

Aus der Medizinischen Klinik II

der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. H. Schunkert

**Einfluß des β - Blockers Carvedilol auf die
Noradrenalinfreisetzung im Rattenherzen:
Vergleich von nicht-ischämischen und ischämischen Bedingungen**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

Aus der Medizinischen Fakultät

vorgelegt von

Doreen Richardt

aus Merseburg

Lübeck 2007

1. Berichterstatter:

Priv. Doz. Dr. med. T. Kurz

2. Berichterstatterin/ Berichterstatter:

Priv. Doz. Dr. med. C. Schmidtke

Tag der mündlichen Prüfung:

05.07.2007

zum Druck genehmigt. Lübeck, den

05.07.2007

Inhalt:

1.	Einleitung und Fragestellung.....	6
1.1.	Grundlagen der sympathischen Innervation des Herzens.....	6
1.2.	Sympathoadrenerges System im ischämischen Myokard.....	8
1.3.	β -Blockade im ischämischen Myokard.....	10
1.4.	Fragestellung und Ziele.....	14
1.5.	Methodischer Versuchsansatz.....	15
2.	Material und Methoden.....	16
2.1.	Versuchstiere.....	16
2.2.	Experimentelles Vorgehen.....	16
2.2.1.	Präparation und Perfusion der Rattenherzen.....	16
2.2.2.	Stimulation und exoytotische Noradrenalinfreisetzung.....	18
2.3.	Experimentelle Serien.....	18
2.3.1.	Perfusions- und Stimulationsprotokolle.....	18
2.3.2.	Normoxische Experimente.....	19
2.3.3.	Ischämische Experimente.....	20
2.3.4.	Anoxische Experimente.....	22
2.4.	Bestimmung von endogenem Noradrenalin.....	23
2.5.	Substanzen.....	25
2.5.1.	Modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung (KHL).....	25
2.5.2.	Medikamente.....	25
2.6.	Berechnung und Statistik.....	26

3.	Ergebnisse.....	27
3.1.	Noradrenalinfreisetzung in der Normoxie.....	27
3.1.1.	Wirkung von Carvedilol und seiner Stereoisomere.....	27
3.1.2.	Wirkung anderer β -Blocker.....	30
3.1.3.	Wirkung von Prazosin und B-HT 933.....	32
3.1.4.	Wirkung von Yohimbin.....	33
3.2.	Noradrenalinfreisetzung in der Ischämie.....	36
3.2.1.	Wirkung von Carvedilol und seiner Stereoisomere.....	36
3.2.2.	Wirkung anderer β -Blocker.....	39
3.2.3.	Wirkung von Prazosin und B-HT 933.....	41
3.2.4.	Wirkung von Yohimbin.....	43
3.3.	Noradrenalinfreisetzung in der Anoxie.....	43
3.3.1.	Wirkung von Carvedilol R(+)......	43
3.3.2.	Wirkung von Yohimbin.....	45
3.3.3.	Wirkung von Carvedilol R(+) ohne Glucosemangel.....	45
4.	Diskussion.....	46
5.	Zusammenfassung.....	53
6.	Literaturverzeichnis.....	55
7.	Curriculum vitae.....	70
8.	Danksagung	71
9.	Publikationsliste.....	72

Abkürzungsverzeichnis

COMT = Catechol-o-Methyltransferase

DMI = Desipramin

DOPEG = 3,4-Dihydroxyphenylethylenglycol

EDTA = Ethylendiamintetraacetatlösung

EMT = Extraneuronaler Monoamin Transporter

HPLC = high-pressure liquid chromatography, Hochdruckflüssigkeitschromatographie

KHL = Krebs-Henseleit-Lösung, Normaltyrode

MAO = Monoaminoxidase

SEM = Standardabweichung der Mittelwerte

1. Einleitung und Fragestellung

1.1. Grundlagen der sympathischen Innervation des Herzens

Das sympathische Nervensystem spielt bei der Regulation der Herzfunktion eine wichtige Rolle. Eine Sympathikusaktivierung kann beispielsweise über Hypovolämie, Hyperkapnie, Schmerz und Hypoxie erfolgen. Hierbei kommt es zur Aktivierung von Kreislaufregulationszentren im Hirnstamm. Eine wesentliche Rolle bei der Regulation der Aktivität des kardialen Sympathikus fällt dabei Neuronen in der rostroventralen Medulla (*Seller, 1996*) und anderen supraspinalen deszendierenden Systemen von Hypothalamus und Hirnstamm zu, die letztlich zu präganglionären Neuronen führen. Die präganglionären Anteile der sympathischen kardialen Fasern finden sich in den oberen Thorakalsegmenten des Rückenmarks. In den Ganglien des sympathischen Grenzstranges, vor allem aber im Ganglion stellatum, erfolgt die Umschaltung auf postganglionäre sympathische Nerven. Diese Fasern werden als Nervi cardiaci bezeichnet und ziehen zum Herzen. Außerdem erfährt das Herz durch im Blut zirkulierende Katecholamine aus dem Nebennierenmark sympathische Einflüsse (*Hoffmann und Taylor, 2001; Kopin, 1985*).

Noradrenalin und Adrenalin, als die beiden klassischen Transmitter des Sympathikus, werden in den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks und in postganglionären sympathischen Nerven synthetisiert. Sie besitzen eine kurze Plasmahalbwertszeit von ca. 90 Sekunden und eignen sich hervorragend zur schnellen Anpassung der kardialen Funktion. Unter physiologischen Bedingungen findet sich eine regulierte kalziumabhängige, exozytotische Freisetzung von Noradrenalin aus postganglionären Nervenendigungen (*Lin und Scheller, 1997; Meir et al., 1999*), wo es zuvor aus Tyrosin in einem mehrstufigen enzymatischen Umwandlungsprozess synthetisiert und in intrazellulären Vesikeln gespeichert wurde. Über den synaptischen Spalt erreicht Noradrenalin direkt die postsynaptisch gelegenen Effektorzellen und wird innerhalb weniger Millisekunden wirksam. Zur Synthese von

biologisch aktivem Noradrenalin ist neben dem Substrat Tyrosin auch die Tyrosinhydroxylase als geschwindigkeitsbestimmendes Enzym sowie die Anwesenheit der beiden Enzyme DOPA-Decarboxylase und Dopamin- β -Hydroxylase notwendig (*Nagatsu, 1991*). Die Freisetzung wird in erster Linie von der efferenten sympathischen Nervenaktivität und der Höhe der lokalen Katecholaminspeicher bestimmt. Weiterhin spielt eine differenzierte präsynaptische Modulation durch inhibitorische und stimulatorische präsynaptische Rezeptorsysteme wie z.B. die α_2 -adrenerge Autoinhibition eine Rolle bei der Noradrenalinfreisetzung (*Langer, 1980; Langer, 1997; Starke, 1977; Starke, 1981; Starke et al., 1989*). Die Elimination des freigesetzten Noradrenalins erfolgt unter physiologischen Bedingungen zu über 90% über einen Uptake₁-Transporter. Über diesen neuronalen Aufnahmemechanismus wird Noradrenalin wieder in die periphere Nervenendigung aufgenommen. Dort wird es anschließend entweder erneut in sympathischen Speichervesikeln verpackt oder mit Hilfe der Monoaminoxidase (MAO) zu Dihydroxyphenylethylenglycol (DOPEG) abgebaut. DOPEG diffundiert frei über die neuronale Membran. Neben dem neuronalen (Uptake₁) ist noch ein extraneuronaler Aufnahmemechanismus (Uptake₂; Extraneuronaler Monoamin Transporter, EMT) und in geringem Maße Diffusion und Metabolismus zur Elimination von Noradrenalin bekannt. Nach Aufnahme über den EMT wird Noradrenalin durch die Catechol-o-Methyltransferase (COMT) zu biologisch inaktiven Metaboliten abgebaut (*Kopin, 1985*).

Die postsynaptische Signaltransduktion erfolgt vor allem über die Bindung der Katecholamine an α - und β -Rezeptoren. Diese können wiederum in pharmakologisch differenzierbare Subtypen und molekularbiologisch distinkte Isoformen unterteilt werden (*Brodde, 1993; Hein und Kobilka, 1995*). Charakterisiert werden sie weiterhin durch ihre gewebsspezifischen Expressionsmuster, ihre Koppelung an unterschiedliche Second-messenger-Systeme und ihre unterschiedlichen Effekte auf die nachgeschaltete Adenylatzyklase (*Hoffmann und Taylor, 2001; McDermott et al., 1993*). Während α_1 -

Adrenozeptoren an den Phosphoinositol-Stoffwechsel mit Phospholipase C und D gekoppelt sind, inhibieren α_2 -Adrenozeptoren über ein G_i -Protein die Adenylatzyklase. Durch β_1 - und β_2 -Adrenozeptoren wird über ein G_s -Protein die Adenylatzyklase stimuliert, was durch eine Zunahme der Herzfrequenz, der Erregungsüberleitung und der Kontraktilität zum Ausdruck kommt. Da die glatten Gefäßmuskelzellen der Koronararterien sowohl vasokonstriktorische α_1 - und α_2 -Adrenozeptoren und Y_1 -Rezeptoren (Heusch et al., 1984; Woodman und Vatner, 1987) als auch vasodilatatorische β_2 -Adrenozeptoren besitzen (Feldman et al., 1989) ist die Reaktion einer dicht sympathisch innervierten Koronararterie auf eine Sympathikusstimulation komplex (Feigl et al., 1976; Young und Vatner, 1986; Jones et al., 1995). Von großer Bedeutung für die Veränderung des Koronartonus ist dabei die lokale Katecholaminfreisetzung am Herzen (Di Carli et al., 1997).

1.2. Sympathoadrenerges System im ischämischen Myokard

Im Verlauf eines Myokardinfarktes kommt es zu einer Vielzahl ausgeprägter Veränderungen wie beispielsweise zentrale und reflektorische Reaktionen der autonomen Innervation. Durch die Veränderungen im extrazellulären Milieu (Freisetzung von Metaboliten, Azidose) werden intrakardiale Chemorezeptoren stimuliert, die zu einer erhöhten Aktivität sympathischer Efferenzen und einer Steigerung der kardialen Noradrenalinfreisetzung führen (Videbaek et al., 1972; Nadeau und de Champlain, 1979; Karlsberg et al., 1979). Allerdings spielen die im Blut zirkulierenden Katecholamine für das ischämische Areal eine untergeordnete Rolle, da dieses Gebiet vom allgemeinen Blutfluss kaum erreicht wird. Im ischämischen Myokard ist der Anstieg von lokal freigesetztem Noradrenalin bedeutsam (Schömig, 1990). Richardt und Mitarbeiter konnten 1997 zeigen, dass bei Patienten mit akutem Vorderwandinfarkt während der Wiedereröffnung des verschlossenen Koronargefäßes mittels Ballondilatation (PTCA) eine massive Noradrenalinfreisetzung aus dem infarzierten Areal nachzuweisen war. Tierexperimentelle Studien konnten anhand von Versuchen mit Mikrodialysetechnik zeigen,

dass es innerhalb einer zwanzigminütigen Koronarligatur zu einem Anstieg der interstitiellen NoradrenalinKonzentration im ischämischen Areal auf das Fünffache, innerhalb einer vierzigminütigen Koronarligatur auf das Zwanzigfache, kam. Im nichtischämischen Areal blieb die interstitielle NoradrenalinKonzentration unverändert (*Mertes et al., 1996; Lameris et al., 2000; Miura et al., 2001; Kawada et al., 2001; Lameris et al., 2002*). Durch die erhöhte lokale Katecholaminkonzentration kommt es über einen höheren zellulären Energiestoffwechsel und durch einen verstärkten Kalziumeinstrom zu einem, besonders in den Randzonen des Infarktgebietes, beschleunigten Zelluntergang (*Waldenström et al., 1978; Rona, 1985*).

Betrachtet man die Veränderungen der Noradrenalinfreisetzung während myokardialer Ischämie in ihrem zeitlichen Verlauf, so ergeben sich zwei Phasen. In der frühen Ischämiephase (≤ 10 Minuten) kommt es auf der einen Seite durch den absinkenden Blutdruck zu kardiovaskulären Reflexen und auf der anderen Seite über afferente Nervenfasern im ischämischen Gebiet zur Aktivierung kardiokardialer Reflexe (*Felder und Thames, 1981*). Dies führt zu einer erhöhten Aktivität der efferenten sympathischen Nervenfasern zum Herzen (*Malliani et al., 1969; Webb et al., 1972; Lombardi et al., 1983*), was eine streng kalziumabhängige, exozytotische Noradrenalinfreisetzung in den ersten Minuten der Ischämie zur Folge hat (*Schömig und Richardt, 1990; Knight und Baker, 1982*). Der exozytotische Freisetzungsmechanismus von Noradrenalin wird bei längerer Ischämiedauer (>10 Minuten) von einer lokal-metabolischen, nicht-exozytotischen Freisetzung abgelöst (*Schömig et al., 1984; Carlsson et al., 1985; Dart et al., 1987*). Verantwortlich dafür ist ein durch Energiemangel ausgelöster Anstieg der freien intraneuralen NoradrenalinKonzentration. Dieser Anstieg entsteht durch eine verminderte vesikuläre Aufnahme und Speicherung des Amins und wird durch einen geringeren Abbau von freiem Noradrenalin verstärkt. In der Myokardischämie kommt es zu einer intrazellulären Azidose, die ihrerseits zu einer Aktivierung des Natrium/Protonen-Austauschers führt. Aufgabe des

Natrium/Protonen-Austauschers ist es, Protonen gegen extrazelluläres Natrium auszutauschen, so dass es zu einer Zunahme der intrazellulären Natriumkonzentration kommt. Durch den Anstieg der intrazellulären Konzentration von freiem Noradrenalin und Natrium wird schließlich ein Auswärtstransport von Noradrenalin über den neuronalen Noradrenalin-Transporter (Uptake₁) entgegen dessen physiologischer Transportrichtung ausgelöst, welcher wiederum durch pharmakologische Blockade des Uptake₁-Transporters mittels Desipramin nahezu vollständig gehemmt werden kann (*Schömig et al., 1984; Schömig et al., 1987*). Da das ischämische Areal nicht perfundiert wird, akkumuliert Noradrenalin im Interstitium und erreicht rasch toxische Konzentrationen (*Schömig und Richardt, 1990*). Postsynaptisch erhöht sich kurzzeitig die Ansprechbarkeit der Myozyten für Katecholamine; es findet sich ebenso eine erhöhte Zahl membranständiger β -adrenerger Rezeptoren (*Maisel et al., 1985; Strasser et al., 1990*) wie eine höhere Dichte der kardialen α_1 -Adrenozeptoren in der frühen Phase der Ischämie (*Corr et al., 1981; Kurz et al., 1991*). Diese Kombination aus stark erhöhten Katecholaminkonzentrationen im Myokard und gesteigerter Katecholaminsensitivität ist wahrscheinlich der Grund für die Vergrößerung des ischämiebedingten Zellschadens und für die Auslösung von Rhythmusstörungen (*Corr und Gillis, 1978; Malliani et al., 1980; Waldenström et al., 1978; Schömig et al., 1991*).

1.3. β -Blockade im ischämischen Myokard

Einerseits haben Katecholamine bei drohendem Pumpversagen eine lebenswichtige Funktion, denn durch die positiv inotrope Stimulation des Herzens steigern sie das Herzzeitvolumen. Andererseits muss man eine schädigende Wirkung der Katecholamine annehmen, da durch eine Vielzahl an Studien eine protektive Wirkung einer β -Blockade im akut ischämischen Herzen belegt werden konnte (*Menken et al., 1979; Yusuf et al., 1985; ISIS-1, 1986*). Klinische Studien zeigten, dass die intravenöse Gabe von β -Blockern die Letalität im Myokardinfarkt verringert (*MIAMI, 1985; ISIS-1, 1986; Yusuf et al., 1983, 1985*) und dass die

Infarktgröße verkleinert wird (*Reimer et al., 1976; Miura et al., 1979; Yusuf et al., 1983; Roberts et al., 1984*). Dabei wird der postsynaptische Katecholaminantagonismus der β -Blocker als Ursache angesehen (*Frishman, 1983; Gerber und Nies, 1985; Yusuf et al., 1985; Sleight, 1987*). Eine von *Yusuf et al. 1985* veröffentlichte Meta-Analyse zeigt, dass die Rate nicht tödlicher Reinfarkte, die Gesamtsterblichkeit und insbesondere die Sterblichkeit durch einen plötzlichen Herztod durch eine chronische Behandlung mit einem β -Blocker um bis zu 30% verringert werden kann. Eine deutliche Reduzierung der Postinfarktletalität war allerdings nur bei β -Blockern ohne intrinsische sympathomimetische Aktivität, z.B. Metoprolol und Propranolol zu beobachten. Die Kardioselektivität spielte dabei eine untergeordnete Rolle (*Yusuf et al., 1985*). Einige Autoren gehen auch von einer präsynaptischen Hemmung der Noradrenalinfreisetzung durch β -Blocker aus (*Dahlof et al., 1978; Yamaguchi et al., 1986*).

Da in den letzten Jahren zahlreiche Studien zeigten, dass sowohl Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (*Cleland et al., 1996*) als auch Herzinfarktpatienten (*Yusuf et al., 1985*) von der Behandlung mit β -Blockern profitieren, waren Vergleiche innerhalb dieser Wirkstoffgruppe unumgänglich. Die Einsatzmöglichkeiten von β -Blockern reichen von der Primärprävention bei Hochdruckkranken über die symptomatische Behandlung bei Angina pectoris, der Reduktion von Myokardischämie bis hin zur Mortalitätssenkung bei und nach Myokardinfarkt (*Frishman 2002*). Inzwischen kann man auch Koronarkranke einer β -Blocker-Therapie zuführen, bei denen noch bis vor wenigen Jahren eine solche Medikation als zu riskant oder kontraindiziert galt. Viele Kontraindikationen wurden nach und nach zurückgenommen, nachdem klinische Studien die Sicherheit und Effizienz der β -Blocker z.B. auch bei chronisch obstruktiver Lungenerkrankung, peripherer arterieller Verschlusskrankheit oder Diabetes mellitus gezeigt haben. Neu- bzw. Weiterentwicklungen von β -Blockern haben

insgesamt bis auf β -Blocker Carvedilol wenig Vorteile gebracht. Die derzeit verfügbaren β -Blocker lassen sich grob in zwei Gruppen unterteilen: in β_1 -selektive und nicht-selektive β -Blocker mit und ohne β_2 -agonistischer Wirkung, wobei die für die Therapie der koronaren Herzkrankheit und der arteriellen Hypertonie angestrebten Wirkungen über β_1 -Adrenozeptoren vermittelt werden. Eine Blockade der myokardialen β_1 -Adrenozeptoren wirkt negativ inotrop, negativ chronotrop und senkt über die Verminderung des myokardialen Sauerstoffverbrauchs das Ischämierisiko. Die Blockade der β_2 -Adrenozeptoren führt zu den eher unerwünschten, ungünstigen Effekten auf Bronchialmuskulatur, Diabetes mellitus, Fettstoffwechsel und periphere arterielle Verschlusskrankheit. Dennoch sind auch bei hochselektiven β -Blockern wie Atenolol, Bisoprolol, Celiprolol und Metoprolol unerwünschte Wirkungen zu erwarten.

