kombinierten Anwendung mit Klasse III-Antiarrhythmika bei atrialen oder ventrikulären Arrhythmien evaluieren.

6. Literaturverzeichnis

- Anderson ME, Al-Khatib SM, Roden DM, Califf RM (2002): Cardiac repolarization: current knowledge, critical gaps, and new approaches to drug development and patient management. *Am Heart J* 144, 769-781
- Antoons G, Oros A, Beekman JD, Engelen MA, Houtman MJ, Belardinelli L, Stengl M, Vos MA (2010): Late $na(+)$ current inhibition by ranolazine reduces torsades de pointes in the chronic atrioventricular block dog model. *J Am Coll Cardiol* 55, 801-809
- Antzelevitch C, Sicouri S, Litovsky SH, Lukas A, Krishnan SC, Di Diego JM, Gintant GA, Liu DW (1991): Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial, and M cells. *Circ Res* 69, 1427-1449
- Antzelevitch C, Sicouri S (1994): Clinical relevance of cardiac arrhythmias generated by afterdepolarizations. Role of M cells in the generation of U waves, triggered activity and torsade de pointes. *J Am Coll Cardiol* 23, 259-277
- Antzelevitch C, Nesterenko VV, Yan GX (1995): Role of M cells in acquired long QT syndrome, U waves, and torsade de pointes. *J Electrocardiol* 28 Suppl, 131-138
- Antzelevitch C, Belardinelli L, Zygmunt AC, Burashnikov A, Di Diego JM, Fish JM, Cordeiro JM, Thomas G (2004b): Electrophysiological effects of ranolazine, a novel antianginal agent with antiarrhythmic properties. *Circulation* 110, 904-910
- Antzelevitch C, Belardinelli L (2006): The role of sodium channel current in modulating transmural dispersion of repolarization and arrhythmogenesis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 17 Suppl 1, 79-S85
- Antzelevitch C (2007): Ionic, molecular, and cellular bases of QT-interval prolongation and torsade de pointes. *Europace* 9, 4-15
- Antzelevitch C, Burashnikov A, Sicouri S, Belardinelli L (2011): Electrophysiologic basis for the antiarrhythmic actions of ranolazine. *Heart Rhythm* 8, 1281-1290
- Arstall MA, Hii JT, Lehman RG, Horowitz JD (1992): Sotalol-induced torsade de pointes: management with magnesium infusion. *Postgrad Med J* 68, 289-290
- Baker LC, London B, Choi BR, Koren G, Salama G (2000): Enhanced dispersion of repolarization and refractoriness in transgenic mouse hearts promotes reentrant ventricular tachycardia. *Circ Res* 86, 396-407
- Bassani JW, Bassani RA, Bers DM (1993): Twitch-dependent SR Ca accumulation and release in rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol* 265, 533-540

