

Dissertation

Funktionelle und toxische Effekte von Istaroxime im humanen
Myokard

eingereicht von

Dr. med. univ. Markus WALLNER

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizinischen Wissenschaft

(Dr. scient. med.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für Kardiologie

unter der Anleitung von

Assoz. Prof. PD Dr. Dirk von Lewinski

Graz, Juni 2014

Eidesstattliche Erklärung

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, Juni 2014

Dr. med. univ. Markus Wallner

Danksagung

Für die Entstehung der Dissertation benötigte ich nicht nur Zeit, ich war natürlich auch auf die Hilfe und Unterstützung einiger Personen angewiesen. Mein besonderer Dank gilt meinem Erstbetreuer, Assoz. Prof. PD Dr. Dirk von Lewinski, welcher mich fachlich und menschlich hervorragend die gesamte Zeit über betreute und mir mit seiner Erfahrung, seinem Engagement und seiner stets positiven Einstellung die Freude an der Wissenschaft vermitteln konnte. Ein weiteres Dankeschön gilt meinem Zweitbetreuer, Herrn Univ.-Prof. Dr. med. univ. Igor Knez, für die großartige Zusammenarbeit mit der Herzchirurgie. Ohne seine Unterstützung wäre es nicht möglich gewesen dieses einzigartige Herzinsuffizienz-Modell zu realisieren.

Großen Dank schulde ich auch den MitarbeiterInnen der Kardiologie, ganz besonders jedoch dem Abteilungsleiter Herrn Univ.-Prof. Dr. Burkert Pieske, der mir die Möglichkeit gab, an seiner Abteilung Forschung zu betreiben. Des Weiteren möchte ich mich auch bei Herrn Mag. Gerold Schwantzer für die Unterstützung bei der statistischen Aufarbeitung der akquirierten Daten bedanken. Auch vielen anderen Personen, die ich namentlich nicht erwähnt habe, gebührt mein Dank für die freundliche Unterstützung.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, welche mich all die Jahre bestmöglich in vielerlei Hinsicht unterstützte und immer großes Verständnis aufbrachte. Ein spezieller Dank geht an meinen Arbeitskollegen und Freund Dr. Mounir Khafaga für seine großartige und loyale Unterstützung. Ich danke auch meinem Freund Marcel Holzer für das aufwendige Korrekturlesen dieser Arbeit. Abschließend möchte ich mich noch bei meiner Freundin Tamara für die verständnisvolle Begleitung während der gesamten Zeit bedanken.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	II
Danksagung	III
Inhaltsverzeichnis.....	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	VII
Abbildungsverzeichnis.....	X
Tabellenverzeichnis.....	XIII
Zusammenfassung.....	XIV
Abstract.....	XV
1 Einführung.....	16
1.1 Herzinsuffizienz	16
1.1.1 Definition.....	16
1.1.2 Epidemiologie.....	16
1.1.3 Pathophysiologie	17
1.2 Elektromechanische Koppelung	22
1.3 Heart Failure with reduced/preserved Ejection Fraction.....	24
1.4 Medikamentöse Therapie der chronischen Herzinsuffizienz	26
1.5 Inotropika	30
1.6 Herzglykoside.....	30
1.7 Istaroxime.....	31
1.8 Fallot`sche Tetralogie	32
1.9 Fragestellung der Arbeit	33
2 Material und Methoden	34
2.1 Beschreibung der verwendeten Gewebeproben.....	34
2.1.1 Vorhofgewebe	34
2.1.2 Nicht insuffizientes ventrikuläres Myokard	35

2.1.3	Ventrikuläres Myokard von PatientInnen mit Fallot`scher Tetralogie	36
2.2	Transport und Präparation	37
2.2.1	Verwendete Materialien und Instrumente.....	37
2.2.2	Transport.....	38
2.2.3	Präparation der Trabekel.....	38
2.3	Die Messanlage	39
2.4	Versuchsvorbereitungen	41
2.5	Versuchsprotokolle	42
2.5.1	Dosiswirkungskurve.....	42
2.5.2	Kraft-Frequenzbeziehung	42
2.5.3	Pharmakologische Substanzen	42
2.6	Auswertung	43
2.6.1	Statistik.....	43
3	Ergebnisse	45
3.1	Funktionelle Effekte im humanen atrialen Myokard	45
3.1.1	Dosiswirkungskurve.....	45
3.1.2	Kraft-Frequenzbeziehung	46
3.2	Funktionelle Effekte im humanen nicht insuffizienten ventrikulären Myokard ...	48
3.2.1	Dosiswirkungskurve.....	48
3.2.2	Kraft-Frequenzbeziehung	49
3.3	Weiterführende Analyse der Kraft-Frequenzbeziehung.....	51
3.4	Fallot`sche Tetralogie - Funktionelle Effekte im ventrikulären Myokard	53
3.5	Analyse der maximal entwickelten Kraft: Atrium, Ventrikel und Fallot	55
4	Diskussion	58
4.1	Funktionelle und toxische Effekte von Istaroxime im humanem Myokard.....	58
4.2	Effekte von Istaroxime im humanen ventrikulären Myokard	59
4.3	Fallot`sche Tetralogie und diastolische Funktion	60