Inzwischen gibt es viele Studien, die die Vorteile einer Behandlung mit β -Blockern dokumentieren. Mit CIBIS II (*CIBIS II, 1999*) und MERIT-HF (*MERIT-HF, 1999*) gelang der Nachweis, dass Patienten mit leichter bis mittelschwerer Herzinsuffizienz im NYHA-Stadium II bis III von einer Behandlung mit β -Blockern plus konventioneller Behandlung, d.h. mit einem ACE-Hemmer, profitieren. In diesen Studien konnte allerdings für den kleinen Anteil der NYHA IV Patienten kein signifikanter Überlebensvorteil demonstriert werden. Vor allem der nicht-selektive β -Blocker Carvedilol mit zusätzlicher α_1 -Blockade war immer wieder Gegenstand großer Studien, nachdem berichtet wurde, dass er sowohl die Mortalität als auch das Risiko einer Krankenhauseinweisung aus kardiovaskulären Gründen bei Patienten mit leichter bis mäßiger Herzinsuffizienz ischämischen oder nicht ischämischen Ursprungs reduziert (*Packer et al., 1996*). Metoprolol und Bisoprolol zeigten lediglich bei der Behandlung der dilatativen Kardiomyopathie diese Vorteile (*CIBIS, 1994; Waagstein et al., 1975*). Außerdem gibt es Hinweise, dass Carvedilol den herkömmlichen β -Blockern hinsichtlich der Verkleinerung der Infarktgröße im experimentellen Myokardinfarkt überlegen

ist (Feuerstein und Ruffolo, 1995). Carvedilol wirkt außerdem als Antioxidans und Kalzium-Kanal-Blocker (Feuerstein und Ruffolo, 1996; Ruffolo et al., 1990). Bezüglich der Bindungsaffinität der beiden Enantiomere von Carvedilol, dem R(+) und S(-)-Enantiomer, an α - und β -Adrenozeptoren ist bekannt, dass nur das S(-)-Enantiomer eine starke β -blockierende Wirkung besitzt, während beide Enantiomere ebenbürtig zur α_1 -Rezeptorblockade beitragen (Bartsch et al., 1990).

Die klinischen Studien deuten auf eine Überlegenheit von Carvedilol gegenüber anderen β -Blockern hin. Zudem zeigte die CARMEN-Studie bei Patienten mit leichter chronischer Herzinsuffizienz eine hoch signifikante Verbesserung der Funktion und des Remodellings des linken Ventrikels, wenn die Patienten eine Kombinationstherapie aus Carvedilol und ACE-Hemmer bekamen. Patienten, die Carvedilol als Monotherapie oder als Kombinationstherapie mit dem ACE-Hemmer Enalapril erhielten, erfuhren einen günstigen Effekt auf das Remodelling des linken Ventrikels bei leichter bis mittlerer Herzinsuffizienz und linksventrikulärer systolischer Dysfunktion (CARMEN, 2004). Mit der COPERNICUS-Studie wurde erstmals gezeigt, dass Carvedilol auch in der Gruppe der schwer herzinsuffizienten Patienten der NYHA-Klasse IV die Mortalität signifikant um 35% und den kombinierten Endpunkt von Tod/Hospitalisierung um 24%-31% reduzieren konnte (COPERNICUS, 2001). Die Ergebnisse der CAPRICORN-Studie machen deutlich, dass Patienten mit einer linksventrikulären Dysfunktion nach einem höchstens 21 Tage zurück liegendem Myokardinfarkt von einer Behandlung mit Carvedilol profitieren. Hier reduzierte die Behandlung mit Carvedilol die Gesamtmortalität, aber auch die kardiovaskuläre Mortalität und die Zahl der nicht-tödlichen Myokardinfarkte. CAPRICORN zeigte auch eine hervorragende Verträglichkeit von Carvedilol (The CAPRICORN Investigators, 2001). Die MOCHA-Studie fand heraus, dass Metoprolol und Bisoprolol im Gegensatz zu Carvedilol erst bei hoher Dosierung ihre positive Wirkung entfalten (MOCHA, 1996).

Die COMET-Studie, die längste und größte Studie zur chronischen Herzinsuffizienz, verglich erstmals zwei β -Blocker (Carvedilol und Metoprolol) direkt bezüglich der Mortalität. Sie zeigte eine signifikant höhere Gesamtüberlebensrate (17%, $p=0.0017$) und ein im Mittel um 1,4 Jahre längeres Überleben unter Carvedilol-Gabe, obwohl die Zahl der Krankenhauseinweisung keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen aufwies. Da jedoch die kardiovaskuläre Mortalität unter Carvedilol hochsignifikant um 20% geringer war als unter Metoprolol, könnte der Überlebensvorteil vor allem durch die über die β_1 -Blockade hinausgehenden Eigenschaften von Carvedilol bedingt sein (*COMET, 2003*). Denkbar wäre, dass die höhere Mortalität in der Metoprolol-Gruppe durch einen durch Rhythmusstörungen verursachten plötzlichen Herztod, der noch vor einer Hospitalisierung eintrat, verursacht wurde. Rhythmusstörungen können durch freigesetzte Katecholamine hervorgerufen werden (*Kurz et al., 1995; Tölg et al., 1997*), so dass Carvedilol möglicherweise günstig in die Katecholaminfreisetzung eingreift.

1.4. Fragestellung und Ziele

Obwohl eine erhöhte Sympathikusaktivität und Noradrenalinfreisetzung im Herzen während Herzinsuffizienz und Myokardischämie von großer pathophysiologischer Bedeutung sind, wurde die Regulation der kardialen Noradrenalinfreisetzung bisher nicht ausreichend als möglicher differentieller Angriffspunkt von β -Blockern untersucht.

Mit der vorliegenden Arbeit sollten deshalb, folgende Fragen beantwortet werden:

1. Haben β -Blocker einen Einfluß auf die endogene Noradrenalinfreisetzung im Herzen und gibt es Unterschiede zwischen verschiedenen β -Blockern ?

2. Welche Auswirkungen haben normoxische, ischämische bzw. anoxische Versuchsbedingungen auf die kardiale Noradrenalinfreisetzung unter Verwendung von β -Blockern ?

3. Gibt es Unterschiede zwischen Carvedilol Racemat und seinen Enantiomeren in ihrer Wirkung auf die kardiale Noradrenalinfreisetzung?

1.5. Methodischer Versuchsansatz

In der vorliegenden Arbeit wurde das Modell des isoliert perfundierten Rattenherzens verwendet, da es für die Bearbeitung der Fragestellungen besondere Vorzüge bietet. So werden ausschließlich lokale Mechanismen am Herzen erfasst, d.h. die Messung von endogenem Noradrenalin ist unabhängig von hämodynamischen, zentralnervösen und humoralen Einflüssen. Vorausgehende Untersuchungen zeigen zudem, dass eine Übertragung der Versuchsergebnisse auf die Bedingungen im humanen Herzen möglich ist (*Seyfarth et al., 1993*).

Es wurden die β_1 -selektiven β -Blocker Atenolol, Bisoprolol und Metoprolol (alle ohne β_2 -agonistische Wirkung) mit Celiprolol (mit β_2 -agonistischer Wirkung) und Carvedilol (nicht selektiv ohne β_2 -agonistischer Wirkung und zusätzlicher α_1 -Blockade) verglichen. Zur weiteren Charakterisierung des Wirkmechanismus von Carvedilol wurden auch Versuche mit Prazosin (α -Adrenozeptorenblocker) und B-HT 933 (α -Agonist) durchgeführt.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Für die Versuche wurden männliche Wistar-Ratten (Charles River) verwendet, die nach den Richtlinien des „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“ (durch das US National Institute of Health (NIH publication No. 85-23, in der revidierten Fassung von 1996 veröffentlicht) gehalten wurden. Genehmigungen für die beschriebenen Versuche wurden beim Ministerium für Umwelt, Naturschutz und Landwirtschaft des Landes Schleswig-Holstein in Kiel eingeholt.

Die Tiere wurden konventionell gehalten, pathogenfrei aufgezogen und erhielten eine Standard-Pellet Diät mit Wasser ad libitum. Sie lebten in einem Hell-/Dunkel-Rhythmus von 10 h/14 h bei einer Raumtemperatur von 20-22 °C. Zum Versuchszeitpunkt waren die Tiere 45-60 Tage alt und hatten ein Gewicht von 200-260 g. Am Versuchstag wurden die Ratten aus dem Tierstall der gemeinsamen Tierhaltung der Universität zu Lübeck geholt und bis zur Organentnahme reizarm aufbewahrt.

2.2. Experimentelles Vorgehen

2.2.1. Präparation und Perfusion der Rattenherzen

Die Versuchstiere wurden mit einer intraperitonealen Gabe von 75-100 mg/kg Körpergewicht Thiopental-Natrium narkotisiert. Die Peritonealhöhle wurde eröffnet und die Vena cava inferior in Höhe der rechten Niere dargestellt. Es wurden 500 I.E./kg Körpergewicht Heparin-Natrium intracaval injiziert, um eine Thrombosierung der Koronargefäße zu verhindern. Nach Eröffnung des Thorax erfolgte die Präparation des Herzens. Das entnommene Herz wurde sofort in eiskalte Krebs-Henseleit-Lösung gebracht und gewogen (mittleres Herzgewicht 0,9 g). Direkt anschließend wurde die Aorta ascendens retrograd bis kurz vor die Klappenebene

kanüliert und an der Perfusionskanüle mittels Faden befestigt (Abbildung 1). Über eine Mehrkanal-Rollerpumpe (Watson Marlow 5058, Watson Marlow Limited Falmouth Cornwall, England) konnte die gleichzeitige antegrade Koronarperfusion (*Langendorff, 1895*) von bis zu vier Herzen pro Versuch gewährleistet werden. Zwei weitere Kanäle dienten der pH-Messung bzw. bei den Anoxieversuchen zusätzlich der Messung des Sauerstoffgehaltes der Krebs-Henseleit-Lösung.

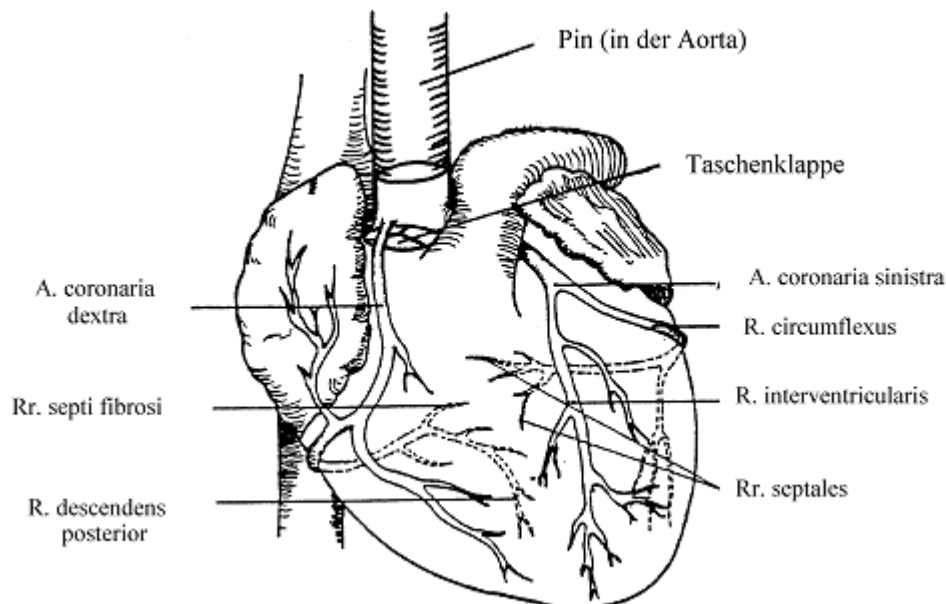


Abbildung 1. Darstellung der Perfusion nach Langendorff. Die Aorta wird bis kurz vor die Klappenebene kanüliert und befestigt. Die Perfusion erfolgt retrograd durch die Aorta ascendens und antegrad durch die Koronararterien bei geschlossenen Taschenklappen der Aortenklappe.

Die Herzen wurden mit einer modifizierten Lösung nach Krebs-Henseleit (KHL, s.2.5.1.) perfundiert, die mit einem Gemisch aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid begast wurde. Es wurde eine Flussrate von 8 ml/min, ein pH-Wert von $7,4 \pm 0,02$ und eine Temperatur von $37,0^\circ \text{C} \pm 0,3^\circ \text{C}$ während des gesamten Versuches beibehalten. Während des Versuches

wurde um die Herzen eine auf 37° C erwärmte Glaskammer gebracht, um eine Auskühlung durch die Außentemperatur zu verhindern.

Etwa 10 % der Herzen schlugen nach der Präparation nicht wieder spontan und wurden deshalb für den Versuch nicht mehr weiterverwendet.

2.2.2. Stimulation und exozytotische Noradrenalinfreisetzung

Während des Versuches wurden die Herzen zwischen zwei 10x7 mm großen, konkaven Stahl-Elektroden so platziert, dass das Ventrikelseptum zwischen beiden Elektroden lag und das Herz nicht komprimiert wurde. Eine exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation mit einem Frequenzgenerator (HSE Stimulator P, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) induziert (*Seyfahrt et al., 1993*), wobei jedes Herz zweimal für je 60 Sekunden stimuliert wurde (S_1 und S_2). Die Spannung wurde während der Stimulation mit Hilfe eines Oszilloskopes (30 MHz-Oszilloscope CO 30, Grundig, Deutschland) überwacht.

2.3. Experimentelle Serien

2.3.1. Perfusions- und Stimulationsprotokolle

Zunächst wurden die Herzen für 10 Minuten ohne pharmakologische Intervention perfundiert. Ab der elften Versuchsminute bis zum Versuchsende wurde kontinuierlich 0,1 $\mu\text{mol/l}$ Desipramin (DMI) zur KHL zugegeben, um die nicht-exozytotische Noradrenalinfreisetzung zu hemmen (*Schömig et al., 1984*). Nach einer weiteren Äquilibrierungsphase wurden zwei Stimulationen (S_1 , S_2) in vordefinierten Intervallen induziert. Medikamentöse Interventionen wurden 10 Minuten vor der zweiten Stimulation gestartet und dauerten bis zum Versuchsende an. Durch die Berechnung des jeweiligen S_2/S_1 -Quotienten war es möglich, die Noradrenalinfreisetzung bei Stimulation mit Medikamentengabe (S_2) individuell mit der Noradrenalinfreisetzung bei Stimulation ohne Medikamentengabe (S_1) zu vergleichen.

2.3.2. Normoxische Experimente

Nach einer zwanzigminütigen Äquilibrationsphase erfolgte in der 21. Versuchsminute die Stimulation des Herzens. Es wurden dabei vor, während und für zwei Minuten nach der Stimulation Effluatproben gesammelt. Anschließend wurde mit der Medikamentengabe begonnen, um nach 10 Minuten erneut zu stimulieren und Proben zu entnehmen (Abbildung 2). Als Medikamente wurden Carvedilol Racemat und seine Enantiomere R(+) und S(-) in den Konzentration 0,1; 0,5; 1; 2; 5 und 10 μ mol/l (jeweils Gruppen von n=3-10) getestet. Weiterhin wurden Atenolol und Celiprolol in der Konzentration von 1 μ mol/l (n=10 bzw. n=5) sowie Metoprolol und Bisoprolol in den Konzentrationen 0,1; 1 und 10 μ mol/l (n=4-10) untersucht. Zusätzlich wurde die Noradrenalinfreisetzung nach Gabe von 1 μ mol/l Prazosin (n=4), 10 μ mol/l B-HT 933 und 10 μ mol/l B-HT 933 & 1 μ mol/l Carvedilol R(+) (jeweils n=4) bestimmt. Die Reproduzierbarkeit der stimulationsinduzierten Noradrenalinfreisetzung wurde in Versuchen ohne pharmakologische Intervention unter normoxischen Bedingungen (n=19) untersucht (Abbildung 2). In den Perfusionsversuchen wurden bis zu vier Herzen gleichzeitig untersucht, wobei ein Herz als Kontrolle diente.

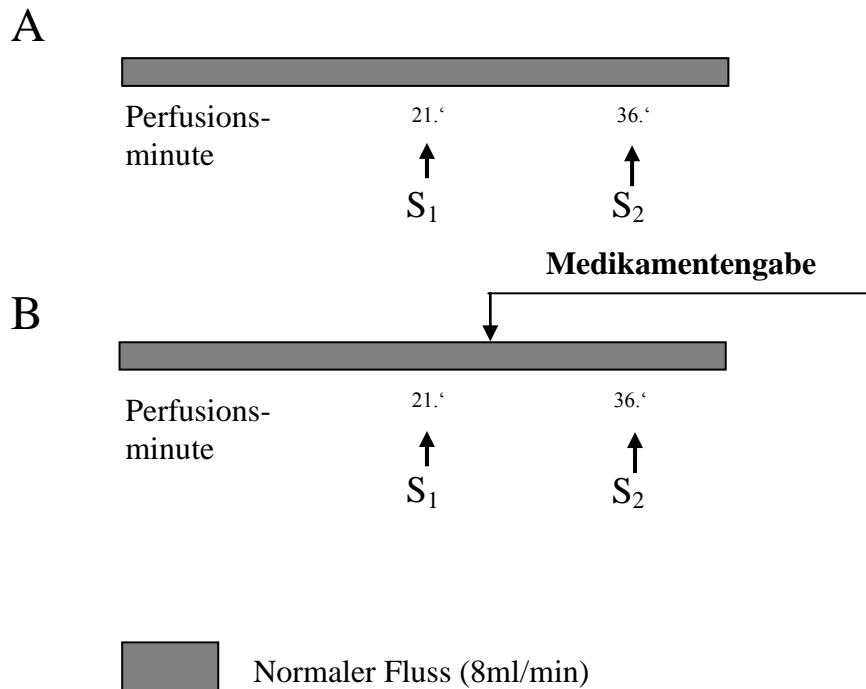


Abbildung 2. Normoxische Versuchsprotokolle. Durch zwei elektrische Feldstimulationen S₁ und S₂ wurde die Noradrenalinfreisetzung ausgelöst.

A: Normoxische Kontrollperfusion zur Reproduzierbarkeit der Noradrenalinfreisetzung ohne Medikamentengabe. **B:** Normoxische Perfusion mit Medikamentengabe ab der 25. Minute bis zum Versuchsende.

2.3.3. Ischämische Experimente

Eine globale *stop-flow* Ischämie wurde durch einen Perfusionsstopp für zwei bzw. vier Minuten im Anschluß an die Äquilibrationsphase erzeugt. In der letzten Minute dieser Ischämiephase erfolgte die erste Stimulation der Herzen (S₁). Nach der Ischämie wurden die Herzen mit normaler Flussrate (8ml/min) reperfundiert und anschließend eine zweite globale Myokardischämie für zwei bzw. vier Minuten induziert. Analog zur ersten Stimulation erfolgte eine zweite Stimulation (S₂) in der letzten Minute der Ischämie. Koronarvenöses Effluat wurde direkt vor und zwei Minuten nach der Ischämie gesammelt (Abbildung 3).

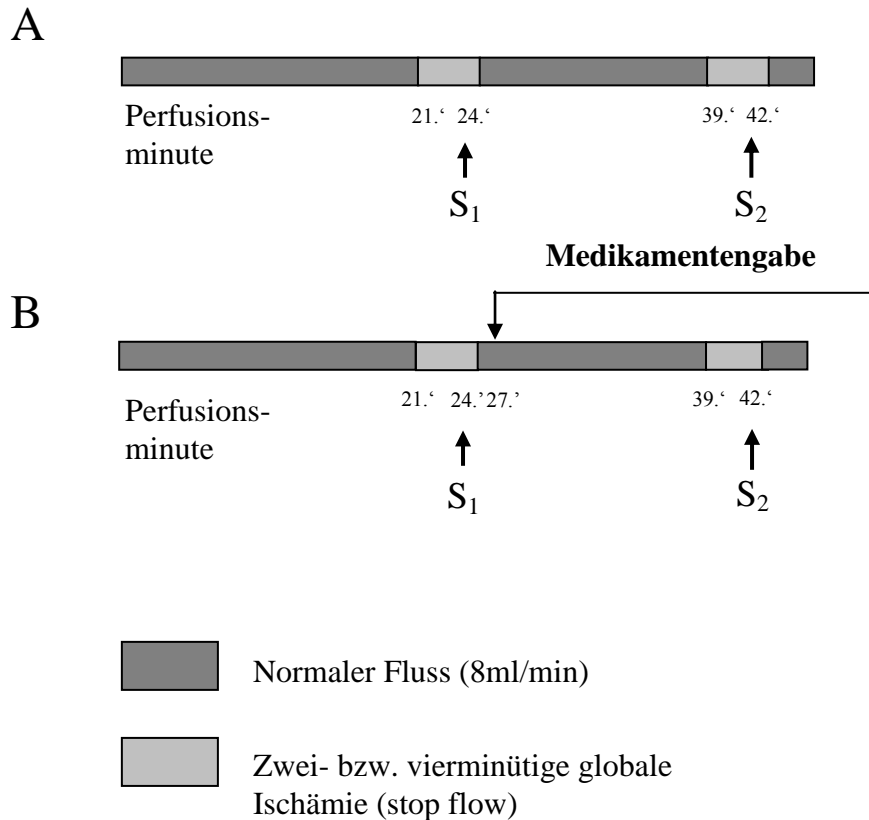


Abbildung 3. Ischämische Versuchsprotokolle. Die Noradrenalinfreisetzung wurde durch zwei elektrische Feldstimulationen S₁ und S₂ in der letzten Minute einer zwei- bzw. vierminütigen Ischämie ausgelöst.