- Belardinelli L, Shryock JC, Fraser H (2006): Inhibition of the late sodium current as a potential cardioprotective principle: effects of the late sodium current inhibitor ranolazine. *Heart* 92 Suppl 4, iv.6-iv.14
- Bers DM: Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands 2001
- Buchanan LV, Kabell G, Brunden MN, Gibson JK (1993): Comparative assessment of ibutilide, D-sotalol, clofilium, E-4031, and UK-68,798 in a rabbit model of proarrhythmia. *J Cardiovasc Pharmacol* 22, 540-549
- Burashnikov A, Antzelevitch C (1998): Acceleration-induced action potential prolongation and early afterdepolarizations. *J Cardiovasc Electrophysiol* 9, 934-948
- Burashnikov A, Antzelevitch C (1999): Differences in the electrophysiologic response of four canine ventricular cell types to alpha 1-adrenergic agonists. *Cardiovasc Res* 43, 901-908
- Burashnikov A, Di Diego JM, Zygmunt AC, Belardinelli L, Antzelevitch C (2007): Atrium-selective sodium channel block as a strategy for suppression of atrial fibrillation: differences in sodium channel inactivation between atria and ventricles and the role of ranolazine. *Circulation* 116, 1449-1457
- Carlsson L, Almgren O, Duker G (1990): QTU-prolongation and torsades de pointes induced by putative class III antiarrhythmic agents in the rabbit: etiology and interventions. *J Cardiovasc Pharmacol* 16, 276-285
- Carlsson L, Abrahamsson C, Andersson B, Duker G, Schiller-Linhardt G (1993): Proarrhythmic effects of the class III agent almokalant: importance of infusion rate, QT dispersion, and early afterdepolarisations. *Cardiovasc Res* 27, 2186-2193
- Carlsson L, Drews L, Duker G (1996): Rhythm anomalies related to delayed repolarization in vivo: influence of sarcolemmal Ca⁺⁺ entry and intracellular Ca⁺⁺ overload. *J Pharmacol Exp Ther* 279, 231-239
- Carmeliet E (1985): Electrophysiologic and voltage clamp analysis of the effects of sotalol on isolated cardiac muscle and Purkinje fibers. *J Pharmacol Exp Ther* 232, 817-825
- Carmeliet E (1992): Voltage- and time-dependent block of the delayed K⁺ current in cardiac myocytes by dofetilide. *J Pharmacol Exp Ther* 262, 809-817
- Chaitman BR, Skettino SL, Parker JO, Hanley P, Meluzin J, Kuch J, Pepine CJ, Wang W, Nelson JJ, Hebert DA, Wolff AA (2004a): Anti-ischemic effects and long-term survival during ranolazine monotherapy in patients with chronic severe angina. *J Am Coll Cardiol* 43, 1375-1382

- Chaitman BR, Pepine CJ, Parker JO, Skopal J, Chumakova G, Kuch J, Wang W, Skettino SL, Wolff AA (2004b): Effects of ranolazine with atenolol, amlodipine, or diltiazem on exercise tolerance and angina frequency in patients with severe chronic angina: a randomized controlled trial. *JAMA* 291, 309-316
- Chaitman BR (2006): Ranolazine for the treatment of chronic angina and potential use in other cardiovascular conditions. *Circulation* 113, 2462-2472
- Chiang CE, Goethals M, O'Neill JO, Naditch-Brule L, Brette S, Gamra H, Zharinov O, Steg PG (2013): Inappropriate use of antiarrhythmic drugs in paroxysmal and persistent atrial fibrillation in a large contemporary international survey: insights from RealiseAF. *Europace* 12, 1733-1740
- Cranefield PF, Aronson RS (1991): Torsades de pointes and early afterdepolarizations. *Cardiovasc Drugs Ther* 5, 531-537
- D'Alonzo AJ, Zhu JL, Darbenzio RB (1999): Effects of class III antiarrhythmic agents in an in vitro rabbit model of spontaneous torsades de pointe. *Eur J Pharmacol* 369, 57-64
- Delbridge LM, Satoh H, Yuan W, Bassani JW, Qi M, Ginsburg KS, Samarel AM, Bers DM (1997): Cardiac myocyte volume, Ca²⁺ fluxes, and sarcoplasmic reticulum loading in pressure-overload hypertrophy. *Am J Physiol* 272, H2425-2435
- Derakhchan K, Cardinal R, Brunet S, Klug D, Pharand C, Kus T, Sasyniuk BI (1998): Polymorphic ventricular tachycardias induced by D-sotalol and phenylephrine in canine preparations of atrioventricular block: initiation in the conduction system followed by spatially unstable re-entry. *Cardiovasc Res* 38, 617-630
- Dessertenne F (1966): [Ventricular tachycardia with 2 variable opposing foci]. *Archives Des Maladies Du Coeur Et Des Vaisseaux* 59, 263-272
- Dieks K: Experimentelle Untersuchungen zum Einfluss einer G-CSF- Therapie auf die Arrhythmogenese bei Herzinsuffizienz an Langendorff- perfundierten isolierten Kaninchenherzen. *Med. vet. Diss. Hannover* 2009
- Eckardt L, Haverkamp W, Borggreffe M, Breithardt G (1998): Experimental models of torsade de pointes. *Cardiovasc Res* 39, 178-193
- Eckardt L, Breithardt G, Haverkamp W (2002): Electrophysiologic characterization of the antipsychotic drug sertindole in a rabbit heart model of torsade de pointes: low torsadogenic potential despite QT prolongation. *J Pharmacol Exp Ther* 300, 64-71
- Eckardt L, Meissner A, Kirchhof P, Weber T, Milberg P, Breithardt G, Haverkamp W (2003): In vivo recording of monophasic action potentials in awake dogs. *Methods* 30, 109-114
- El-Sherif N, Zeiler RH, Craelius W, Gough WB, Henkin R (1988): QTU prolongation and polymorphic ventricular tachyarrhythmias due to bradycardia-dependent early