5	Zusammenfassung	64
6	Literaturverzeichnis	65
7	Anhang	77
7.1	Lebenslauf	77
7.2	Deskriptive Statistik.....	81

Abkürzungsverzeichnis

$(-)\text{dT}/\text{dt}_{\min}$	maximale Relaxationsgeschwindigkeit [mN/s]
$(+)\text{dT}/\text{dt}_{\max}$	maximale Kraftanstiegsgeschwindigkeit [mN/s]
ACE	Angiotensin converting enzym
ADP	Adenosindiphosphat
AK	Antikörper
AKE	Aortenklappenersatz
AT ₁ - Rezeptor	Angiotensin 1 - Rezeptor
AT ₂ - Rezeptor	Angiotensin 2 - Rezeptor
ATII	Angiotensin II
ATP	Adenosintriphosphat
BB	β-Blocker
BDM	2,3-Butandion-Monoxim
BMI	Body Mass Index
ca.	zirka
Ca ²⁺	Kalziumion
CABG	Coronary artery bypass graft
CaCl ₂	Calciumchlorid
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	Guanosin 3',5' - monophosphat
CMV	Cytomegalievirus
CO ₂	Kohlendioxid
CRT	Cardiac resynchronization therapy
DAG	Diacylglycerol
Diast. DF	Diastolische Dysfunktion
DIG	Digitalis
DIU	Diuretika
DM II	Diabetes Mellitus II
DT	Diastolische Kraft (diastolic tension)
DWK	Dosiswirkungskurve
EDFF	enddiastolic forward flow
EF	Ejektionsfraktion [%]
ESC	European Society of Cardiology
Fa.	Firma
HFpEF	Heart Failure with preserved Ejection Fraction
HFrEF	Heart Failure with reduced Ejection Fraction
Hz	Hertz [1/min]
I.E.	Internationale Einheiten
ICD	Implantierbarer Kardioverter-Defibrillator

IgG	Immunglobulin G
IP ₃	Inositoltriphosphat
K ⁺	Kaliumion
KCL	Kaliumchlorid
KFB	Kraft-Frequenzbeziehung
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
KHK	Koronare Herzkrankheit
LV	Linker Ventrikel
LVEDP	Left ventricular enddiastolic pressure
MgSO ₄	Magnesiumsulfat
mm	Millimeter
mN	Millinewton
ms	Millisekunden
n.b.	nicht bekannt
NA	Noradrenalin
Na ⁺	Natriumion
Na ⁺ /K ⁺ - ATPase	Natrium-Kalium Adenosintriphosphatase
NaCL	Natriumchlorid
NaHCO ₃	Natriumbicarbonat
neg.	negativ
NO	Stickstoffmonoxid
NYHA	New York Heart Association
O ₂	Sauerstoff
OAK	Orale Antikoagulation
PCWP	pulmonary capillary wedge pressure
PDE-5	Phosphodiesterase-5 Hemmer
PKA	Proteinkinase A
PKG	Proteinkinase G
pos.	positiv
PPI	Protonenpumpeninhibitor
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RT50%	Zeit vom Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft bis zur 50%igen Relaxation
RV	Rechter Ventrikel
SEM	Standardfehler
SERCA	sarcoendoplasmic reticulum calcium transport ATPase
sGC	soluble guanylate cyclase
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
ST	Systolische Kraft (systolic tension)
TAH	Thrombozytenaggregationshemmer
ToF	Tetralogy of Fallot

TPT	Zeit bis zum Erreichen der maximal entwickelten Kraft
V	Volt
V.a.	Verdacht auf
VHFA	Vorhofflimmerarrhythmie
VSD	Ventrikelseptumdefekt