A: Ischämische Kontrollperfusion zur Reproduzierbarkeit der Noradrenalinfreisetzung ohne Medikamentengabe. **B:** Ischämische Perfusion mit Medikamentengabe ab der 27. Minute bis zum Versuchsende.

Mit den folgenden Medikamenten wurde die Noradrenalinfreisetzung bei einer zweiminütigen Ischämie gemessen: Carvedilol Racemat, Carvedilol R(+), Carvedilol S(-), Atenolol, Metoprolol je in einer Konzentration von 1 µmol/l (n=4-8) und Bisoprolol (n=3) in einer Konzentration von 10 µmol/l.

Eine vierminütige Ischämie erfolgte mit folgenden Medikamenten: Carvedilol Racemat (0,1; 1; 10 µmol/l), Carvedilol R(+) (0,1; 0,5; 1; 2; 5; 10 µmol/l) und Carvedilol S(-) in einer Konzentration von 1 µmol/l (n=4-6 pro Gruppe). Andere Betablocker, die untersucht wurden,

waren Atenolol (1 μ mol/l), Metoprolol (0,1; 1; 10 μ mol/l) und Bisoprolol (0,1; 1; 10 μ mol/l) mit einer Anzahl von 4-11 untersuchten Herzen pro Gruppe. Die Noradrenalinfreisetzung unter Gabe des selektiven α_1 -Blocker Prazosin wurde bei einer Konzentration von 1 μ mol/l bestimmt. Als Kontrolle dienten ischämische Herzen, die ohne Medikamentengabe parallel perfundiert wurden (n=8).

2.3.4. Anoxische Experimente

Die Herzen wurden zunächst mit normoxischer KHL perfundiert. Während der Anoxieperiode erfolgte die Versorgung der Herzen mit glukose- und pyruvatfreier Tyrode unter Begasung mit einem Gemisch aus 95% Stickstoff und 5% Kohlendioxid. Durch Gabe von Natriumdithionit (Na₂O₄S₂) mit einer Endkonzentration von 1 mmol/l wurde der im System verbliebene Sauerstoff reduziert und damit auch der Energiestoffwechsel der Zellen blockiert. Das völlige Fehlen von Sauerstoff bei einem pO₂ < 1mmH in den Anoxieperioden wurde durch ein Oxymeter (Eschweiler, Kiel, Deutschland) dokumentiert. Eine Anoxieperiode dauerte jeweils vier Minuten an, wobei in der letzten Anoxieminute stimuliert wurde. Abnahmen erfolgten direkt vor der Anoxie, in der dritten und vierten Minute der Anoxie und für drei Minuten nach Beendigung der Anoxie. Im ersten Versuchsteil wurde analog zu den anderen Versuchen lediglich unter Anoxiebedingungen ohne Medikamentengabe stimuliert, im zweiten Versuchsteil unter Anoxiebedingungen mit Medikamentengabe. Kontrollversuche zur Noradrenalinfreisetzung unter Anoxiebedingungen ohne pharmakologische Intervention wurden absolviert (Abbildung 4). Unter anoxischen Bedingungen mit Substratmangel wurde Carvedilol R(+) in den Konzentrationen 1 μ mol/l (n=8) und 10 μ mol/l (n=4) getestet. Der α_2 -Adrenozeptor Antagonist Yohimbin wurde in einer Konzentration von 1 μ mol/l (n=4) untersucht. In einer weiteren Versuchsserie wurde Carvedilol R(+) unter Zugabe von Glucose (1 μ mol/l, n=8) bei anoxischen Bedingungen untersucht.

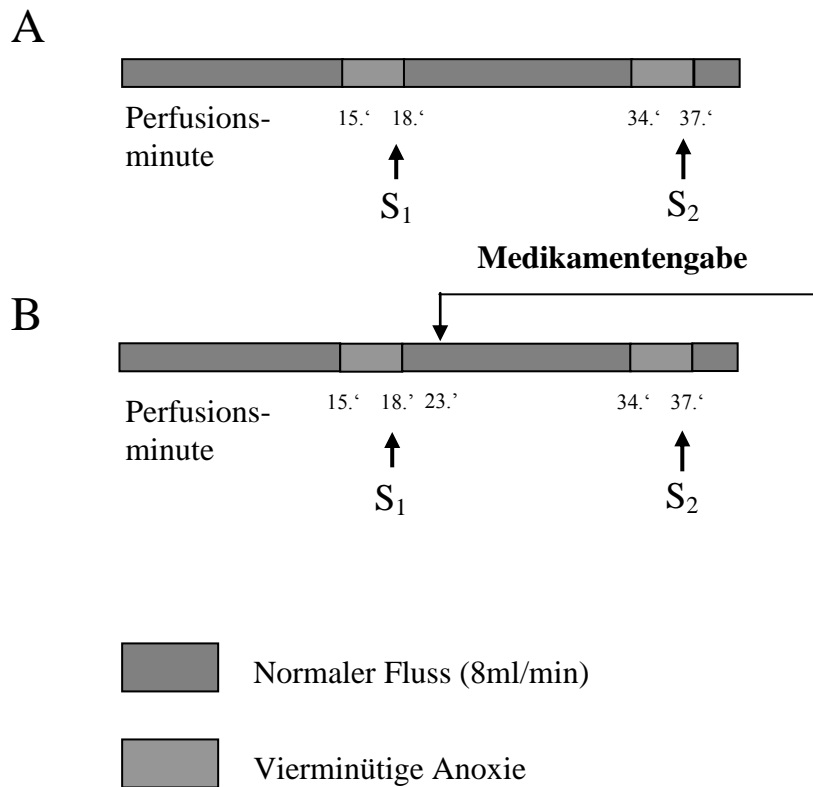


Abbildung 4. Anoxische Versuchsprotokolle. Die Noradrenalinfreisetzung wurde durch zwei elektrische Feldstimulationen S₁ und S₂ in der letzten Minute einer vierminütigen Anoxie ausgelöst.

A: Anoxische Kontrollperfusion zur Reproduzierbarkeit der Noradrenalinfreisetzung ohne Medikamentengabe. **B:** Anoxische Perfusion mit Medikamentengabe ab der 23. Minute bis zum Versuchsende.

2.4. Bestimmung von endogenem Noradrenalin

Dem koronarvenösen Effluat wurden Proben für die Bestimmung von Noradrenalin - je nach Versuchsprotokoll - vor, während und nach den Stimulationen entnommen, wobei zur Stabilisierung 300 µl Ethylendiamintetraacetatlösung (EDTA 0,3 M) in die Abnahmeröhrchen vorgelegt wurde. Die Proben wurden sofort auf einem vorgekühlten Metallblock tiefgefroren und bis zur Katecholaminextraktion bei -60° C aufbewahrt. Die Bestimmung von endogenem Noradrenalin (Smedes et al., 1982; modifiziert nach Schömig et al., 1987) erfolgte mit elektrochemischer Detektion über die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (high-pressure

liquid chromatography, HPLC; HPLC Autosampler 465 Kontron Instruments, Thermo Separation Products SpectraSeries P 100 Pumpe, Sample Injector Model 231 Gilson Abimed).

Ein externes Standardgemisch von Noradrenalin und DOPEG diente als Bezugspunkt für die in den Herzen endogen freigesetzten Katecholamine.

Zur Probenvorbereitung wurden 3 ml des tiefgefrorenen Effluates aufgetaut und mit 1 ml Ammoniumchlorid-Ammoniumhydroxid-Puffer ($\text{NH}_4\text{Cl-NH}_4\text{OH}$ -Puffer, 2 mol/l), der 0,2% Diphenylboratethylamin und 0,6% Natrium-EDTA enthielt, versetzt, und so auf einen pH-Wert von 8,5 eingestellt. Durch Zugabe von 5 ml 99% n-Hexan, 1% Octanol zusammen mit 0,25% Tetraoctylammoniumbromid waren nach 8-minütigem Schütteln die vorhandenen Katecholamine aus der wässrigen Phase extrahiert. Nachdem die Proben bei 2.000 RPM zentrifugiert (Rotanta 96 RC, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland) wurden, wurde die wässrige Phase bei -20°C abgefroren. Dadurch wurde die wässrige von der organischen Phase getrennt. Die nichtgefrorene Hexanphase wurde in einem nächsten Schritt mit 150 μl einer 0,2 molaren Phosphorsäure und 1 ml Octanol versetzt und erneut geschüttelt, um die Wiederfindung zu optimieren und um auch DOPEG in die wässrige Phase zu überführen. Durch fünfminütiges Zentrifugieren bei 4.500 RPM wurde die organische von der wässrigen Phase getrennt. Noradrenalin konnte durch die Ansäuerung der Probe mit Phosphorsäure in der wässrigen Phase gelöst werden. Die Phosphorsäurephase fand sich nach dem Zentrifugieren am Röhrchenboden, sodass etwa 100 μl mit einer Spritze aufgezogen und auf das HPLC-System zur Analyse aufgegeben werden konnten.

Die Auftrennung der Katecholamine erfolgte über eine C18-reversed-phase-Säule (LiChroCART® 125 mm x 4 mm, Merck, Deutschland) nach dem Gegenionen-Prinzip mit einem Laufmittelfluß von 0,8 ml/min. Als mobile Phase diente ein Phosphatpuffer (0,17 mol/l), der mit 50 $\mu\text{mol/l}$ Natrium-EDTA und 10 mmol/l Natriumchlorid versetzt war und durch Titration mit Natriumhydroxid auf einen pH-Wert von 3 eingestellt wurde. Als Gegenionen wurde 0,1 g Octylsulfat auf 100 ml Wasser angesetzt. Zur Optimierung der

Chromatographie konnte die Menge der Gegenionen (Octylsulfat) in der mobilen Phase variiert werden; diese lag im Bereich zwischen 0,50 ml/l und 0,67 ml/l. Zur quantitativen Analyse wurde eine elektrochemische Detektionselektrode (Waters 745 Data Module) bei einer Spannung von 0,65 V benutzt. Die Retentionszeit für Noradrenalin lag bei 2,9 min, die für DOPEG bei 3,6 min. Blindwerte und Standardproben mit bekannter NoradrenalinKonzentration wurden wie Versuchsproben analysiert. Die Nachweisgrenze für Noradrenalin lag bei 0,1 nmol/l und für DOPEG bei 0,2 nmol/l. Der Variationskoeffizient betrug 5,9% bzw. 5,8% und die Wiederfindungsrate betrug 98% bzw. 92%. Die bei den Versuchen verwendeten Pharmaka hatten keinen Einfluß auf die Extraktion, Trennung oder Detektion von Noradrenalin oder DOPEG.

2.5. Substanzen

2.5.1. Modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung (KHL)

Die modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung setzt sich folgendermaßen zusammen (mmol/l): NaCl 125; NaHCO₃ 16,9; Na₂HPO₄ 0,2; KCl 4; MgCl₂ 1; CaCl₂ 1,85; Glucose 11; EDTA 0,027.

2.5.2. Medikamente

Carvedilol Racemat, R(+) und S(-) wurden von Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Deutschland) bezogen. Atenolol, Metoprolol, Yohimbin, Desipramin HCl sowie Prazosin-Hydrochlorid wurden von Sigma (St. Louis, MO, U.S.A.) bezogen. Celiprolol wurde von Pharmacia & Upjohn GmbH (Erlangen, Deutschland), Bisoprolol von Merck (Darmstadt, Deutschland) sowie Natriumdithionit von Fluka (Neu-Ulm, Deutschland) bezogen. Heparin-Natrium wurde von Novo Nordisk Pharma (Mainz, Deutschland), B-HT 933 von RBI Research Biochemicals International (Natick, MA, U.S.A.) und Thiopental-Natrium als Trapanal® 0,5 g von Byk Gulden (Konstanz, Deutschland) bezogen.

Zum Teil mussten die in den Versuchen verwendeten Medikamente in Ethanol gelöst werden. Dessen Endkonzentration blieb kleiner als 0,05% und beeinflusste damit die Katecholaminfreisetzung nicht (Göthert und Thielecke, 1976). Bei dem Pharmakon Carvedilol musste die Stammlösung mit 1:5 verdünnter Essigsäure angesäuert werden, um eine vollständige Auflösung des Medikamentes zu garantieren. Um gleichwertige Versuchsbedingungen zu schaffen, wurde in dem medikamentenfreien Teil des Versuches die KHL ebenfalls gleich stark angesäuert. Durch Testversuche konnte sichergestellt werden, dass die Ansäuerung per se keinen Effekt auf die Noradrenalinfreisetzung hatte.

2.6. Berechnung und Statistik

Die Ergebnisse im Text und in den Abbildungen sind als arithmetische Mittelwerte \pm SEM (Standardabweichung des Mittelwertes) angegeben. Die freigesetzte Noradrenalinmenge wurde in pmol/g Herzgewicht berechnet. Aus der freigesetzten Noradrenalinmenge der ersten Stimulation (S_1) und der freigesetzten Noradrenalinmenge der zweiten Stimulation (S_2) wurde das Verhältnis S_2/S_1 errechnet und als geometrischer Mittelwert angegeben. Beim Vergleich von drei oder mehr Versuchsgruppen wurde die Varianzanalyse für unabhängige Daten (*one-way analysis of variance* [ANOVA]) und der post-hoc-Test nach Bonferroni verwendet. Vergleiche von zwei Versuchsgruppen wurden mit Hilfe des zweiseitig ungepaarten Student's t-Test durchgeführt, während die Bewertung der absoluten Noradrenalinfreisetzung (S_1 vs. S_2) innerhalb einer Versuchsgruppe anhand des zweiseitig gepaarten Student's t-Test erfolgte. Als signifikant galt jeweils ein p-Wert $< 0,05$, als hochsignifikant ein p-Wert $< 0,01$.

3. Ergebnisse

3.1. Noradrenalinfreisetzung in der Normoxie

Während der Äquilibrationsphase konnte keine Freisetzung von Noradrenalin gemessen werden ($< 0,1$ pmol/ml). Außerdem hatte keines der Medikamente in den verwendeten Konzentrationen einen messbaren Einfluss auf die Noradrenalinfreisetzung vor der Stimulation. Nach der Stimulation der Herzen kam es zu einer Noradrenalinakkumulation im koronarvenösen Effluat. In Kontrollexperimenten ohne pharmakologische Intervention und unter normoxischen Bedingungen konnte ein mittleres S_2/S_1 -Verhältnis von $0,99 \pm 0,03$ ($n=19$) ermittelt werden. Im folgenden sind die Ergebnisse der medikamentösen Beeinflussung der Noradrenalinfreisetzung durch die verschiedenen Pharmaka unter normoxischen Verhältnissen dargestellt.

3.1.1. Wirkung von Carvedilol und seiner Stereoisomere

In der Normoxie steigerten Carvedilol und seine Stereoisomere die Noradrenalinfreisetzung in einer glockenförmigen Konzentrationsabhängigkeit, wobei der maximale Effekt bei einer Konzentration von $1 \mu\text{mol/l}$ erreicht wurde (Abbildung 5).

Unter dem Einfluss von Carvedilol Racemat in den Konzentrationen $0,1$; $0,5$; 1 und $2 \mu\text{mol/l}$ kam es zu einer signifikanten Steigerung der Noradrenalin-Freisetzung mit einer glockenförmigen Konzentrations-Wirkungskurve ($0,1 \mu\text{mol/l}$: S_1 : 242 ± 19 pmol/g, S_2 : 267 ± 19 pmol/g, S_2/S_1 : $1,11 \pm 0,03$, $n=10$; $0,5 \mu\text{mol/l}$: S_1 : 188 ± 14 pmol/g, S_2 : 250 ± 16 pmol/g, S_2/S_1 : $1,34 \pm 0,04$, $n=4$; $1 \mu\text{mol/l}$: S_1 : 194 ± 23 pmol/g, S_2 : 300 ± 26 pmol/g, S_2/S_1 : $1,60 \pm 0,08$, $n=9$; $2 \mu\text{mol/l}$: S_1 : 255 ± 32 , S_2 : 359 ± 20 , S_2/S_1 : $1,45 \pm 0,11$, $n=4$).

Im Einzelnen wurden für das Stereoisomer Carvedilol R(+) folgende Ergebnisse erhoben: Bei einer Konzentration von $0,1 \mu\text{mol}$ kam es zu einer geringen Steigerung (S_1 : 282 ± 26 pmol/g,

S_2 : 302 ± 24 pmol/g, S_2/S_1 : $1,07 \pm 0,04$, $n=4$), bei $0,5 \mu\text{mol/l}$ zu einer signifikanten Steigerung (S_1 : 177 ± 26 pmol/g, S_2 : 260 ± 37 pmol/g, S_2/S_1 : $1,48 \pm 0,09$, $n=3$), bei Konzentrationen von $1 \mu\text{mol/l}$ zu einer hochsignifikanten ($p < 0,01$) Steigerung (S_1 : 233 ± 38 pmol/g, S_2 : 391 ± 39 pmol/g, S_2/S_1 : $1,78 \pm 0,19$, $n=5$ und bei $2 \mu\text{mol/l}$ zu einer geringeren aber ebenfalls signifikanten Steigerung (S_1 : 266 ± 18 pmol/g, S_2 : 311 ± 32 pmol/g, S_2/S_1 : $1,37 \pm 0,06$, $n=4$).

Auch bei dem Stereoisomer Carvedilol S(-) konnte eine konzentrationsabhängige Steigerung beobachtet werden ($0,1 \mu\text{mol/l}$: S_1 : 219 ± 11 pmol/g, S_2 : 224 ± 15 pmol/g, S_2/S_1 : $1,02 \pm 0,03$, $n=5$; $0,5 \mu\text{mol/l}$: S_1 : 166 ± 33 pmol/g, S_2 : 187 ± 31 pmol/g, S_2/S_1 : $1,15 \pm 0,04$, $n=3$; $1 \mu\text{mol/l}$: S_1 : 272 ± 28 pmol/g, S_2 : 375 ± 31 pmol/g, S_2/S_1 : $1,40 \pm 0,09$, $n=6$; $2 \mu\text{mol/l}$: S_1 : 304 ± 27 pmol/g, S_2 : 345 ± 38 pmol/g, S_2/S_1 : $1,13 \pm 0,04$, $n=4$), wobei bei den Konzentrationen von $0,5 \mu\text{mol/l}$ und $1 \mu\text{mol/l}$ eine hohe Signifikanz festgestellt werden konnte. Obwohl beide Enantiomere den maximalen Anstieg der Noradrenalinfreisetzung bei einer Konzentration von $1 \mu\text{mol/l}$ bewirkten, war Carvedilol R(+) effektiver als Carvedilol S(-). Bei Konzentrationen des Racemats und der Stereoisomere über $2 \mu\text{mol/l}$ wurde die Noradrenalinfreisetzung stets deutlich geringer. Bei den Konzentrationen 5 und $10 \mu\text{mol/l}$ kam es dann zu einer signifikanten Hemmung der Noradrenalinfreisetzung. Dabei ergaben sich folgende Werte: Carvedilol Racemat $5 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 262 ± 26 pmol/g, S_2 : 93 ± 12 pmol/g, S_2/S_1 : $0,36 \pm 0,04$, $n=4$ und $10 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 265 ± 25 pmol/g, S_2 : 26 ± 3 pmol/g, S_2/S_1 : $0,10 \pm 0,01$, $n=10$; Carvedilol R(+) $5 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 179 ± 29 pmol/g, S_2 : 106 ± 20 pmol/g, S_2/S_1 : $0,59 \pm 0,07$, $n=4$ und $10 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 230 ± 40 pmol/g, S_2 : 25 ± 8 pmol/g, S_2/S_1 : $0,11 \pm 0,03$, $n=4$; Carvedilol S(-) $5 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 285 ± 35 pmol/g, S_2 : 84 ± 17 pmol/g, S_2/S_1 : $0,30 \pm 0,07$, $n=4$ und $10 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 278 ± 5 pmol/g, S_2 : 18 ± 2 pmol/g, S_2/S_1 : $0,07 \pm 0,01$, $n=4$ (Abb. 5).