- afterdepolarizations. Afterdepolarizations and ventricular arrhythmias. *Circ Res* 63, 286-305
- El-Sherif N, Bekheit SS, Henkin R (1989): Quinidine-induced long QTU interval and torsade de pointes: role of bradycardia-dependent early afterdepolarizations. *J Am Coll Cardiol* 14, 252-257
- Franz MR, Cima R, Wang D, Profitt D, Kurz R (1992): Electrophysiological effects of myocardial stretch and mechanical determinants of stretch-activated arrhythmias. *Circulation* 86, 968-978
- Fraser H, Belardinelli L, Wang L, Light PE, McVeigh JJ, Clanachan AS (2006): Ranolazine decreases diastolic calcium accumulation caused by ATX-II or ischemia in rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 41, 1031-1038
- Frommeyer G, Kaiser D, Uphaus T, Kaese S, Osada N, Rajamani S, Belardinelli L, Breithardt G, Eckardt L, Milberg P (2012): Effect of ranolazine on ventricular repolarization in class III antiarrhythmic drug-treated rabbits. *Heart Rhythm* 9, 2051-2058
- Gillis AM (2000): Effects of antiarrhythmic drugs on QT interval dispersion--relationship to antiarrhythmic action and proarrhythmia. *Prog Cardiovasc Dis* 42, 385-396
- Gralinski MR, Black SC, Kilgore KS, Chou AY, McCormack JG, Lucchesi BR (1994): Cardioprotective effects of ranolazine (RS-43285) in the isolated perfused rabbit heart. *Cardiovasc Res* 28, 1231-1237
- Habbab MA, el-Sherif N (1990): Drug-induced torsades de pointes: role of early afterdepolarizations and dispersion of repolarization. *Am J Med* 89, 241-246
- Hale SL, Shryock JC, Belardinelli L, Sweeney M, Kloner RA (2008): Late sodium current inhibition as a new cardioprotective approach. *J Mol Cell Cardiol* 44, 954-967
- Hasenfuss G (1998): Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res* 39, 60-76
- Haverkamp W, Breithardt G, Camm AJ, Janse MJ, Rosen MR, Antzelevitch C, Escande D, Franz M, Malik M, Moss A, Shah R (2000): The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-anti-arrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a Policy Conference of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 47, 219-233
- Haverkamp W (2002): Medikamentenbedingte QT-Verlängerung und Torsade de pointes: Ein multidisziplinäres Problem. *Deutsches Ärzteblatt* 99, A 1972-1979
- Herold G: Innere Medizin. Gerd Herold (Verlag), Köln 2013