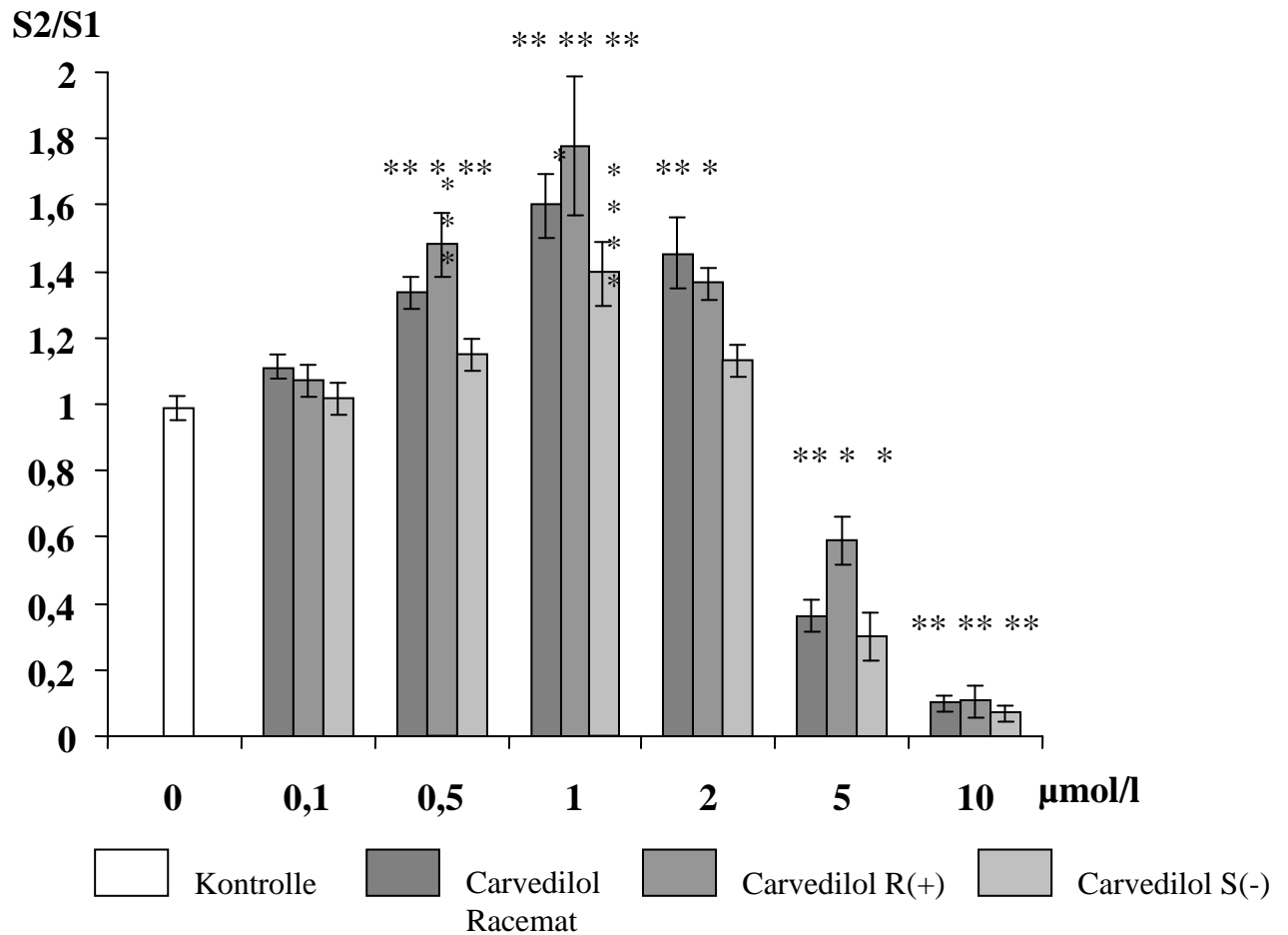


Abbildung 5. Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Carvedilol und seiner Stereoisomere.

Wirkung von Carvedilol und seiner Stereoisomere auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im nicht-ischämischen Rattenherzen. Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S₁) und nach (S₂) Medikamentengabe ausgelöst. Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S₂/S₁-Quotienten ± SEM, n= 3-10 je Gruppe, *p< 0,05 vs. S₁; ** p< 0,01 vs. S₁

3.1.2. Wirkung anderer β -Blocker

In weiteren Versuchen wurde die Noradrenalinfreisetzung unter Pindolol, Atenolol, Celiprolol, Metoprolol und Bisoprolol bei jeweils 1 $\mu\text{mol/l}$ untersucht, um eine mögliche Sonderstellung von Carvedilol in der Gruppe der β -Blocker zu prüfen. Bei keinem der verwendeten β -Blocker kam es zu einer dem Carvedilol entsprechenden Beeinflussung der Noradrenalinfreisetzung (Abbildung 6). Die Ergebnisse der Substanzen für die Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ waren im Einzelnen: Pindolol S_1 : 159 ± 17 pmol/g, S_2 : 172 ± 16 pmol/g, S_2/S_1 : $1,11 \pm 0,06$, $n=11$; Atenolol S_1 : 189 ± 24 pmol/g, S_2 : 115 ± 16 pmol/g, S_2/S_1 : $0,91 \pm 0,04$, $n=9$; Celiprolol S_1 : 229 ± 16 pmol/g, S_2 : 211 ± 19 pmol/g, S_2/S_1 : $0,92 \pm 0,04$, $n=5$; Metoprolol S_1 : 217 ± 34 pmol/g, S_2 : 197 ± 36 pmol/g, S_2/S_1 : $0,92 \pm 0,10$, $n=6$ und Bisoprolol S_1 : 107 ± 13 pmol/g, S_2 : 108 ± 9 pmol/g, S_2/S_1 : $1,03 \pm 0,07$, $n=6$ (Abbildung 6).

Für Pindolol, Metoprolol und Bisoprolol wurden außerdem Versuche mit den Konzentrationen 0,1 $\mu\text{mol/l}$ und 10 $\mu\text{mol/l}$ durchgeführt. Es war zu erkennen, dass Bisoprolol in niedriger Konzentration (0,1 $\mu\text{mol/l}$) (S_1 : 134 ± 15 pmol/g, S_2 : 135 ± 19 pmol/g, S_2/S_1 : $0,99 \pm 0,05$, $n=6$) keinen Effekt zeigte, während in der höheren Konzentration (10 $\mu\text{mol/l}$) (S_1 : 277 ± 43 pmol/g, S_2 : 227 ± 30 pmol/g, S_2/S_1 : $0,83 \pm 0,04$, $n=4$) eine geringe Senkung der Noradrenalinfreisetzung gefunden wurde ($p=0,043$). Das Medikament Pindolol zeigte weder in der niedrigen (S_1 : 106 ± 11 pmol/g, S_2 : 122 ± 13 pmol/g, S_2/S_1 : $1,15 \pm 0,02$, $n=5$) noch in der höheren Konzentration (S_1 : 114 ± 12 pmol/g, S_2 : 140 ± 16 pmol/g, S_2/S_1 : $1,24 \pm 0,07$, $n=6$) einen signifikanten Einfluss. Bei dem Medikament Metoprolol wurde bei einer Konzentration von 0,1 $\mu\text{mol/l}$ keine Beeinflussung (S_1 : 177 ± 19 pmol/g, S_2 : 163 ± 12 pmol/g, S_2/S_1 : $0,94 \pm 0,08$, $n=6$), jedoch bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ eine signifikante Hemmung der Noradrenalinfreisetzung festgestellt (S_1 : 240 ± 33 pmol/g, S_2 : 181 ± 15 pmol/g, S_2/S_1 : $0,77 \pm 0,05$, $n=4$).

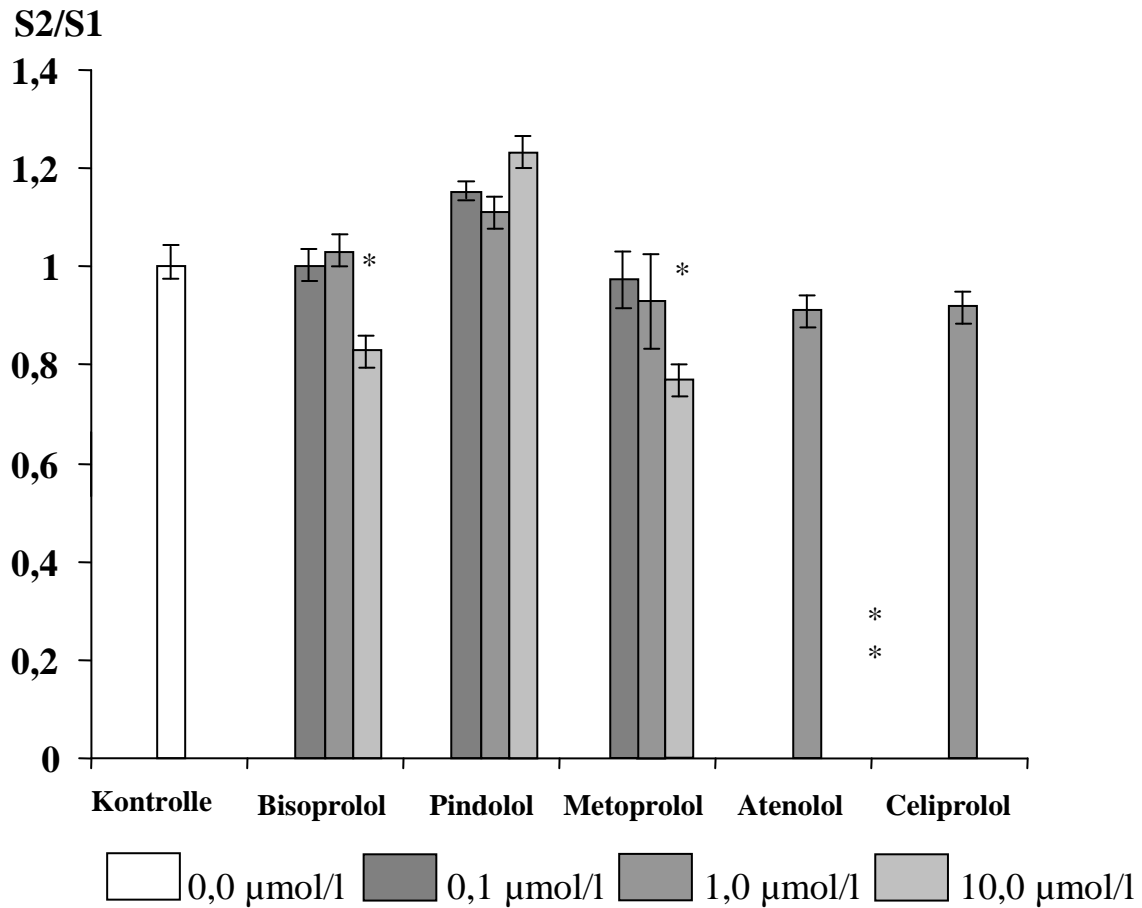


Abbildung 6. Konzentrations-Wirkungs-Kurven anderer β -Blocker.

Wirkung von anderen β -Blockern in verschiedenen Konzentrationen auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im nicht-ischämischen Rattenherzen. Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S_1) und nach (S_2) Medikamentengabe ausgelöst. Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S_2/S_1 -Quotienten \pm SEM, $n= 4-11$ je Gruppe, * $p < 0,05$ vs. S_1 ; ** $p < 0,01$ vs. S_1

3.1.3. Wirkung von Prazosin und B-HT 933

Zur weiteren Charakterisierung eines potentiellen Wirkmechanismus von Carvedilol auf die kardiale Noradrenalinfreisetzung über dessen α -Adrenozeptoren-blockierende Eigenschaften wurden Versuche mit Prazosin und B-HT 933 durchgeführt.

Prazosin ist ein α -Adrenozeptorenblocker, der selektive Affinität zu postsynaptischen α_1 -Rezeptoren besitzt (*Doxey et al., 1977; Davey, 1980*). Bei einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ wurde eine hochsignifikante Steigerung der Noradrenalinfreisetzung gefunden (S_1 : 211 ± 30 pmol/g, S_2 : 380 ± 50 pmol/g, S_2/S_1 : $1,81 \pm 0,06$, $n=4$). B-HT 933, ein α -Agonist, senkte bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ signifikant die Freisetzung auf ein Verhältnis von (S_1 : 263 ± 28 pmol/g, S_2 : 209 ± 26 pmol/g, S_2/S_1 : $0,81 \pm 0,10$, $n=4$). Der hemmende Effekt von B-HT 933 auf die Noradrenalinfreisetzung war bei gleichzeitiger Gabe von 1 $\mu\text{mol/l}$ Carvedilol R(+) aufgehoben, und es zeigte sich eine hochsignifikante Steigerung der Noradrenalinfreisetzung (S_1 : 275 ± 50 pmol/g, S_2 : 409 ± 46 pmol/g, S_2/S_1 : $1,55 \pm 0,12$, $n=4$), (Abbildung 7).

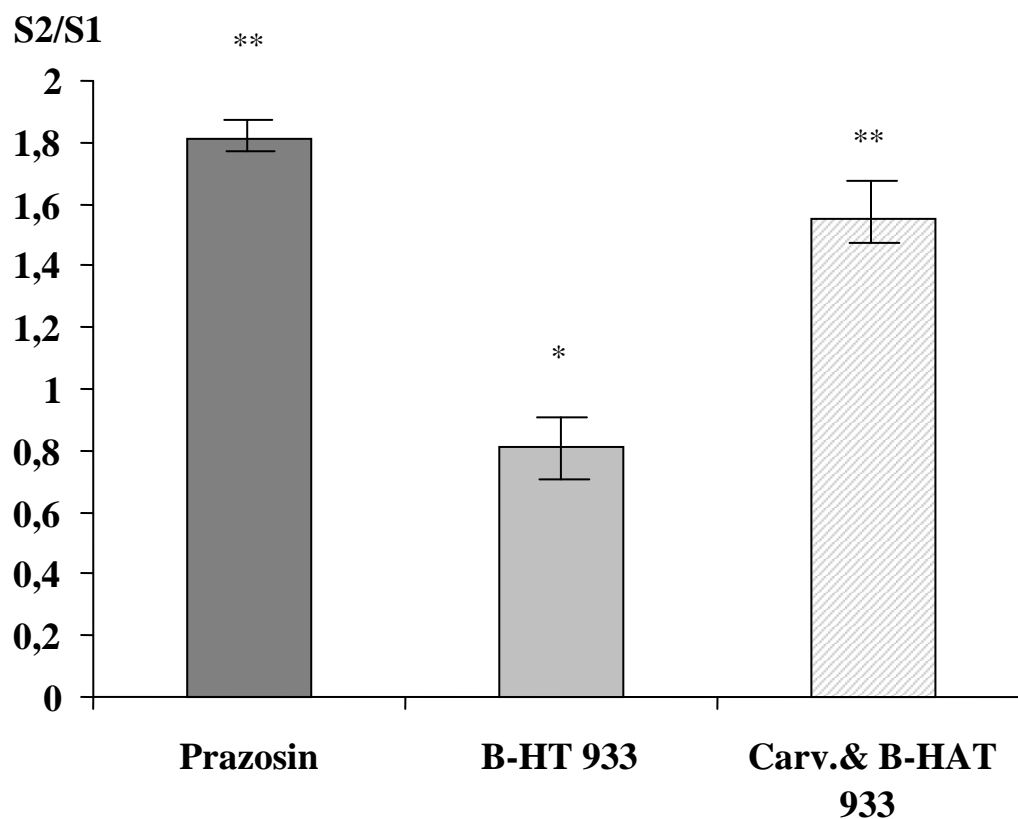


Abbildung 7. Wirkung von Prazosin, B-HT 933 und der Kombination von B-HT 933 mit Carvedilol R(+)

Wirkung von Prazosin (1 $\mu\text{mol/l}$), B-HT (10 $\mu\text{mol/l}$) und der Kombination von B-HT 933 (10 $\mu\text{mol/l}$) mit Carvedilol R(+) (1 $\mu\text{mol/l}$) in den in Klammern angegebenen Konzentrationen auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im nicht-ischämischen Rattenherzen. Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S₁) und nach (S₂) Medikamentengabe ausgelöst. Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S₂/S₁-Quotienten \pm SEM, n= 4 je Gruppe, *p< 0,05 vs. S₁; ** p< 0,01 vs. S₁

3.1.4. Wirkung von Yohimbin

Yohimbin, ein selektiver α_2 -Adrenozeptorantagonist, wurde verwendet, um zu überprüfen, ob die Steigerung der exozytotischen Noradrenalinfreisetzung durch Carvedilol eine Konsequenz einer präsynaptischen α_2 -Adrenozeptorblockade ist.

Es wurde zunächst eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Yohimbin erstellt. Dabei kam es zu den folgenden Ergebnissen. Bei einer Konzentration von 0,01 $\mu\text{mol/l}$ wurde die Freisetzung leicht auf ein Verhältnis von (S_1 : 487 ± 137 pmol/g, S_2 : 411 ± 129 pmol/g) S_2/S_1 : $0,89 \pm 0,14$ ($n=4$) gesenkt. Versuche bei einer Konzentration von 0,1 $\mu\text{mol/l}$ zeigten folgende Ergebnisse S_1 : 534 ± 52 pmol/g, S_2 : 591 ± 50 pmol/g, S_2/S_1 : $1,11 \pm 0,02$ ($n=4$). Bei einer Konzentration von 0,5 $\mu\text{mol/l}$ konnte eine hochsignifikante Steigerung der Noradrenalinfreisetzung festgestellt werden (S_1 : 346 ± 23 pmol/g, S_2 : 705 ± 39 pmol/g, S_2/S_1 : $2,06 \pm 0,09$, $n=6$), die sich bei einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ noch erhöhte (S_1 : 241 ± 20 pmol/g, S_2 : 598 ± 59 pmol/g, S_2/S_1 : $2,48 \pm 0,15$, $n=6$). Die Noradrenalinfreisetzung wurde bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ hochsignifikant gesenkt (S_1 : 502 ± 23 pmol/g, S_2 : 101 ± 5 pmol/g, S_2/S_1 : $0,20 \pm 0,01$, $n=4$). Um die Frage zu beantworten, ob Carvedilol und Yohimbin additive, d.h. unabhängige Effekte auf die Noradrenalinfreisetzung haben, wurden die beiden Medikamente kombiniert (0,5 $\mu\text{mol/l}$ Yohimbin und 0,5 $\mu\text{mol/l}$ Carvedilol R(+)). Dabei kam es zu folgendem hochsignifikanten Ergebnis: (S_1 : 338 ± 24 pmol/g, S_2 : 601 ± 66 pmol/g) S_2/S_1 : $1,78 \pm 0,18$ ($n=5$). Damit konnte dargelegt werden, daß Carvedilol und Yohimbin keine additiven Effekte, sondern einen gemeinsamen präsynaptischen Angriffspunkt – den α_2 -Rezeptor - haben. In der Abbildung 8 sind die beschriebenen Versuchsdaten dargestellt.