- Hohnloser SH, Klingenhoben T, Singh BN (1994): Amiodarone-associated proarrhythmic effects. A review with special reference to torsade de pointes tachycardia. *Ann Intern Med* 121, 529-535
- Hohnloser SH, Singh BN (1995): Proarrhythmia with class III antiarrhythmic drugs: definition, electrophysiologic mechanisms, incidence, predisposing factors, and clinical implications. *J Cardiovasc Electrophysiol* 6, 920-936
- Hondeghem LM, Carlsson L, Duker G (2001): Instability and triangulation of the action potential predict serious proarrhythmia, but action potential duration prolongation is antiarrhythmic. *Circulation* 103, 2004-2013
- Hoyt RH, Cohen ML, Corr PB, Saffitz JE (1990): Alterations of intercellular junctions induced by hypoxia in canine myocardium. *Am J Physiol* 258, 1439-1448
- Huang B, El-Sherif T, Gidh-Jain M, Qin D, El-Sherif N (2001): Alterations of sodium channel kinetics and gene expression in the postinfarction remodeled myocardium. *J Cardiovasc Electrophysiol* 12, 218-225
- Jackman WM, Friday KJ, Anderson JL, Aliot EM, Clark M, Lazzara R (1988): The long QT syndromes: a critical review, new clinical observations and a unifying hypothesis. *Prog Cardiovasc Dis* 31, 115-172
- January CT, Riddle JM (1989): Early afterdepolarizations: mechanism of induction and block. A role for L-type Ca²⁺ current. *Circ Res* 64, 977-990
- Ju YK, Saint DA, Gage PW (1996): Hypoxia increases persistent sodium current in rat ventricular myocytes. *J Physiol* 497 (Pt 2), 337-347
- Kaseda S, Gilmour RF, Jr., Zipes DP (1989): Depressant effect of magnesium on early afterdepolarizations and triggered activity induced by cesium, quinidine, and 4-aminopyridine in canine cardiac Purkinje fibers. *Am Heart J* 118, 458-466
- Kawasaki R, Machado C, Reinhoehl J, Fromm B, Baga JJ, Steinman RT, Lehmann MH (1995): Increased propensity of women to develop torsades de pointes during complete heart block. *J Cardiovasc Electrophysiol* 6, 1032-1038
- Keating MT, Sanguinetti MC (2001): Molecular and cellular mechanisms of cardiac arrhythmias. *Cell* 104, 569-580
- Kurita T, Ohe T, Marui N, Aihara N, Takaki H, Kamakura S, Matsuhisa M, Shimomura K (1992): Bradycardia-induced abnormal QT prolongation in patients with complete atrioventricular block with torsades de pointes. *Am J Cardiol* 69, 628-633
- Langendorff O (1895): Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pflügers Arch.* 61, 291-332

- Lazzara R (1993): Antiarrhythmic drugs and torsade de pointes. *Eur Heart J* 14 Suppl H, 88-92
- Maier LS (2009): A novel mechanism for the treatment of angina, arrhythmias, and diastolic dysfunction: inhibition of late I(Na) using ranolazine. *J Cardiovasc Pharmacol* 54, 279-286
- Makielski JC, Farley AL (2006): Na(+) current in human ventricle: implications for sodium loading and homeostasis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 17 Suppl 1, 15-20
- Makowski L, Caspar DL, Phillips WC, Goodenough DA (1977): Gap junction structures. II. Analysis of the x-ray diffraction data. *J Cell Biol* 74, 629-645
- Maltsev VA, Sabbah HN, Higgins RS, Silverman N, Lesch M, Undrovinas AI (1998): Novel, ultraslow inactivating sodium current in human ventricular cardiomyocytes. *Circulation* 98, 2545-2552
- Maltsev VA, Silverman N, Sabbah HN, Undrovinas AI (2007): Chronic heart failure slows late sodium current in human and canine ventricular myocytes: implications for repolarization variability. *Eur J Heart Fail* 9, 219-227
- Marian AJ (2005): On mice, rabbits, and human heart failure. *Circulation* 111, 2276-2279
- Maruyama M, Lin SF, Xie Y, Chua SK, Joung B, Han S, Shinohara T, Shen MJ, Qu Z, Weiss JN, Chen PS (2011): Genesis of phase 3 early afterdepolarizations and triggered activity in acquired long-QT syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 4, 103-111
- Mason JW (1993): A comparison of seven antiarrhythmic drugs in patients with ventricular tachyarrhythmias. *Electrophysiologic Study versus Electrocardiographic Monitoring Investigators. N Engl J Med* 329, 452-458
- Milberg P, Eckardt L, Bruns HJ, Biertz J, Ramtin S, Reinsch N, Fleischer D, Kirchhof P, Fabritz L, Breithardt G, Haverkamp W (2002): Divergent proarrhythmic potential of macrolide antibiotics despite similar QT prolongation: fast phase 3 repolarization prevents early afterdepolarizations and torsade de pointes. *J Pharmacol Exp Ther* 303, 218-225
- Milberg P, Pott C, Fink M, Frommeyer G, Matsuda T, Baba A, Osada N, Breithardt G, Noble D, Eckardt L (2008): Inhibition of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger suppresses torsades de pointes in an intact heart model of long QT syndrome-2 and long QT syndrome-3. *Heart Rhythm* 5, 1444-1452
- Miles RH, Murdock DK (2010): Ranolazine versus amiodarone for prophylaxis against atrial fibrillation following coronary artery bypass surgery. *Heart Rhythm* 258, 673-676
- Moennig G, Schulze-Bahr E, Wedekind H, Borggreffe M, Funke H, Toelle M, Kirchhof P, Eckardt L, Assmann G, Breithardt G, Haverkamp W (2001): Clinical value of

- electrocardiographic parameters in genotyped individuals with familial long QT syndrome. *Pacing Clin Electrophysiol* 24, 406-415
- Monahan BP, Ferguson CL, Killeavy ES, Lloyd BK, Troy J, Cantilena LR, Jr. (1990): Torsades de pointes occurring in association with terfenadine use. *JAMA* 264, 2788-2790
- Monsuez JJ (1997): Cardiac potassium currents and channels--part I: basic science aspects. *Int J Cardiol* 61, 209-219
- Morrow DA, Scirica BM, Karwatowska-Prokopczuk E, Murphy SA, Budaj A, Varshavsky S, Wolff AA, Skene A, McCabe CH, Braunwald E (2007): Effects of ranolazine on recurrent cardiovascular events in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: the MERLIN-TIMI 36 randomized trial. *JAMA* 297, 1775-1783
- Nattel S, Feder-Elituv R, Matthews C, Nayebpour M, Talajic M (1989): Concentration dependence of class III and beta-adrenergic blocking effects of sotalol in anesthetized dogs. *J Am Coll Cardiol* 13, 1190-1194
- Pepine CJ, Wolff AA (1999): A controlled trial with a novel anti-ischemic agent, ranolazine, in chronic stable angina pectoris that is responsive to conventional antianginal agents. Ranolazine Study Group. *Am J Cardiol* 84, 46-50
- Ragsdale DS, Scheuer T, Catterall WA (1991): Frequency and voltage-dependent inhibition of type IIA Na⁺ channels, expressed in a mammalian cell line, by local anesthetic, antiarrhythmic, and anticonvulsant drugs. *Mol Pharmacol* 40, 756-765
- Rajamani S, Shryock JC, Belardinelli L (2008): Rapid kinetic interactions of ranolazine with HERG K⁺ current. *J Cardiovasc Pharmacol* 51, 581-589
- Roden DM, Balsler JR, George AL, Jr., Anderson ME (2002): Cardiac ion channels. *Annu Rev Physiol* 64, 431-475
- Roden DM (2004): Drug-induced prolongation of the QT interval. *N Engl J Med* 350, 1013-1022
- Saad M, Mahmoud A, Elgendy IY, Richard Conti C (2016): Ranolazine in Cardiac Arrhythmia. *Clin Cardiol* 39, 170-178
- Saint DA, Ju YK, Gage PW (1992): A persistent sodium current in rat ventricular myocytes. *J Physiol* 453, 219-231
- Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK (1990): Two components of cardiac delayed rectifier K⁺ current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. *J Gen Physiol* 96, 195-215