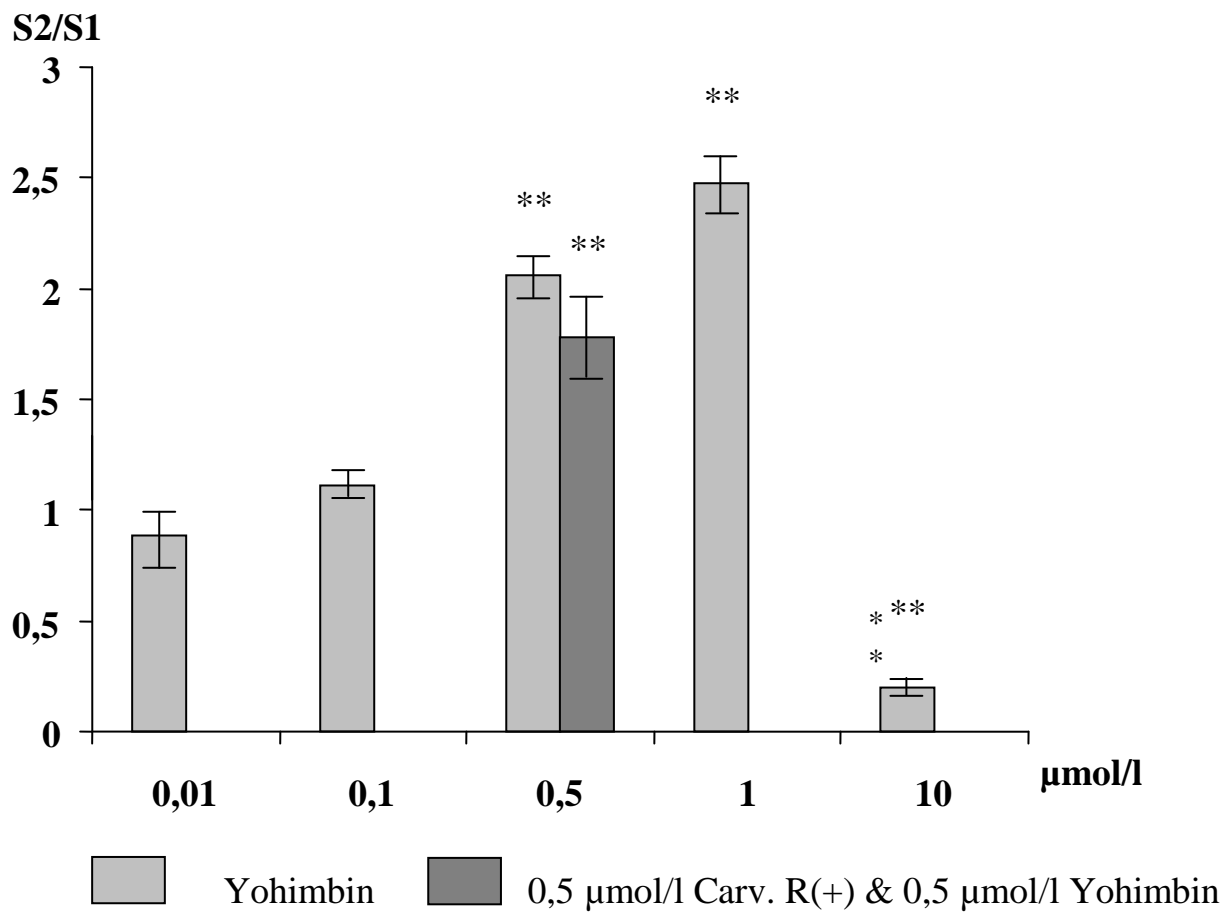


Abbildung 8. Konzentrations-Wirkungs-Kurve des α_2 -Adrenozeptorblockers Yohimbin (graue Balken). Wirkung von Yohimbin in verschiedenen Konzentrationen auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im nicht-ischämischen Rattenherzen. Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S_1) und nach (S_2) Medikamentengabe ausgelöst. Der dunkle Balken zeigt die Noradrenalinfreisetzung bei Kombination von 0,5 µmol/l Yohimbin und 0,5 µmol/l Carvedilol R(+). Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S_2/S_1 -Quotienten \pm SEM, n= 4-8 je Gruppe, *p< 0,05 vs. S_1 ; **p< 0,01 vs. S_1

3.2. Noradrenalinfreisetzung in der Ischämie

In Kontrollversuchen konnte gezeigt werden, dass während der Äquilibrationsphase keine Freisetzung von endogenem Noradrenalin erfolgte. Keines der verwendeten Medikamente bewirkte vor der Stimulation eine Noradrenalinfreisetzung. In Kontrollversuchen ohne pharmakologische Intervention wurde ein mittleres S_2/S_1 -Verhältnis von $0,98 \pm 0,03$ (S_1 : 125 ± 14 pmol/g, S_2 : 125 ± 17 pmol/g, n=8) für eine zweiminütige Ischämie und ein mittleres S_2/S_1 -Verhältnis von $1,00 \pm 0,08$ (S_1 : 154 ± 24 pmol/g, S_2 : 148 ± 19 pmol/g, n=8) für eine vierminütige Ischämiezeit ermittelt.

Im folgenden sind die Ergebnisse bei verschiedenen pharmakologischen Interventionen für Ischämiezeiten von zwei bzw. vier Minuten dargestellt.

3.2.1. Wirkung von Carvedilol und seiner Stereoisomere

Carvedilol und seine Stereoisomere zeigten bei einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ und zweiminütiger Ischämie folgende Ergebnisse: Carvedilol R (+) steigerte leicht die Noradrenalinfreisetzung (S_1 : 123 ± 11 pmol/g, S_2 : 146 ± 9 pmol/g, S_2/S_1 : $1,22 \pm 0,09$, n=6), während es bei Carvedilol Racemat (S_1 : 145 ± 6 pmol/g, S_2 : 134 ± 10 pmol/g, S_2/S_1 : $0,93 \pm 0,06$, n=6) und Carvedilol S(-) (S_1 : 134 ± 16 pmol/g, S_2 : 99 ± 16 pmol/g, S_2/S_1 : $0,76 \pm 0,08$, n=7) zu einer Senkung kam. Diese Senkung war bei Carvedilol S(-) signifikant (Abb.9).

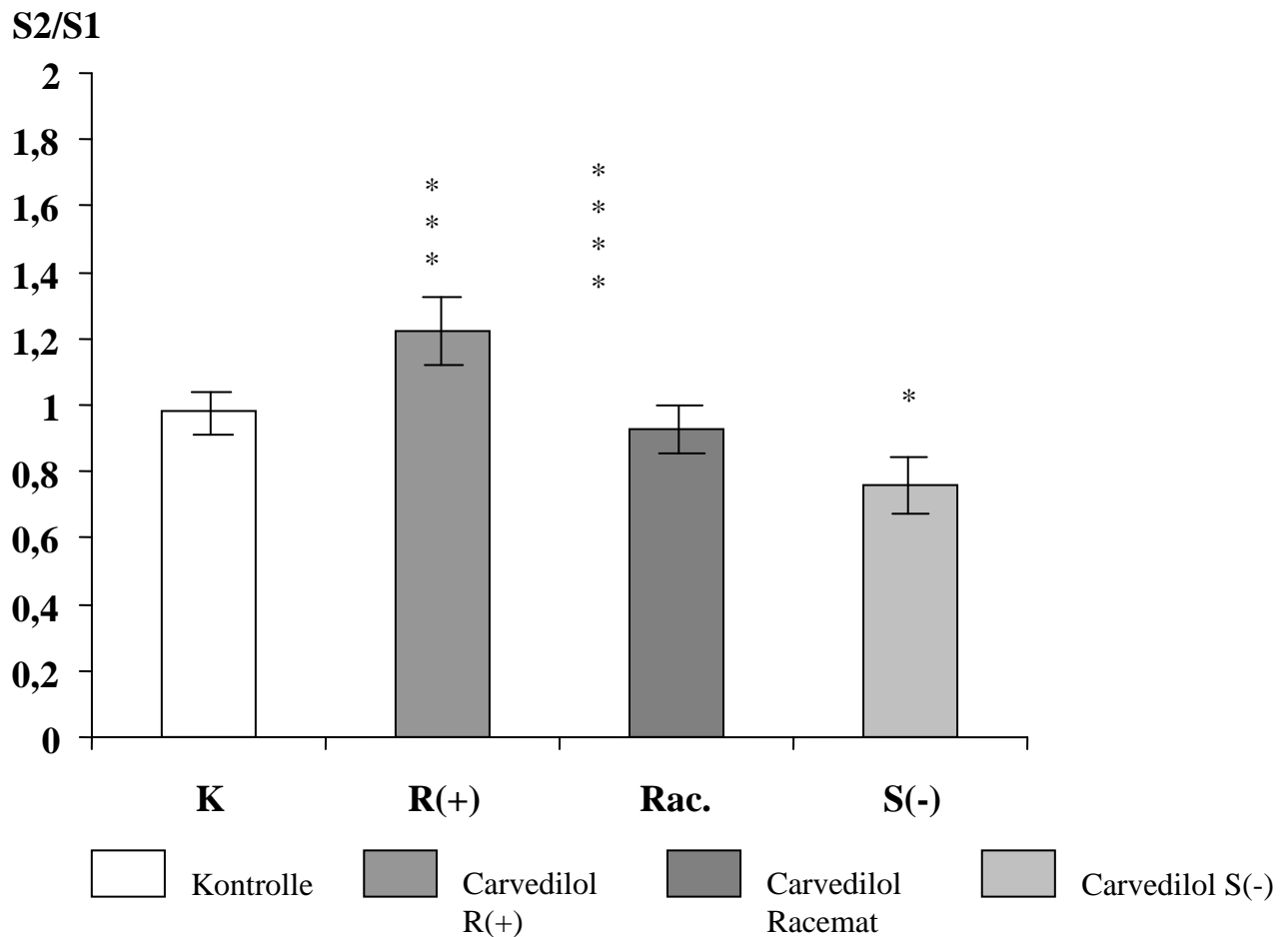


Abbildung 9. Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Carvedilol und seiner Stereoisomere in einer zweiminütigen Ischämie.

Wirkung von Carvedilol und seiner Stereoisomere in verschiedenen Konzentrationen auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im ischämischen Rattenherzen (n=6-7 je Gruppe). Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S₁) und nach (S₂) Medikamentengabe ausgelöst. Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S₂/S₁-Quotienten ± SEM, *p< 0,05 vs. S₁; ** p< 0,01 vs. S₁

Bei einer Ischämiedauer von vier Minuten wurde eine Abnahme der Noradrenalinausschüttung mit steigender Konzentration von Carvedilol gefunden. Bei einer Konzentration von 0,1 µmol/l Carvedilol R(+) betrug das S₂/S₁-Verhältnis 0,99 ± 0,04 (S₁: 113 ± 7 pmol/g, S₂: 112 ± 10 pmol/g, n=6) und bei einer Konzentration von 0,5 µmol/l S₂/S₁ 1,05 ± 0,07 (S₁: 81 ± 12 pmol/g, S₂: 82 ± 9 pmol/g, n=4). Eine signifikante Hemmung konnte

bei einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ Carvedilol R(+) mit einem S_2/S_1 -Verhältnis von $0,81 \pm 0,10$ (S_1 : 106 ± 8 pmol/g, S_2 : 84 ± 10 pmol/g, $n=6$) gefunden werden. Hoch signifikant waren die Hemmungen der Noradrenalinfreisetzung in den Konzentrationen 2 $\mu\text{mol/l}$ Carvedilol R(+) (S_1 : 117 ± 15 pmol/g, S_2 : 56 ± 9 pmol/g, S_2/S_1 : $0,48 \pm 0,05$, $n=6$), 5 $\mu\text{mol/l}$ Carvedilol R(+) (S_1 : 103 ± 9 pmol/g, S_2 : 27 ± 2 pmol/g, S_2/S_1 : $0,26 \pm 0,01$, $n=5$) und 10 $\mu\text{mol/l}$ Carvedilol R(+) (S_1 : 51 ± 11 pmol/g, S_2 : 4 ± 0 pmol/g, S_2/S_1 : $0,08 \pm 0,02$, $n=4$) (Abbildung 10).

Weiterhin wurden Carvedilol Racemat in den Konzentrationen 0,1 $\mu\text{mol/l}$ (S_1 : 68 ± 18 pmol/g, S_2 : 74 ± 15 pmol/g, S_2/S_1 : $1,14 \pm 0,07$, $n=4$), 1 $\mu\text{mol/l}$ (S_1 : 102 ± 9 pmol/g, S_2 : 83 ± 7 pmol/g, S_2/S_1 : $0,83 \pm 0,07$, $n=5$) und 10 $\mu\text{mol/l}$ (S_1 : 59 ± 18 pmol/g, S_2 : 26 ± 5 pmol/g, S_2/S_1 : $0,48 \pm 0,10$, $n=6$) sowie Carvedilol S(-) in der Konzentration 1 $\mu\text{mol/l}$ (S_1 : 119 ± 11 pmol/g, S_2 : 70 ± 6 pmol/g, S_2/S_1 : $0,60 \pm 0,06$, $n=6$) getestet (Abbildung 10). Hierbei waren die Daten von Carvedilol Racemat in der Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ signifikant und von Carvedilol S(-) in der Konzentration 1 $\mu\text{mol/l}$ hochsignifikant.

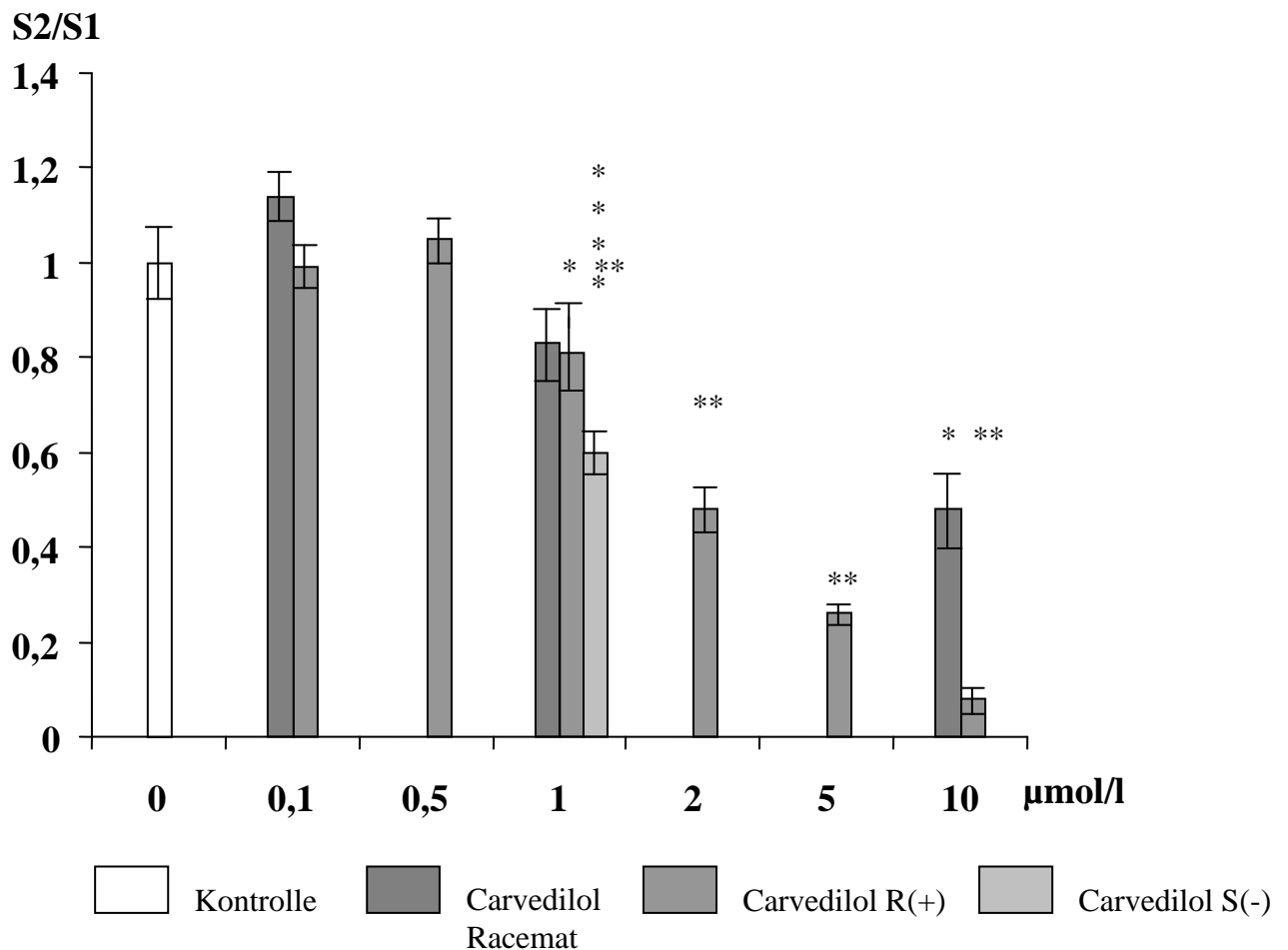


Abbildung 10. Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Carvedilol und seiner Stereoisomere in einer vierminütigen Ischämie.

Wirkung von Carvedilol und seiner Stereoisomere in verschiedenen Konzentrationen auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im ischämischen Rattenherzen. Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S_1) und nach (S_2) Medikamentengabe ausgelöst. Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S_2/S_1 -Quotienten \pm SEM, $n=4-6$ je Gruppe, * $p < 0,05$ vs. S_1 ; ** $p < 0,01$ vs. S_1

3.2.2. Wirkung anderer β -Blocker

Um die Wirkung der bereits unter normoxischen Bedingungen untersuchten β -Blocker auch in der Ischämie beurteilen zu können, wurden diese dem selben Versuchsprotokoll wie Carvedilol und seiner Stereoisomeren (Abbildung 3) unterzogen.

In einer vierminütigen Ischämiephase konnten keine signifikanten Effekte der β -Blocker auf die Noradrenalinfreisetzung festgestellt werden. Für Atenolol ($1\mu\text{mol/l}$) wurde ein S_2/S_1 -

Verhältnis von $1,09 \pm 0,04$ (S_1 : 97 ± 5 pmol/g, S_2 : 107 ± 9 pmol/g, $n=8$) und für Celiprolol ($1 \mu\text{mol/l}$) ein S_2/S_1 -Verhältnis von $1,09 \pm 0,14$ (S_1 : 73 ± 12 pmol/g, S_2 : 75 ± 8 pmol/g, $n=5$) ermittelt. Pindolol, Metoprolol und Bisoprolol wurden jeweils in den Konzentrationen $0,1 \mu\text{mol/l}$, $1 \mu\text{mol/l}$ und $10 \mu\text{mol/l}$ getestet. Für Pindolol konnten folgende Ergebnisse ermittelt werden: In der Konzentration $0,1 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 36 ± 3 pmol/g, S_2 : 39 ± 5 pmol/g, S_2/S_1 : $1,08 \pm 0,07$, $n=4$, in der Konzentration $1 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 38 ± 3 pmol/g, S_2 : 46 ± 3 pmol/g, S_2/S_1 : $1,17 \pm 0,01$, $n=6$ und in der Konzentration $10 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 38 ± 5 pmol/g, S_2 : 38 ± 4 pmol/g, S_2/S_1 : $1,00 \pm 0,12$, $n=4$. Bei dem Medikament Metoprolol kam es zu den folgenden Ergebnissen: In der Konzentration $0,1 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 92 ± 12 pmol/g, S_2 : 99 ± 18 pmol/g, S_2/S_1 : $1,14 \pm 0,21$, $n=5$, in der Konzentration $1 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 106 ± 14 pmol/g, S_2 : 101 ± 8 pmol/g, S_2/S_1 : $0,99 \pm 0,08$, $n=5$ und in der Konzentration $10 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 82 ± 18 pmol/g, S_2 : 73 ± 9 pmol/g, S_2/S_1 : $0,97 \pm 0,15$, $n=4$. Für Bisoprolol wurden ebenfalls keine signifikanten Veränderungen in der Noradrenalinfreisetzung gefunden. Folgende Werte wurden hierbei ermittelt: In der Konzentration $0,1 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 72 ± 7 pmol/g, S_2 : 78 ± 6 pmol/g, S_2/S_1 : $1,08 \pm 0,05$, $n=6$, in der Konzentration $1 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 59 ± 6 pmol/g, S_2 : 49 ± 4 pmol/g, S_2/S_1 : $0,85 \pm 0,06$, $n=8$ und in der Konzentration $10 \mu\text{mol/l}$ S_1 : 56 ± 7 pmol/g, S_2 : 53 ± 4 pmol/g, S_2/S_1 : $1,05 \pm 0,16$, $n=7$ (Abbildung 11).