- Schram G, Zhang L, Derakhchan K, Ehrlich JR, Belardinelli L, Nattel S (2004): Ranolazine: ion-channel-blocking actions and in vivo electrophysiological effects. *Br J Pharmacol* 142, 1300-1308
- Scirica BM, Morrow DA, Hod H, Murphy SA, Belardinelli L, Hedgepeth CM, Molhoek P, Verheugt FW, Gersh BJ, McCabe CH, Braunwald E (2007): Effect of ranolazine, an antianginal agent with novel electrophysiological properties, on the incidence of arrhythmias in patients with non ST-segment elevation acute coronary syndrome: results from the Metabolic Efficiency With Ranolazine for Less Ischemia in Non ST-Elevation Acute Coronary Syndrome Thrombolysis in Myocardial Infarction 36 (MERLIN-TIMI 36) randomized controlled trial. *Circulation* 116, 1647-1652
- Selzer A, Wray HW (1964): Quinidine Syncope. Paroxysmal Ventricular Fibrillation Occurring during Treatment of Chronic Atrial Arrhythmias. *Circulation* 30, 17-26
- Shimizu W, Antzelevitch C (1999): Cellular basis for long QT, transmural dispersion of repolarization, and torsade de pointes in the long QT syndrome. *J Electrocardiol* 32 Suppl, 177-184
- Sicouri S, Antzelevitch C (1991): A Subpopulation of Cells with Unique Electrophysiological Properties in the Deep Subepicardium of the Canine Ventricle - the M-Cell. *Circulation Research* 68, 1729-1741
- Sicouri S, Moro S, Litovsky S, Elizari MV, Antzelevitch C (1997): Chronic amiodarone reduces transmural dispersion of repolarization in the canine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 8, 1269-1279
- Silverman HS, Stern MD (1994): Ionic basis of ischaemic cardiac injury: insights from cellular studies. *Cardiovasc Res* 28, 581-597
- Sims C, Reisenweber S, Viswanathan PC, Choi BR, Walker WH, Salama G (2008): Sex, age, and regional differences in L-type calcium current are important determinants of arrhythmia phenotype in rabbit hearts with drug-induced long QT type 2. *Circ Res* 102, 86-100
- Singh SN, Fletcher RD, Fisher SG, Singh BN, Lewis HD, Deedwania PC, Massie BM, Colling C, Lazzari D (1995): Amiodarone in patients with congestive heart failure and asymptomatic ventricular arrhythmia. Survival Trial of Antiarrhythmic Therapy in Congestive Heart Failure. *N Engl J Med* 333, 77-82
- Sjostrand FS, Andersson-Cedergren E, Dewey MM (1958): The ultrastructure of the intercalated discs of frog, mouse and guinea pig cardiac muscle. *J Ultrastruct Res* 1, 271-287
- Song Y, Shryock JC, Wu L, Belardinelli L (2004): Antagonism by ranolazine of the pro-arrhythmic effects of increasing late INa in guinea pig ventricular myocytes. *J Cardiovasc Pharmacol* 44, 192-199

- Song Y, Shryock JC, Wagner S, Maier LS, Belardinelli L (2006): Blocking late sodium current reduces hydrogen peroxide-induced arrhythmogenic activity and contractile dysfunction. *J Pharmacol Exp Ther* 318, 214-222
- Song Y, Shryock JC, Belardinelli L (2008): An increase of late sodium current induces delayed afterdepolarizations and sustained triggered activity in atrial myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294, 2031-2039
- Sossalla S, Hasenfuss G, Maier LS (2008a): Inhibition des späten Natriumeinstroms ($I_{Na, late}$) als neuartige kardioprotektive Therapieoption. *Der Kardiologe* 2, 142-148
- Sossalla S, Wagner S, Rasenack ECL, Ruff H, Weber SL, Schoendube FA, Tirilomis T, Tenderich G, Hasenfuss G, Belardinelli L, Maier LS (2008b): Ranolazine improves diastolic dysfunction in isolated myocardium from failing human hearts - Role of late sodium current and intracellular ion accumulation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 45, 32-43
- Sossalla S, Kallmeyer B, Wagner S, Mazur M, Maurer U, Toischer K, Schmitto JD, Seipelt R, Schondube FA, Hasenfuss G, Belardinelli L, Maier LS (2010): Altered $Na(+)$ currents in atrial fibrillation effects of ranolazine on arrhythmias and contractility in human atrial myocardium. *J Am Coll Cardiol* 55, 2330-2342
- Sossalla S, Maier LS (2012): Role of ranolazine in angina, heart failure, arrhythmias, and diabetes. *Pharmacol Ther* 133, 311-323
- Surawicz B (1989): Electrophysiologic substrate of torsade de pointes: dispersion of repolarization or early afterdepolarizations? *J Am Coll Cardiol* 14, 172-184
- Sutherland FJ, Hearse DJ (2000): The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacol Res* 41, 613-627
- Toischer K, Hartmann N, Wagner S, Fischer TH, Herting J, Danner BC, Sag CM, Hund TJ, Mohler PJ, Belardinelli L, Hasenfuss G, Maier LS, Sossalla S (2013): Role of late sodium current as a potential arrhythmogenic mechanism in the progression of pressure-induced heart disease. *J Mol Cell Cardiol* 61, 111-122
- Tomaselli GF, Marban E (1999): Electrophysiological remodeling in hypertrophy and heart failure. *Cardiovascular Research* 42, 270-283
- Tseng GN (2001): $I(Kr)$: the hERG channel. *J Mol Cell Cardiol* 33, 835-849
- Tytgat J, Vereecke J, Carmeliet E (1988): Differential effects of verapamil and flunarizine on cardiac L-type and T-type Ca channels. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 337, 690-692
- Tytgat J, Vereecke J, Carmeliet E (1996): Mechanism of L- and T-type Ca^{2+} channel blockade by flunarizine in ventricular myocytes of the guinea-pig. *Eur J Pharmacol* 296, 189-197

- Undrovinas AI, Belardinelli L, Undrovinas NA, Sabbah HN (2006): Ranolazine improves abnormal repolarization and contraction in left ventricular myocytes of dogs with heart failure by inhibiting late sodium current. *J Cardiovasc Electrophysiol* 17 Suppl 1, S169-S177
- Valdivia CR, Chu WW, Pu J, Foell JD, Haworth RA, Wolff MR, Kamp TJ, Makielski JC (2005): Increased late sodium current in myocytes from a canine heart failure model and from failing human heart. *J Mol Cell Cardiol* 38, 475-483
- Venkataraman R, Belardinelli L, Blackburn B, Heo J, Iskandrian AE (2009): A study of the effects of ranolazine using automated quantitative analysis of serial myocardial perfusion images. *JACC Cardiovasc Imaging* 2, 1301-1309
- Ver Donck L, Borgers M, Verdonck F (1993): Inhibition of sodium and calcium overload pathology in the myocardium: a new cytoprotective principle. *Cardiovasc Res* 27, 349-357
- Verduyn SC, Vos MA, Gorgels AP, van der Zande J, Leunissen JD, Wellens HJ (1995): The effect of flunarizine and ryanodine on acquired torsades de pointes arrhythmias in the intact canine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 6, 189-200
- Verduyn SC, Vos MA, van der Zande J, van der Hulst FF, Wellens HJ (1997): Role of interventricular dispersion of repolarization in acquired torsade-de-pointes arrhythmias: reversal by magnesium. *Cardiovasc Res* 34, 453-463
- Viskin S (1999): Long QT syndromes and torsade de pointes. *Lancet* 354, 1625-1633
- Volders PGA, Vos MA, Szabo B, Sipido KR, de Groot SHM, Gorgels APM, Wellens HJJ, Lazzara R (2000): Progress in the understanding of cardiac early afterdepolarizations and torsades de pointes: time to revise current concepts. *Cardiovascular Research* 46, 376-392
- Vos MA, Verduyn SC, Gorgels AP, Lipcsei GC, Wellens HJ (1995): Reproducible induction of early afterdepolarizations and torsade de pointes arrhythmias by d-sotalol and pacing in dogs with chronic atrioventricular block. *Circulation* 91, 864-872
- Waldo AL, Camm AJ, deRuyter H, Freidman PL, MacNeil DJ, Pitt B, Pratt CM, Rodda BE, Schwartz PJ (1995): Survival with oral d-sotalol in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction: rationale, design, and methods (the SWORD trial). *Am J Cardiol* 75, 1023-1027
- Wang WQ, Robertson C, Dhalla AK, Belardinelli L (2008): Antitortadogenic effects of ({+/-})-N-(2,6-dimethyl-phenyl)-(4[2-hydroxy-3-(2-methoxyphenoxy)propyl]-1 - piperazine (ranolazine) in anesthetized rabbits. *J Pharmacol Exp Ther* 325, 875-881
- Williams V (1984): A classification of antiarrhythmic actions reassessed after a decade of new drugs. *J Clin Pharmacol* 24, 129-147