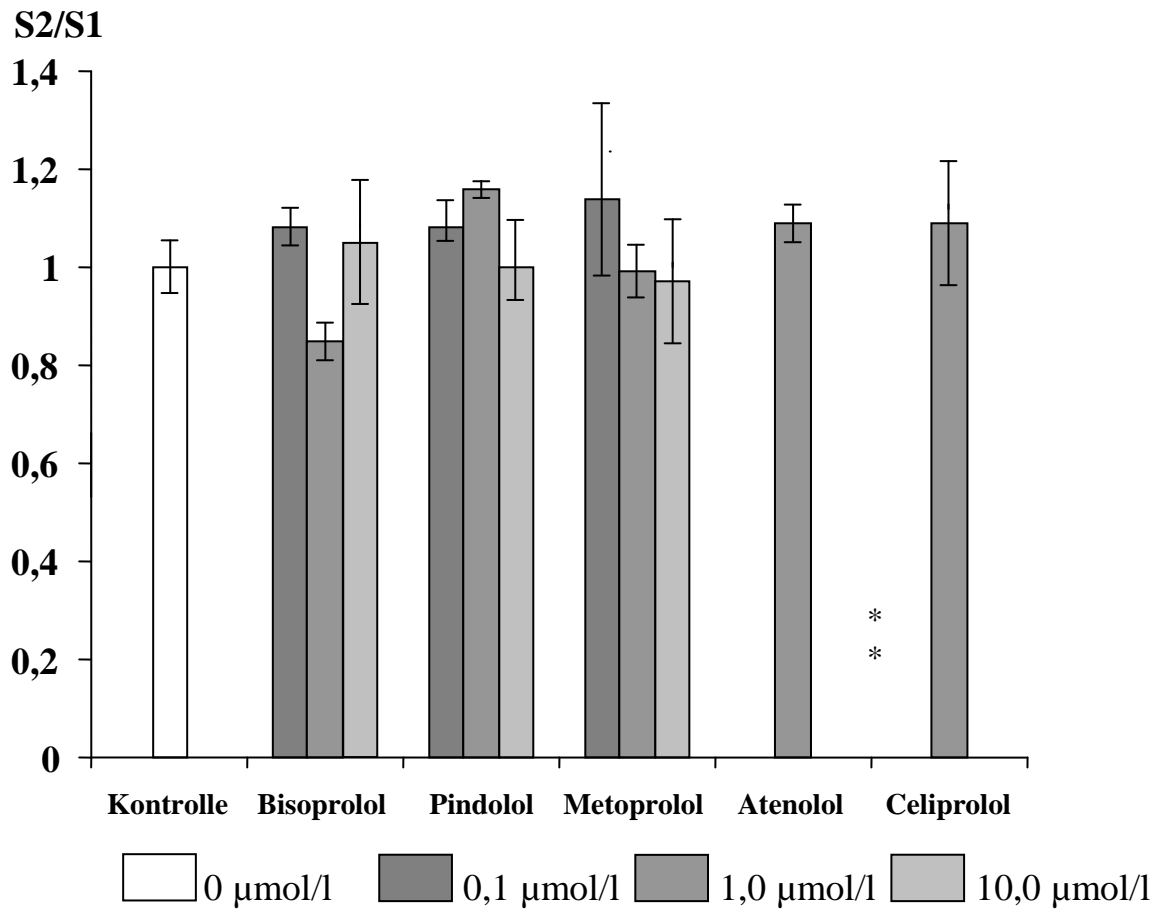


Abbildung 11. Konzentrations-Wirkungs-Kurven anderer β -Blocker in einer vierminütigen Ischämie.

Wirkung von anderen β -Blockern in verschiedenen Konzentrationen auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im ischämischen Rattenherzen. Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S_1) und nach (S_2) Medikamentengabe ausgelöst. Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S_2/S_1 -Quotienten \pm SEM, $n=4-8$ je Gruppe, * $p < 0,05$ vs. S_1 ; ** $p < 0,01$ vs. S_1

3.2.3. Wirkung von Prazosin und B-HT 933

Prazosin steigerte die Noradrenalinfreisetzung in einer Konzentration von $1 \mu\text{mol/l}$ bei vier Minuten Ischämie ähnlich wie in der Normoxie auf einen Wert von $S_2/S_1: 2,10 \pm 0,85$ ($S_1: 84 \pm 34 \text{ pmol/g}$, $S_2: 180 \pm 88 \text{ pmol/g}$, $n=3$).

B-HT 933 steigerte die Noradrenalinfreisetzung hochsignifikant in einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ (S_1 : 89 ± 12 pmol/g, S_2 : 125 ± 10 pmol/g, S_2/S_1 : $1,64 \pm 0,31$, $n=8$) (Abbildung 12).

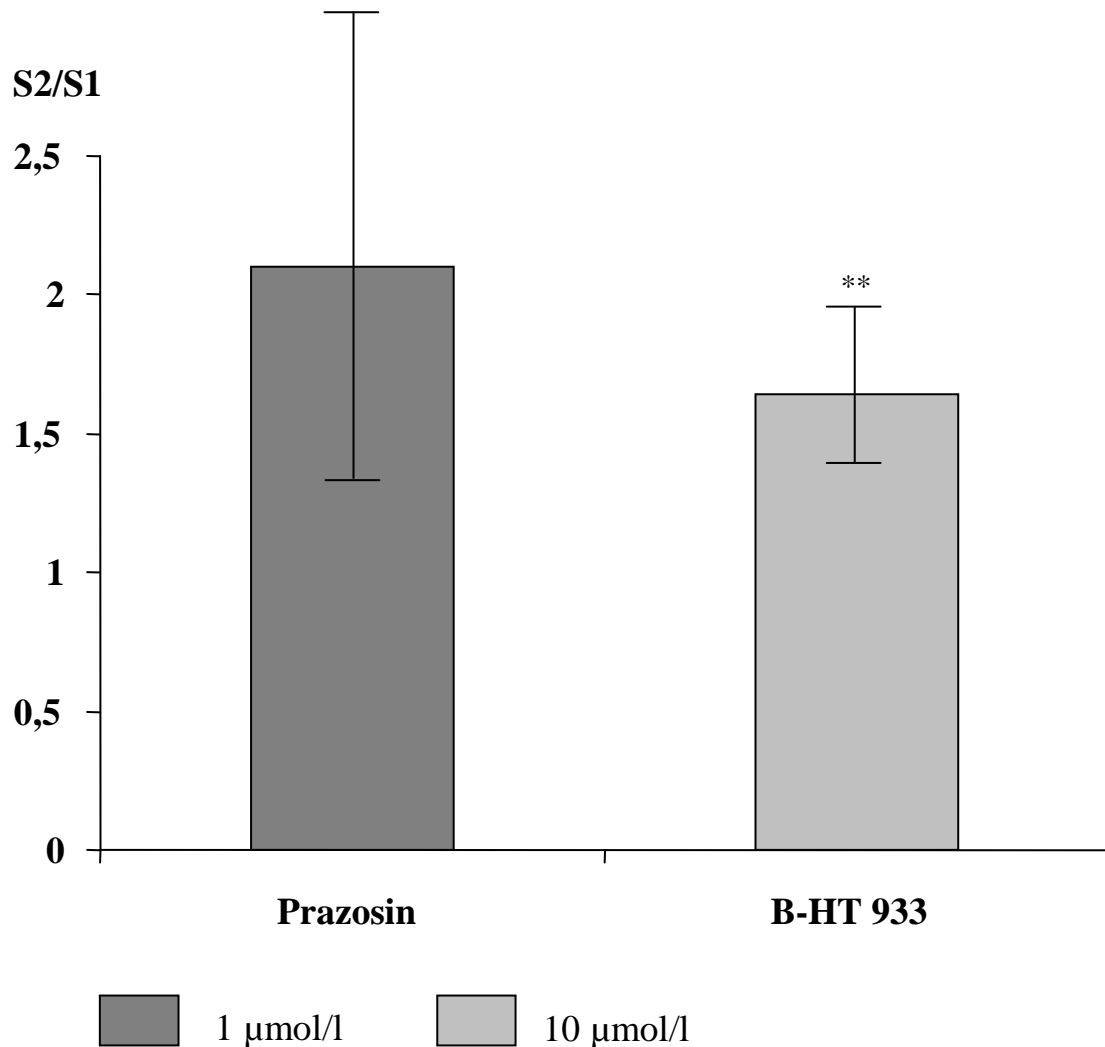


Abbildung 12. Wirkung von Prazosin und B-HT 933 in einer vierminütigen Ischämie

Wirkung von Prazosin (1 $\mu\text{mol/l}$; $n=3$) und B-HT 933 (10 $\mu\text{mol/l}$; $n=8$) auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im ischämischen Rattenherzen. Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S_1) und nach (S_2) Medikamentengabe ausgelöst. Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S_2/S_1 -Quotienten \pm SEM, * $p < 0,05$ vs. S_1 ; ** $p < 0,01$ vs. S_1

3.2.4. Wirkung von Yohimbin

Yohimbin steigerte die Noradrenalinfreisetzung in einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ bei vier Minuten Ischämie auf einen Wert von S_2/S_1 : $1,62 \pm 0,19$ (S_1 : 101 ± 12 pmol/g, S_2 : 163 ± 23 pmol/g, n=6).

3.3. Noradrenalinfreisetzung in der Anoxie

Zur Stimulation eines möglichst sauerstoffarmen Zustands mit Substratmangel, ähnlich wie bei einem Infarktgeschehen, wurden einzelne Versuche unter anoxischen Bedingungen und Glukosemangel durchgeführt. Eine Anoxieperiode dauerte dabei vier Minuten. Durch Kontrollversuche konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von Natriumdithionit zur Reduktion des verbliebenen Sauerstoffes per se keinen Einfluss auf die Noradrenalinfreisetzung hatte. In Kontrollversuchen konnte weiter gezeigt werden, dass während der Äquilibrierungsphase keine Freisetzung von endogenem Noradrenalin erfolgte. Keines der verwendeten Medikamente bewirkte vor der Stimulation eine meßbare Noradrenalinfreisetzung. In Versuchen ohne pharmakologische Intervention wurde ein mittleres S_2/S_1 -Verhältnis von $1,17 \pm 0,21$ (S_1 : 139 ± 19 pmol/g, S_2 : 152 ± 6 pmol/g, n=4) für eine vierminütige Anoxiezeit ermittelt.

3.3.1. Wirkung von Carvedilol R(+)

Carvedilol R(+) wurde in den Konzentrationen 1 und 10 $\mu\text{mol/l}$ getestet. Dabei wurde für eine Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ ein S_2/S_1 -Verhältnis von $1,08 \pm 0,10$ (S_1 : 147 ± 2 pmol/g, S_2 : 161 ± 22 pmol/g, n=8) und für eine Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ ein hochsignifikantes S_2/S_1 -Verhältnis von $0,12 \pm 0,02$ (S_1 : 176 ± 24 pmol/g, S_2 : 19 ± 2 pmol/g, n=2) ermittelt (Abbildung 13).

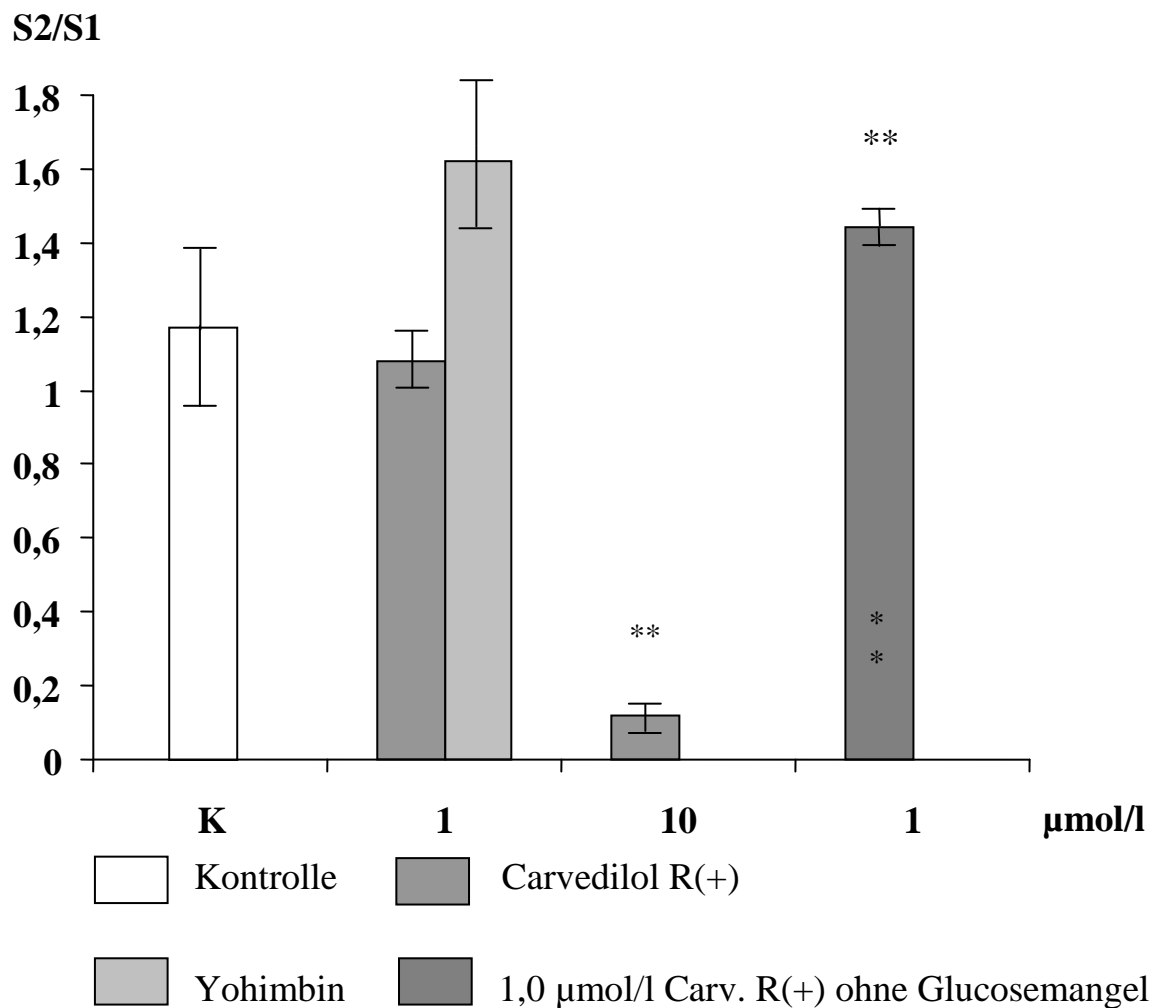


Abbildung 13. Wirkung von Carvedilol R(+), Yohimbin sowie Carvedilol R(+) ohne Glucosemangel in einer vierminütigen Anoxie

Wirkung von Carvedilol R(+) (1 µmol/l und 10 µmol/l), Yohimbin (1 µmol/l) sowie Carvedilol R(+) (1 µmol/l) ohne Glucosemangel auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung im anoxischen Rattenherzen. Die exozytotische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation vor (S₁) und nach (S₂) Medikamentengabe ausgelöst. Die Werte sind dargestellt in Form der mittleren S₂/S₁-Quotienten ± SEM, n= 2-8 je Gruppe, *p< 0,05 vs. S₁; ** p< 0,01 vs. S₁

3.3.2. Wirkung von Yohimbin

Die Wirkung des α_2 -Blockers Yohimbin wurde in einer vierminütigen Anoxiephase in einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ überprüft. Als Ergebnis wurde ein S_2/S_1 -Verhältnis von $1,62 \pm 0,21$ (S_1 : 119 ± 25 pmol/g, S_2 : 198 ± 54 pmol/g, $n=4$) gefunden (Abbildung 13).

3.3.3. Wirkung von Carvedilol R(+) ohne Glucosemangel

Um zu überprüfen, wie sich Carvedilol in der Anoxie ohne Glucosemangel verhält, wurde Carvedilol R(+) in einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ unter Beibehaltung des Versuchsablaufes mit Zugabe von Glucose getestet. Es konnte eine hochsignifikante Steigerung der Noradrenalinausschüttung auf ein S_2/S_1 -Verhältnis von $1,44 \pm 0,04$ (S_1 : 136 ± 15 pmol/g, S_2 : 194 ± 20 pmol/g, $n=8$) beobachtet werden (Abbildung 13).

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die präsynaptische Regulation der exozytotischen Noradrenalinfreisetzung am isoliert perfundierten Rattenherzen (Langendorff-Technik) untersucht. Die Verwendung dieses Modells bietet mehrere Vorteile. Normoxische, ischämische und anoxische Versuchsbedingungen waren leicht zu testen und pharmakologische Interventionen waren unproblematisch durchzuführen. Zudem kommt es zu einer rein exozytotischen, d.h. physiologischen endogenen Freisetzung von Noradrenalin. Die Freisetzungsergebnisse (S_1 , S_2) sind gut reproduzierbar.

Ein Nachteil dieses Modells ist sicherlich, dass nur eine eingeschränkte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf das menschliche Herz möglich ist. Allerdings konnten Seyfarth und Mitarbeiter zeigen, dass eine gute Übereinstimmung der Regulation der Noradrenalinfreisetzung zwischen isoliertem Rattenherzen und humanen Gewebe besteht (*Seyfarth et al., 1993*). Andererseits bleibt festzustellen, dass Untersuchungen am menschlichen Herzen in vivo zur Noradrenalinfreisetzung nur sehr schwer durchführbar sind. Eine Arbeit mit Blut als Medium ist an diesem Modell nicht möglich, dafür kann aber die Krebs-Henseleit-Lösung völlig unproblematisch verwendet und exakt modifiziert werden.

Die Behandlung mit Betablockern gehört heute zu den wichtigsten pharmakotherapeutischen Strategien bei der Behandlung von Herz-Kreislaufkrankungen. Betablocker gehören seit Jahrzehnten zur Therapie des arteriellen Hypertonus, des Herzinfarktes und von Herzrhythmusstörungen. Aber auch seltenere Herz- bzw. Gefäßerkrankungen wie hypertrophe Kardiomyopathien oder Aortenaneurysmen können erfolgreich mit Betablockern behandelt werden. Während sich die Indikationen für die Betablockertherapie kontinuierlich erweiterten, kam es zu einer Einengung der strengen Kontraindikationen für diese Therapie. Im Fall der chronischen Herzinsuffizienz ist die Betablockertherapie sogar von einer

Kontraindikation zu einer Indikation geworden. Gerade anhand der Herzinsuffizienztherapie mit Betablockern ist die Diskussion über mögliche Unterschiede in der klinischen Wirksamkeit verschiedener Substanzen erneut entbrannt. Viele Betablocker haben nicht nur ihre betablockierende Grundeigenschaft, sondern darüber hinausgehende Zusatzeffekte, die potentielle Unterschiede in der klinischen Wirksamkeit begründen.