- Wolk R, Cobbe SM, Hicks MN, Kane KA (1999): Functional, structural, and dynamic basis of electrical heterogeneity in healthy and diseased cardiac muscle: implications for arrhythmogenesis and anti-arrhythmic drug therapy. *Pharmacology & Therapeutics* 84, 207-231
- Wu J, Corr PB (1994): Palmitoyl carnitine modifies sodium currents and induces transient inward current in ventricular myocytes. *Am J Physiol* 266, H1034-1046
- Wu L, Shryock JC, Song Y, Li Y, Antzelevitch C, Belardinelli L (2004): Antiarrhythmic effects of ranolazine in a guinea pig in vitro model of long-QT syndrome. *J Pharmacol Exp Ther* 310, 599-605
- Wu L, Rajamani S, Li H, January CT, Shryock JC, Belardinelli L (2009): Reduction of repolarization reserve unmasks the proarrhythmic role of endogenous late Na(+) current in the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297, H1048-1057
- Yang T, Roden DM (1996): Extracellular potassium modulation of drug block of IKr. Implications for torsade de pointes and reverse use-dependence. *Circulation* 93, 407-411
- Zabel M, Portnoy S, Franz MR (1995): Electrocardiographic indexes of dispersion of ventricular repolarization: an isolated heart validation study. *J Am Coll Cardiol* 25, 746-752
- Zabel M, Hohnloser SH, Behrens S, Woosley RL, Franz MR (1997a): Differential effects of D-sotalol, quinidine, and amiodarone on dispersion of ventricular repolarization in the isolated rabbit heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 8, 1239-1245
- Zabel M, Hohnloser SH, Behrens S, Li YG, Woosley RL, Franz MR (1997b): Electrophysiologic features of torsades de pointes: insights from a new isolated rabbit heart model. *J Cardiovasc Electrophysiol* 8, 1148-1158
- Zabel M: Klinische und experimentelle Arbeiten zur Dispersion der ventrikulären Repolarisation–vom arrhythmogenen Substrat zum klinischen Risikomarker. Med. Habil.-Schr. Berlin 2011

Veröffentlichung

Teile dieser Arbeit wurden vorab veröffentlicht.

Samuel Sossalla, Nora Wallisch, Karl Toischer, Christian Sohns, Dirk Vollmann, Joachim Seegers, Lars Lühje, Lars S. Maier, Markus Zabel (2014): Effects of Ranolazine on Torsades de Pointes Tachycardias in a Healthy Isolated Rabbit Heart Model. *Cardiovascular Therapeutics*, 32, 170-177.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Markus Zabel danke ich herzlich für die Bereitstellung des Themas, die freundliche Unterstützung, Betreuung und Anregung zu dieser Arbeit.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Markus Zabel außerdem für seine Motivation und sein Engagement, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Mein herzlichster Dank gilt PD Dr. Samuel Sossalla für die hervorragende Zusammenarbeit und seine unermüdliche Hilfsbereitschaft.

Des Weiteren danke ich der gesamten Arbeitsgruppe im Labor für die zuvorkommende Unterstützung und angenehme Arbeitsatmosphäre. Gudrun Müller danke ich für die geduldige Anleitung und die lehrreichen Stunden im Labor.