In der im Jahr 2003 publizierte COMET Studie, die die Betablocker Carvedilol und Metoprolol bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz verglich, wurde erstmals in einem direkten Vergleich zweier Betablocker die Überlegenheit von Carvedilol gegenüber einem konventionellen kardioselektiven Betablocker bei der Herzinsuffizienztherapie gezeigt (*COMET, 2003*). Es ist daher interessant, die Zusatzeffekte von Carvedilol näher zu betrachten und mögliche Unterschiede im Wirkprofil von Carvedilol herauszuarbeiten.

Besondere Beachtung haben bisher alpha-blockierende und antioxidative Zusatzeffekte von Carvedilol gefunden. Die Blockade von alpha-Rezeptoren unter Carvedilol ist an einer schon nach der ersten Dosis einsetzenden Verringerung des peripheren Gefäßwiderstandes zu erkennen. Dies erklärt die im Vergleich zu anderen Betablockern ausgeprägte, sofort zu beobachtende, blutdrucksenkende Wirkung von Carvedilol. Folglich wurden auch in der COMET Studie insbesondere in der Initialphase niedrigere systolische und diastolische Blutdruckwerte in der Carvedilolgruppe beobachtet. Da auch im Myokard alpha-Rezeptoren vorkommen, wird ein Teil der kardioprotektiven Wirkungen von Carvedilol durch eine Blockade dieser alpha-Rezeptoren erklärt, die neben inotropen vor allem trophische (Hypertrophie und Remodelling !) sowie arrhythmogene Katecholamineffekte vermitteln.

Im frühen Stadium der Herzinsuffizienz hat Carvedilol günstige Effekte auf die Progression der Herzinsuffizienz gezeigt. In der im Jahr 2004 vorgestellten CARMEN Studie verbesserte Carvedilol das linksventrikuläre Remodelling bei Patienten mit milder Herzinsuffizienz und zeigte in dieser Beziehung eine additive Wirkung zum ACE-Hemmer Enalapril (*CARMEN 2004*).

Die Vermittlung katecholaminbedingter Arrhythmien über alpha-Rezeptoren ist in der Vergangenheit intensiv von unserer Arbeitsgruppe untersucht worden. Wir haben gezeigt, dass dieser Mechanismus vornehmlich bei myokardialer Ischämie eine Rolle spielt. Eine lokale Noradrenalinfreisetzung triggert Kammerflimmern im ischämischen Myokard. Die proarrhythmischen Effekte von Noradrenalin werden durch alpha 1A Rezeptoren über eine Protein Kinase C abhängige intrazelluläre Signalkaskade vermittelt. (Tölg *et al.*, 2001). Auch in dieser Beziehung lässt sich eine mögliche klinische Relevanz aus den Daten der COMET Studie ableiten. In dem Kollektiv, das ganz überwiegend aus Patienten mit ischämisch bedingter Herzinsuffizienz bestand, reduzierte Carvedilol ausschließlich die Rate an kardiovaskulären Todesfällen – vornehmlich des arrhythmogenen plötzlichen Herztodes – während die Rate an Krankenhauseinweisungen nicht beeinflusst wurde.

Unklar ist bis heute die klinische Bedeutung sogenannter antioxidativer Wirkungen von Carvedilol, das als einziger klinisch eingesetzter Betablocker auch als Radikalfänger wirkt. Aus dieser Eigenschaft werden günstige Effekte auf die Progression arteriosklerotischer Plaques (Verminderung von Ox-LDL) und auf den Ischämie/Reperfusionsschaden (Senkung der Apoptoserate) abgeleitet (Simons und Downing 1985, Frishman WH 2002, Communal *et al.*, 1999). In einer großen klinischen Studie (EUROCORE 2000) konnte Carvedilol koronare Restenosen aber nicht beeinflussen. Auch in der PASSAT Studie bei Patienten mit primärer PTCA im akuten Myokardinfarkt war Carvedilol einer konventionellen Therapie mit Metoprolol nicht überlegen d.h. die enzymatisch und angiographisch bestimmten Infarktgrößen waren in beiden Behandlungsgruppen identisch (Tölg *et al.*, 2006).

Interessanterweise sind bisher mögliche Unterschiede präsynaptischer Effekte der Betablocker am Herzen nicht untersucht bzw. berichtet worden. Die kardiale Noradrenalinfreisetzung ist aber ein potentiell wichtiger Angriffspunkt für eine antiadrenerge Therapie mit Betablockern in der Herzinsuffizienz. Einerseits ist bei herzinsuffizienten Patienten die kardiale Noradrenalinfreisetzung im Herzen 10-fach erhöht, während andere

Organe in der Herzinsuffizienz einen unveränderten Noradrenalinstoffwechsel aufweisen (Esler *et al.*, 1990). Andererseits finden sich auch präsynaptisch adrenerge sog. autoregulatorische Rezeptoren, die als Angriffspunkte für Adrenozeptorblocker in Betracht kommen.

Es ist die Hauptidee der hier beschriebenen Untersuchungen, dass Carvedilol, im Gegensatz zu anderen Betablockern, einen ausgeprägten Effekt auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung am isoliert perfundierten Rattenherzen hat. Carvedilol steigert und hemmt die Noradrenalinfreisetzung in Form glockenförmigen Konzentrations-Wirkungs-Kurve. Außerdem wurde eine deutliche Stereoselektivität von Carvedilol festgestellt. Das R(+)-Enantiomer verursachte eine höhere Noradrenalinfreisetzung als das S(-)-Enantiomer. Interessanterweise verlor Carvedilol seinen steigernden Effekt auf die Noradrenalinfreisetzung unter ischämischen Bedingungen, sodass in der Ischämie nur eine konzentrationsabhängige Inhibition der Freisetzung zu beobachten war. Die Effekte von Carvedilol auf die Noradrenalinfreisetzung sind sehr wahrscheinlich nicht Betarezeptor-vermittelt, denn andere von uns ebenfalls untersuchte selektive und nichtselektive Betablocker hatten keinen oder nur einen geringen Effekt auf die Noradrenalinfreisetzung. Darüberhinaus sprechen die Experimente mit den beiden Enantiomeren von Carvedilol gegen Betablocker-vermittelte Effekte, denn die Wirkung von S(-) Carvedilol auf die Noradrenalinfreisetzung war geringer als die des R(+) Enantiomers, das seinerseits nicht am Betarezeptor angreift (Bartsch *et al.*, 1990). Überdies verlor Carvedilol seine steigernden Effekte auf die Noradrenalinfreisetzung in Gegenwart des α_2 -Adrenozeptorblockers Yohimbin. Das deutet darauf hin, dass die Steigerung der exozytotischen Noradrenalinfreisetzung auf einer präsynaptischen α_2 -Adrenozeptorblockade beruht. In Übereinstimmung mit einem α_2 -vermittelten Effekt verlor Carvedilol seine aktivierende Wirkung auf die Noradrenalinausschüttung in der Ischämie. Ein solcher Verlust der präsynaptischen α_2 -Adrenozeptorfunktion wurde durch uns bereits bei Versuchen zur

Noradrenalinfreisetzung mit isolierten Rattenherzen und mit humanem Vorhofgewebe beschrieben (*Grimm et al. 2001; Münch et al., 1996*). Interessanterweise war der Verlust der inhibitorischen Potenz des α_2 -Adrenozeptors in der Ischämie kein gemeinsames Merkmal der präsynaptisch hemmenden Rezeptoren, da Adenosin A_1 -Rezeptoren weiterhin eine präsynaptische Hemmung vermitteln. Die Ursache für die verminderte Autoinhibition der Noradrenalinfreisetzung über den präsynaptischen α_2 -Adrenozeptor in der globalen Stop-Flow-Ischämie wurde von uns mit Hilfe von Experimenten mit anoxischer und substratfreier (d.h. glukosefreier) Perfusion weiter eingengt. Prinzipiell können in der Ischämie neben der anoxisch bedingten Substratverarmung auch die Akkumulation von Metaboliten (Protonen, Laktat, Phosphat) oder die sich rasch entwickelnde Hyperkaliämie für Störungen der sympathischen Neurotransmission verantwortlich sein. Unter anoxischen Perfusionsbedingungen ist die Gewebsazidose und die Hyperkaliämie aufgrund des unveränderten Perfusionsflusses erheblich geringer als bei unterbrochenem Fluß. Dennoch fanden wir, dass auch in der Anoxie Carvedilol die Noradrenalinfreisetzung nicht steigert und dass der Effekt von Yohimbin wie in der Ischämie erheblich abgeschwächt ist. Durch Zugabe von Glukose zum Perfusionsmedium konnte die präsynaptische Steigerung der Noradrenalinfreisetzung mit Carvedilol wieder demaskiert werden. Wir folgern daraus, dass die Ischämiebedingte Substratverarmung der sympathischen Nervenenden die wesentliche Ursache für die verminderte Autoinhibition über den präsynaptischen α_2 -Adrenozeptor ist, die wir in der globalen Ischämie beobachten.

Obwohl Carvedilol klinisch als Mischung aus dem S(-)- und dem R(+)-Enantiomer verabreicht wird, ist es wichtig, zu betonen, dass die Serumkonzentration des R(+)-Enantiomers aufgrund des stereoselektiven first-pass-Effektes doppelt so hoch ist (*Neugebauer et al., 1990*). Eine Verringerung des R(+)-/S(-)-Enantiomer-Verhältnisses wurde bei Patienten mit Leberzirrhose gefunden (*Neugebauer et al., 1992*). Bei einem

pharmakogenetischen Defekt des CYP2D6-Enzyms hingegen, wurde eine Verschiebung des Verhältnisses zugunsten des R(+)-Enantiomers beobachtet (*Zhou und Wood, 1995*).

In hohen Konzentrationen unterdrückten beide Enantiomere die exozytotische Noradrenalinfreisetzung des Herzens effektiv. Obwohl dieser inhibitorische Effekt von Carvedilol beim S(-) – Enantiomer deutlicher als beim R(+)-Enantiomer erschien, war dieser Unterschied statistisch nicht signifikant. Hinsichtlich der Senkung der Noradrenalinfreisetzung bei Carvedilol-Konzentrationen über 1 µmol/l bestätigen unsere Ergebnisse eine vorhergehende Studie mit kultivierten chromaffinen Zellen der Nebenniere vom Rind. Diese Studie weist darauf hin, dass Carvedilol über eine Blockade des Kalziumeinstromes in die Zellen die Noradrenalinfreisetzung hemmt (*Morita et al., 1989*). Interessanterweise gleicht die Dosis-Wirkungs-Kurve von Carvedilol der des α_2 -Adrenozeptorblockers Yohimbin. Yohimbin hemmt in hohen Konzentrationen die stimulationsinduzierte Noradrenalinfreisetzung im Rattenhirn (*Hagan und Hughes, 1986*), im vas deferens der Maus (*Goodall et al., 1984*) und, wie in unserer Untersuchung gezeigt, im Rattenherzen. Dieser inhibitorische Effekt auf die Noradrenalinfreisetzung könnte durch eine nicht α -Adrenozeptor-vermittelte, sondern möglicherweise durch eine lokal anästhetische Wirkung von Yohimbin begründet sein. Die Hemmung der exozytotischen Noradrenalinfreisetzung bei hohen Carvedilolkonzentrationen könnte auch mit dessen ausgesprochen lipophilen Eigenschaften zusammenhängen, da andere weniger lipophile Betablocker, die in dieser Untersuchung getestet wurden, nicht diese Wirkung zeigten.

Es muss am Ende unserer Untersuchung offen bleiben, ob und in wie weit die hier vorgestellten Daten zur kardialen Noradrenalinfreisetzung eine Relevanz für die klinischen Effekte von Carvedilol haben. Die Tatsache, dass die therapeutische Serumkonzentration von Carvedilol bei Höchstwerten von 200-300 nmol/l liegt (*de Mey et al., 1994*), sagt aufgrund der starken Lipophilie von Carvedilol wenig über die im Herzen biologisch wirksamen Konzentrationen der Substanz. Für eine klinische Bedeutung der Befunde spricht die

Tatsache, dass wir in jüngsten Untersuchungen an humanem Herzgewebe einen Effekt von Carvedilol auf die Noradrenalinfreisetzung zeigen konnten, der eine vergleichbare Konzentrations-Wirkungskurve aufweist wie in den hier präsentierten Ergebnissen (*Richardt et al. 2002*). Einen Einfluss von Carvedilol auf die kardiale Noradrenalinfreisetzung haben auch *Gilbert und Mitarbeiter (1996)* angenommen, die bei Herzinsuffizienzpatienten im koronarvenösen Blut niedrigere Noradrenalinpiegel fanden, als bei einem Kollektiv, das mit Metoprolol behandelt wurde. Man kann spekulieren, dass Carvedilol dann das Herz besonders effektiv vor Katecholaminen schützt, wenn die Katecholamine besonders schädlich sind – bei Myokardischämie. Andererseits kann es vorteilhaft sein, wenn in der Titrationsphase die Substanz im nichtischämischen Myokard zu einer gesteigerten Noradrenalinfreisetzung führt und dadurch einer hämodynamischen Kompromittierung in der Initialphase der Therapie entgegenwirkt. In der Tat wird Carvedilol auch bei schwerer Herzinsuffizienz (NYHA IV) in der Regel gut toleriert (*COPERNICUS, 2001*), ohne den *early hazard*, der bei der Behandlung von herzinsuffizienten Patienten mit anderen Betablockern gesehen wird.

5. Zusammenfassung

Für die Regulation der Herzfunktion spielt das sympathische Nervensystem mit seinen beiden klassischen Transmittern, Noradrenalin und Adrenalin, eine wichtige Rolle. In hohen Konzentrationen können Katecholamine Nekrosen und Arrhythmien im Herzen auslösen. Diese Effekte sind insbesondere beim Herzinfarkt von Bedeutung. Carvedilol ist ein β -Blocker, der möglicherweise anderen β -Blockern bezüglich einer kardialen Protektion im Herzinfarkt und bei Herzinsuffizienz überlegen ist. Um zu zeigen, ob Carvedilol die Noradrenalinfreisetzung im Herzen modulieren kann, wurden die Effekte von Carvedilol (Racemat und beide Enantiomere) und anderen β -Blockern auf die Noradrenalinfreisetzung bei isoliert perfundierten Rattenherzen unter normoxischen, ischämischen und anoxischen Bedingungen untersucht. Die exozytische Noradrenalinfreisetzung wurde durch elektrische Feldstimulation induziert und die Noradrenalinfreisetzung mit und ohne β -Blocker-Gabe verglichen. Carvedilol zeigte, anders als die anderen untersuchten β -Blocker, eine biphasische Konzentrations-Wirkungs-Kurve; dabei folgte dem Anstieg ein Abfall. Der Anstieg der Noradrenalinfreisetzung war beim Carvedilol R(+) ausgeprägter als beim Carvedilol S(-), was einen von der β -Blockade unabhängigen Effekt nahe legt. Während der Ischämie war ein konzentrationsabhängiger Abfall der Noradrenalinfreisetzung zu beobachten.

Carvedilol hatte im Gegensatz zu anderen β -Blockern einen Einfluss auf die kardiale Noradrenalinfreisetzung, der eindrucksvoll von den jeweiligen Bedingungen abhängt. Während unter normoxischen Bedingungen eine erhöhte Noradrenalinfreisetzung zu beobachten ist, kommt es unter ischämischen und anoxischen Bedingungen konzentrationsabhängig zur Suppression. Da andere untersuchte selektive und nichtselektive β -Blocker keinen oder nur einen geringen Effekt auf die Noradrenalinfreisetzung hatten, sind diese Effekte von Carvedilol höchstwahrscheinlich nicht β -Rezeptor-vermittelt. Carvedilol

verlor in Gegenwart des α_2 -Adrenozeptorblockers Yohimbin seinen steigernden Effekt, sodass hierfür eine präsynaptische α_2 – Adrenozeptorblockade angenommen werden muss.

Die von uns erhobenen Befunde unterstreichen eine Sonderstellung von Carvedilol in der Reihe der β -Blocker, die möglicherweise zu einer besonders günstigen Kardioprotektion führen.

6. Literaturverzeichnis

Bartsch W, Sponer G, Strein K, Müller-Beckmann B, Kling L, Bohm E, Martin U, Borbe HO. Pharmacological characteristics of the stereoisomers of carvedilol. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; **38 Suppl 2**:S104-7

Brodde OE. Beta-adrenoceptors in cardiac disease. *Pharmacol Ther* 1993; **60(3)**:405-30

The CAPRICORN Investigators. Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: the CAPRICORN randomised trial. *Lancet* 2001; **357**:1385-1390

Carlsson L, Abrahamsson T, Almgren O. Local release of myocardial norepinephrine during acute ischemia: an experimental study in the isolated perfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; **7(4)**:791-8

CARMEN. Remme WJ; Riegger G, Hildebrandt P, Komajda M, Jaarsma W, Bobbio M, Soler-Soler J, Scherhag A, Lutiger B, Ryden L on behalf of the CARMEN investigators and co-ordinators. The benefits of early combination treatment of carvedilol and an ACE-inhibitor in mild heart failure and left ventricular systolic dysfunction. The Carvedilol and ACE-Inhibitor Remodelling Mild Heart Failure EvaluationN trial (CARMEN). *Cardiovasc Drugs Ther* 2004; **18(1)**:57-66

CIBIS Investigators and Committees. A randomized trial of beta-blockade in heart failure. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS). *Circulation* 1994; **90(4)**:1765-73

CIBIS-II Investigators and Committees. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet* 1999; **353(9146)**:9-13

Cleland JG, Bristow MR, Erdmann E, Remme WJ, Swedberg K, Waagstein F. Beta-blocking agents in heart failure. Should they be used and how? *Eur Heart J* 1996; **17(11)**:1629-39

COMET. Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JGF, Di Lenarda A, Hanrath P, Komajda M, Lubsen J, Lutiger B, Metra M, Remme WJ, Torp-Pedersen C, Scherhag A, Skene A. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial. *Lancet* 2003; **362(9377)**:7-13

Communal C, Singh K, Sawyer DB, Colucci WS. Opposing effects of beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis: role of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circulation* 1999; **100(22)**:2210-2

COPERNICUS. Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, Rouleau JL, Tendera M, Castaigne A, Roecker EB, Schultz MK, DeMets DL. Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival Study Group. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001; **344**:1651-58

Corr PB, Gillis RA. Autonomic neural influences on the dysrhythmias resulting from myocardial infarction. *Circ Res* 1978; **43(1)**:1-9

Corr PB, Shayman JA, Kramer JB, Kipnis RJ. Increased alpha-adrenergic receptors in ischemic cat myocardium. A potential mediator of electrophysiological derangements. *J Clin Invest* 1981; **67(4)**:1232-6

Dahlof C, Ljung B, Ablad B. Increased noradrenaline release in rat portal vein during sympathetic nerve stimulation due to activation of presynaptic beta-adrenoceptors by noradrenaline and adrenaline. *Eur J Pharmacol* 1978; **50(1)**:75-8

Dart AM, Riemersma RA, Schömig A, Ungar A. Metabolic requirements for release of endogenous noradrenaline during myocardial ischemia and anoxia. *Br J Pharmacol* 1987; **90(1)**:43-50

Davey MJ. Aspects of the pharmacology of prazosin. *Med J Aust* 1980; **2 Suppl 1**:4-8

De Mey C, Breithaupt K, Schloos J, Neugebauer G, Palm D, Belz GG. Dose-effect and pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of the beta 1-adrenergic receptor blocking properties of various doses of carvedilol in healthy humans. *Clin Pharmacol Ther* 1994; **55(3)**:329-37

Di Carli MF, Tobes MC, Mangner T, Levine AB, Muzik O, Chakroborty P, Levine TB. Effects of cardiac sympathetic innervation on coronary blood flow. *N Engl J Med* 1997; **336(17)**:1208-15

Doxey JC, Smith CF, Walker JM. Selectivity of blocking agents for pre- and postsynaptic alpha-adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 1977; **60(1)**:91-6

Esler M, Jennings G, Lambert G, Meredith I, Horne M, Eisenhofer G. Overflow of catecholamine neurotransmitters to the circulation: source, fate, and functions. *Physiol Rev* 1990; **70**:963-985

EUROCARE. Serruys PW, Foley DP, Höfling B, Puel J, Glogar HD, Seabra-Gomes R, Goicolea J, Coste P, Wijns W, Betriu A, Hauf-Zachariou U, van Swijndregt E, Melkert R, Simon R. Carvedilol for prevention of restenosis after directional coronary atherectomy: final results of the European carvedilol atherectomy restenosis (EUROCARE) trial. *Circulation* 2000; **101(13)**:1512-8

Feigl W, Sinzinger H, Howanietz L, Leithner C. A morphologically different type of smooth muscle cell in the inner media of the splenic artery. *Acta Anat* 1976; **94(4)**:617-25

Felder RB, Thames MD. The cardiocardiac sympathetic reflex during coronary occlusion in anesthetized dogs. *Circ Res* 1981; **48(5)**:685-92

Feldman RD, Christy JP, Paul ST, Harrison DG. Beta-adrenergic receptors on canine coronary collateral vessels: characterization and function. *Am J Physiol* 1989; **257(5Pt2)**:H1634-9

Feuerstein GZ, Ruffolo RR Jr. Carvedilol, a novel multiple action antihypertensive agent with antioxidant activity and the potential for myocardial and vascular protection. *Eur Heart J* 1995; **16 Suppl F**:38-42

Feuerstein GZ, Ruffolo RR Jr. Carvedilol, a novel vasodilating beta-blocker with the potential for cardiovascular organ protection. *Eur Heart J* 1996; **17 Suppl B**:24-9

Fredholm BB, Hedquist P. Modulation of neurotransmission by purine nucleotides and nucleosides. *Biochem Pharmacol* 1980; **29(12)**:1635-43

Frishman WH. Multifactorial actions of beta-adrenergic blocking drugs in ischemic heart disease: current concepts. *Circulation* 1983; **67(6 Pt 2)**:I11-8

Frishman WH. Beta blockers as cardioprotective agents: Part I-Insights into mechanisms of action. *Am J Manag Care* 2002; **8(9 Suppl)**:13-7

Gerber JG, Nies AS. Beta-adrenergic blocking drugs. *Ann Rev Med* 1985; **36**:145-64

Gilbert EM, Abraham WT, Olsen S, Hattler B, White M, Mealy P, Larrabee P, Bristow MR. Comparative hemodynamic, left ventricular functional, and antadrenergic effects of chronic treatment with metoprolol versus carvedilol in the failing heart. *Circulation* 1996; **94(11)**:2817-25

Göthert M, Thielecke G. Inhibition by ethanol of noradrenaline output from peripheral sympathetic nerves: possible interaction of ethanol with neuronal receptors. *Eur J Pharmacol* 1976; **37(2)**:321-8

Goodall J, Hagan RM, Hughes IE. A contribute, from a possible local anaesthetic action, to the effects of yohimbine on evoked noradrenaline overflow. *J Pharm Pharmacol* 1984; **36**:278-80

Grimm M, Kurz T, Schwarz M, Richardt D, Schäfer U, Katus HA, Richardt G. Presynaptic regulation of cardiac norepinephrine release in ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; **38(1):58-68**

Hagan RM, Hughes IE. Yohimbine affects the evoked overflow of neurotransmitters from rat brain slices by more than one mechanism. *J Pharm Pharmacol* 1986; **38:195-200**

Hein L, Kobilka BK. Adrenergic receptor signal transduction and regulation. *Neuropharmacology* 1995; **34(4):357-66**

Heusch G, Deussen A, Schipke J, Thamer V. Alpha 1- and alpha 2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction of large and small canine coronary arteries in vivo. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; **6(5):961-8**

Hoffmann BB, Taylor P. Neurotransmission: the autonomic and somatic motor nervous systems. In: Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A: *The pharmacological basis of therapeutics*. McGraw-Hill, New York 2001; **10. Aufl., 115-153**

ISIS-1 (First international study of infarct survival) Collaborative Group. Randomised trial of intravenous atenolol among 16027 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-1. First International Study of Infarct Survival Collaborative Group. *Lancet* 1986; **2(8498):57-66**

Jones CJ, Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Alpha-adrenergic responses of isolated canine coronary microvessels. *Basic Res Cardiol* 1995; **90(1):61-9**

Karlsberg RP, Penkoske PA, Cryer PE, Corr PB, Roberts R. Rapid activation of the sympathetic nervous system following coronary artery occlusion: relationship to infarct size, site, and haemodynamic impact. *Cardiovasc Res* 1979; **13(9)**:523-31

Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Inagaki M, Shishido T, Zheng C, Yanagiya Y, Sugimachi M, Sunagawa K. Vagosympathetic interactions in ischemia-induced myocardial norepinephrine and acetylcholine release. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; **280(1)**:H216-21

Knight DE, Baker PF. Calcium-dependence of catecholamine release from bovine adrenal medullary cells after exposure to intense electric fields. *J Membr Biol* 1982; **68(2)**:107-40

Kopin IJ. Catecholamine metabolism: basic aspects and clinical significance. *Pharmacol Rev* 1985; **37(4)**:333-64

Kurz T, Yamada KA, DaTorre SD, Corr PB. Alpha 1-adrenergic system and arrhythmias in ischemic heart disease. *Eur Heart J* 1991; **12 Suppl F**:88-98

Kurz T, Offner B, Schrieck J, Richardt G, Tölg R, Schömig A. Nonexocytotic noradrenaline release and ventricular fibrillation in ischemic rat hearts. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1995; **352**:491-496

Lameris TW, de Zeeuw S, Alberts G, Boomsma F, Duncker DJ, Verdouw PD, Veld AJ, van den Meiracker AH. Time course and mechanism of myocardial catecholamine release during transient ischemia in vivo. *Circulation* 2000; **101(22)**:2645-50

Lameris TW, de Zeeuw S, Duncker DJ, Alberts G, Boomsma F, Verdouw PD, van den Meiracker AH. Exogenous angiotensin II does not facilitate norepinephrine release in the heart. *Hypertension* 2002; **40(4)**:491-7

Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Arch Ges Physiol* 1895; **61**:291-332

Langer SZ. Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol Rev* 1980; **32(4)**:337-62

Langer SZ. 25 years since the discovery of presynaptic receptors: present knowledge and future perspectives. *Trends Pharmacol Sci* 1997; **18(3)**:95-9

Lin RC, Scheller RH. Structural organization of the synaptic exocytosis core complex. *Neuron* 1997; **19(5)**:1087-94

Lombardi F, Verrier RL, Lown B. Relationship between sympathetic neural activity, coronary dynamics, and vulnerability to ventricular fibrillation during myocardial ischemia and reperfusion. *Am Heart J* 1983; **105(6)**:958-65

Maisel AS, Motulsky HJ, Insel PA. Externalization of beta-adrenergic receptors promoted by myocardial ischemia. *Science* 1985; **230(4722)**:183-6

Malliani A, Schwartz PJ, Zanchetti A. A sympathetic reflex elicited by experimental coronary occlusion. *Am J Physiol* 1969; **217(3)**:703-9

Malliani A, Schwartz PJ, Zanchetti A. Neural mechanisms in life-threatening arrhythmias. *Am Heart J* 1980; **100(5)**:705-15

McDermott BJ, Millar BC, Piper HM. Cardiovascular effects of neuropeptide Y: receptor interactions and cellular mechanisms. *Cardiovasc Res* 1993; **27(6)**:893-905

Meir A, Ginsburg S, Butkevich A, Kachalsky SG, Kaisermann I, Ahdut R, Demirgoren S, Rahamimoff R. Ion channels in presynaptic nerve terminals and control of transmitter release. *Physiol Rev* 1999; **79(3)**:1019-88

Menken U, Wiegand V, Bucher P, Meesmann W. Prophylaxis of ventricular fibrillation after acute experimental coronary occlusion by chronic beta-adrenoceptor blockade with atenolol. *Cardiovasc Res* 1979; **13(10)**:588-94

MERIT-HF Study Group. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999; **353(9169)**:2001-7

Mertes PM, el-Abbassi K, Jaboin Y, Michel C, Beck B, Pinelli G, Carteaux JP, Villemot JP, Burlet C. Consequences of coronary occlusion on changes in regional interstitial myocardial neuropeptide Y and norepinephrine concentrations. *J Moll Cell Cardiol* 1996; **28(9)**:1995-2004

MIAMI. The MIAMI Trial Research Group. Metoprolol in acute myocardial infarction (MIAMI). A randomised placebo-controlled international trial. *Eur Heart J* 1985; **6(3)**:199-226

Miura M, Thomas R, Ganz W, Sokol T, Shell WE, Toshimitsu T, Kwan AC, Singh BN. The effect of delay in propranolol administration on reduction of myocardial infarct size after experimental coronary artery occlusion in dogs. *Circulation* 1979; **59(6)**:1148-57

Miura T, Kawamura S, Tatsuno H, Ikeda Y, Mikami S, Iwamoto H, Okamura T, Iwatate M, Kimura M, Dairaku Y, Maekawa T, Matsuzaki M. Ischemic preconditioning attenuates cardiac sympathetic nerve injury via ATP-sensitive potassium channels during myocardial ischemia. *Circulation* 2001; **104(9)**:1053-8

MOCHA. Bristow MR, Gilbert EM, Abraham WT, Adams KF, Fowler MB, Hershberger RE, Kubo SH, Narahara KA, Ingersoll H, Krueger S, Young S, Shusterman N. Carvedilol produces dose-related improvements in left ventricular function and survival in subjects with chronic heart failure. MOCHA Investigators. *Circulation* 1996; **94(11)**:2807-16

Morita K, Hamano S, Yoshizumi M, Oka M. Inhibitory action of carvedilol, a novel alpha, beta-adrenoceptor antagonist, on catecholamine secretion and calcium influx in cultured bovine adrenal chromaffin cells. *Biochem Pharmacol* 1989; **24**:4461-65

Münch G, Kurz T, Urlbauer T, Seyfarth M, Richardt G. Differential presynaptic modulation of noradrenaline release in human atrial tissue in normoxia and anoxia. *Br J Pharmacol* 1996; **118(7)**:1855-61

Nadeau RA, de Champlain J. Plasma catecholamines in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1979; **98(5)**:548-54

Nagatsu T. Genes for human catecholamine-synthesizing enzymes. *Neurosci Res* 1991; **12(2)**:315-345

Neugebauer G, Akpan W, Kaufmann B, Reiff K. Stereoselective disposition of carvedilol in man after intravenous and oral administration of the racemic compound. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; **38 Suppl 2**:S108-11

Neugebauer G, Gabor M, Reiff K. Disposition of carvedilol enantiomers in patients with liver cirrhosis: evidence for disappearance of stereoselective first-pass extraction. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; **19 Suppl 1**:S142-6

Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, Shusterman NH. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N Engl J Med* 1996; **334(21)**:1349-55

PASSAT. Tölg R, Witt M, Schwarz B, Kurz T, Kurowski V, Hartmann F, Geist V, Richardt G. Comparison of carvedilol and metoprolol in patients with acute myocardial infarction undergoing primary coronary intervention – the PASSAT Study. *Clin Res Cardiol* 2006; **95(1)**:31-41

Reimer KA, Rasmussen MM, Jennings RB. On the nature of protection by propranolol against myocardial necrosis after temporary coronary occlusion in dogs. *Am J Cardiol* 1976; **37(4)**:520-7

Richardt G, Münch G, Neumann FJ, Rauch B, Kurz T. Systemic and cardiac catecholamines during elective PTCA and during immediate PTCA for acute myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* 1997; **92(1)**:52-60

Richardt G, Richardt D, Adler S, Kraatz E, Nötzold A, Kurz T. Unique effects of carvedilol on noradrenaline release in the human heart. *Eur J Heart Fail* 2002; **4(2)**:147-9

Roberts R, Croft C, Gold HK, Hartwell TD, Jaffe AS, Muller JE, Mullin SM, Parker C, Passamani ER, Poole WK, et al. Effect of propranolol on myocardial-infarct size in a randomized blinded multicenter trial. *N Engl J Med* 1984; **311(4)**:218-25

Rona G. Catecholamine cardiotoxicity. *J Moll Cell Cardiol* 1985; **17(4)**:291-306

Ruffolo RR Jr, Gellai M, Hieble JP, Willette RN, Nichols AJ. The pharmacology of carvedilol. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; **38 Suppl 2**:S82-8

Schömig A, Dart AM, Dietz R, Mayer E, Kübler W. Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part A: Locally mediated release. *Circ Res* 1984; **55(5)**:689-701

Schömig A, Fischer S, Kurz T, Richardt G, Schömig E. Nonexocytotic release of endogenous noradrenaline in the ischemic and anoxic rat heart: mechanism and metabolic requirements. *Circ Res* 1987; **60(2)**:194-205

Schömig A. Catecholamines in myocardial ischemia. Systemic and cardiac release. *Circulation* 1990; **82(Suppl)**:II13-22

Schömig A, Richardt G. Cardiac sympathetic activity in myocardial ischemia: release and effects of noradrenaline. *Basic Res Cardiol* 1990; **85(Suppl)**:I9-30

Schömig A, Haass M, Richardt G. Catecholamine release and arrhythmias in acute myocardial ischemia. *Eur Heart J* 1991; **12(Suppl)**:F38-47

Seller H. Carl Ludwig and the localization of the medullary vasomotor center: old and new concepts of the generation of sympathetic tone. *Pflügers Arch* 1996; **432(3Suppl)**:R94-8

Seyfarth M, Feng Y, Hagl S, Sebening F, Richardt G, Schömig A. Effect of myocardial ischemia on stimulation-evoked noradrenaline release. Modulated neurotransmission in rat, guinea pig, and human cardiac tissue. *Circ Res* 1993; **73(3)**:496-502

Simons M, Downing SE. Coronary vasoconstriction and catecholamine cardiomyopathie. *Am Heart J* 1985; **109**:297-304

Sleight P. Beta blockade early in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1987; **60(2)**:6A-10A

Smedes F, Kraak JC, Poppe H. Simple and fast solvent extraction system for selective and quantitative isolation of adrenaline, noradrenaline and dopamine from plasma and urine. *J Chromatogr* 1982; **231(1)**:25-39

Starke K. Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1977; **77**:1-124

Starke K. Presynaptic receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1981; **21**:7-30

Starke K, Gothert M, Kilbinger H. Modulation of neurotransmitter release by presynaptic autoreceptors. *Physiol Rev* 1989; **69**(3):864-989

Strasser RH, Krimmer J, Braun-Dullaeus R, Marquetant R, Kübler W. Dual sensitization of the adrenergic system in early myocardial ischemia: independent regulation of the beta-adrenergic receptors and the adenylyl cyclase. *J Mol Cell Cardiol* 1990; **22**(12):1405-23

Tölg R, Kurz T, Ungerer M, Schreieck J, Görges B, Richardt G. Influence of alpha- and beta-adrenoceptor antagonists on ventricular fibrillation in ischemic rat hearts. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1997; **356**(1):62-8

Tölg R, Schreieck J, Kurz T, Katus HA, Richardt G. Ischemia-induced ventricular fibrillation in isolated perfused rat heart: role of alpha 1A-adrenoceptor mediated activation of protein kinase C. *Basic Res Cardiol* 2001; **96**(1):68-74

Videbaek J, Christensen NJ, Sterndorff B. Serial determination of plasma catecholamines in myocardial infarction. *Circulation* 1972; **46**(5):846-55

Waagstein F, Hjalmarson A, Varnauskas E, Wallentin I. Effect of beta-adrenergic receptor blockade in congestive cardiomyopathy. *Br Heart J* 1975; **37**(10):1022-36

Waldenström AP, Hjalmarson AC, Thornell L. A possible role of noradrenaline in the development of myocardial infarction: an experimental study in the isolated rat heart. *Am Heart J* 1978; **95**(1):43-51

Webb SW, Adgey AA, Pantridge JF. Autonomic disturbance at onset of acute myocardial infarction. *Br Med J* 1972; **3(818)**:89-92

Woodman OL, Vatner SF. Coronary vasoconstriction mediated by alpha 1- and alpha 2-adrenoceptors in conscious dogs. *Am J Physiol* 1987; **253(2Pt2)**:H388-93

Yamaguchi N, Naud M, Lamontagne D, Nadeau R, de Champlain J. Presynaptic inhibitory effects of sotalol, propranolol and acebutolol on noradrenaline release upon cardiac sympathetic nerve stimulation in anesthetized dogs. *Can J Physiol Pharmacol* 1986; **64(8)**:1076-84

Young MA, Vatner SF. Regulation of large coronary arteries. *Circ Res* 1986; **59(6)**:579-96

Yusuf S, Sleight P, Rossi P, Ramsdale D, Peto R, Furze L, Sterry H, Pearson M, Motwani R, Parish S, Gray R, Bennett D, Bray C. Reduction in infarct size, arrhythmias and chest pain by early intravenous beta blockade in suspected acute myocardial infarction. *Circulation* 1983; **67(6 Pt 2)**:I32-41

Yusuf S, Peto R, Lewis J, Collins R, Sleight P. Beta blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomized trials. *Prog Cardiovasc Dis* 1985; **27(5)**:335-71

Zhou H, Wood AJJ. Stereoselective disposition of carvedilol is determined by CYP2D6. *Clin Pharmacol Ther* 1995; **57**:518-24

7. Curriculum vitae

1977 – 1990 Schulausbildung, Abitur

anschließend Studium der Humanmedizin und Tätigkeit als Ärztin

8. Danksagung

Herrn PD Dr. Thomas Kurz und Herrn Prof. Dr. Hans Gert Richardt möchte ich für die Überlassung des Themas, für die intensive Betreuung, die anregenden fachlichen Diskussionen, die konstruktive Beratung und das Interesse am Fortgang der Arbeit ganz besonders danken.

Bei allen Mitarbeiterinnen des Katecholaminlabors der Medizinischen Klinik II des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, insbesondere bei Frau Ines Stölting, Frau Anke Constanz und Frau Cindy Krause, möchte ich mich sehr herzlich für die gute Zusammenarbeit, die Hilfsbereitschaft und technische Unterstützung bei der Versuchsdurchführung bedanken.

Schließlich möchte ich mich bei meiner Familie für das große Verständnis und die geduldige Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

9. Publikationsliste

Kurz T, Richardt D, Görges B, Hartmann F, Tölg R, Katus HA, Richardt G. Differential effects of carvedilol on norepinephrine release in normoxic and ischemic heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000; **36(1)**:96-100

Burgdorf C, Richardt D, Kurz T, Seyfarth M, Jain D, Katus HA, Richardt G. Adenosine inhibits norepinephrine release in the postischemic rat heart: the mechanism of neuronal stunning. *Cardiovasc Res* 2001; **49(4)**:713-20

Grimm M, Kurz T, Schwarz M, Richardt D, Schäfer U, Katus HA, Richardt G. Presynaptic regulation of cardiac norepinephrine release in ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; **38(1)**:58-68

Richardt G, Richardt D, Adler S, Kraatz E, Nötzold A, Kurz T. Unique effects of carvedilol on noradrenaline release in the human heart. *Eur J Heart Fail* 2002; **4(2)**:147-9

Richardt D, Wolfrum S, Buttner C, Schäfer U, Dendorfer A, Kurz T, Richardt G. Effect of ACE-inhibitor ramiprilat and AT1-receptor antagonist candesartan on cardiac norepinephrine release: comparison between ischemic and nonischemic conditions. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; **40(4)**:641-6

Burgdorf C, Richardt D, Kurz T, Richardt G. Presynaptic regulation of norepinephrine release in a model of nonfailing hypertrophied myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; **41(5)**:813-6

Burgdorf C, Richardt D, Kurz T, Adler S, Nötzold A, Kraatz EG, Sievers HH, Richardt G. Norepinephrine release is reduced in cardiac tissue of Type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 2003; **46(4)**:520-3

Richardt D, Dendorfer A, Tölg R, Dominiak P, Richardt G. Inhibition of nonexocytotic norepinephrine release by desipramine reduces myocardial infarction size. *Can J Phys Pharmacol*. 2006; **84(11)**:1185-9