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: aus Donald M. Bers; Nature 415, 198-205 (January 2002); Schematische Darstellung eines Kardiomyozyten; Prinzip der elektromechanischen Koppelung.	23
Abbildung 2: aus Komajda M, und Lam C S Eur Heart J 2014;35:1022-1032; Der NO-cGMP-PKG pathway steht im Fokus neuer therapeutischen Ansätze zur Therapie von HFpEF.	28
Abbildung 3: Arbeitsplatz mit Messanlage: (1)4er-Anlage Messeinheit; (2)Rollpumpe MC MS, Ismatec Zürich, Schweiz; (3)Stimulator STM1 (Scientific Instruments; (4)50ml Perfusorspritze; (5)Tyrodebecken mit Schlauchsystem.	39
Abbildung 4: Organbad mit Thermoblock; Minutiennadeln zum Fixieren der Trabekel; Force Transducer (schwarzes Element) zur Registrierung der kinetischen Parameter.....	40
Abbildung 5: Herzohr – Blick durch ein Mikroskop.	40
Abbildung 6: Isolierter und fixierter Trabekel.	40
Abbildung 7: Dosiswirkungskurve - atriales Myokard: Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin: Entwickelte Kraft in % von Baseline (BL)/Lmax (links); diastolische Kraft derselben Trabekel in mN/mm^2 (rechts); *= $p < 0.05$ vs. Baseline von Strophanthidin; #= $p < 0.05$ vs. Baseline von Istaroxime.....	45
Abbildung 8: Einfluss von Istaroxime (links) und Strophanthidin (rechts) auf die entwickelte Kraft in der Kraft-Frequenzbeziehung im atrialen Myokard; Sowohl Istaroxime als auch Strophanthidin führten zu einer geringen Verschlechterung der Kraft-Frequenzbeziehung, der Unterschied zur Baseline war allerdings statistisch nicht signifikant.	46
Abbildung 9: Einfluss von Istaroxime (links) und Strophanthidin (rechts) auf die diastolische Kraft (oben) bzw. RT50% (unten) in der Kraft-Frequenzbeziehung im atrialen Myokard; Zwischen Istaroxime und Strophanthidin konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden.	47
Abbildung 10: Dosiswirkungskurve – nicht insuffizientes ventrikuläres Myokard: Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin: Entwickelte Kraft in % von Baseline (BL)/Lmax (links); diastolische Kraft	

derselben Trabekel in mN/mm^2 (rechts); $*=p<0.05$ vs. Baseline von Strophanthidin; $\#<0.05$ vs. Baseline von Istaroxime. 48

Abbildung 11: Einfluss von Istaroxime (links) und Strophanthidin (rechts) auf die entwickelte Kraft in der Kraft-Frequenzbeziehung im ventrikulären Myokard. 49

Abbildung 12: Einfluss von Istaroxime (links) und Strophanthidin (rechts) auf die diastolische Kraft (oben) bzw. RT50% (unten) in der Kraft-Frequenzbeziehung im ventrikulären Myokard; Zwischen Istaroxime und Strophanthidin konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden. 50

Abbildung 13: Originalregistrierung einer Dosiswirkungskurve – nicht insuffizientes ventrikuläres Myokard; Die Trabekel wurden steigenden Konzentrationen von Strophanthidin (oben) bzw. Istaroxime (unten) ausgesetzt; Beide Substanzen bewirken einen dosisabhängigen positiv inotropen Effekt; In der entwickelten Kraft konnte zwischen Strophanthidin und Istaroxime kein statistisch signifikanter Unterschied beobachtet werden. 51

Abbildung 14: FFR Analysen im atrialen und ventrikulären Myokard; Istaroxime ($0.1\mu\text{mol/l}$) beeinflusst die maximal entwickelte Kraft in der FFR im selben Ausmaß wie Strophanthidin ($0.1\mu\text{mol/l}$), unabhängig von der Stimulationsfrequenz. (A) Box-Whisker-Plot der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] - Istaroxime verglichen mit Strophanthidin im atrialen Myokard; (B) Box-Whisker-Plot der diastolischen Kraft [mN/mm^2] zum Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft - Istaroxime verglichen mit Strophanthidin im atrialen Myokard; (C) Box-Whisker-Plot der RT50% [% von Baseline] zum Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft - Istaroxime verglichen mit Strophanthidin im atrialen Myokard; (D) Box-Whisker-Plot der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] - Istaroxime verglichen mit Strophanthidin im ventrikulären Myokard; (E) Box-Whisker-Plot der diastolischen Kraft [mN/mm^2] zum Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft - Istaroxime verglichen mit Strophanthidin im ventrikulären Myokard; (F) Box-Whisker-Plot der RT50% [% von Baseline] zum Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft - Istaroxime verglichen mit Strophanthidin im ventrikulären Myokard. °: Ausreißer (Werte zwischen 1,5 – 3-fachen IQR); *: Extreme Ausreißer (Werte > 3-fachen IQR). 52

Abbildung 15: Originalregistrierung eines ToF Trabekels; Nach Erhöhung der Istaroxime Konzentration auf $0.1\mu\text{mol/l}$ kommt es zu einem raschen Anstieg der entwickelten Kraft; Steady state wurde nach 30 min erreicht. 53

Abbildung 16: Dosiswirkungskurve – ventrikuläres ToF Myokard: Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin: Entwickelte Kraft in % von Baseline (BL)/Lmax (links); diastolische Kraft derselben Trabekel in mN/mm^2 (rechts); $*=p<0.05$ vs. Baseline von Strophanthidin; $\#<0.05$ vs. Baseline von Istaroxime 54

Abbildung 17: Dosiswirkungskurve: (A) Analyse der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] im Atrium, unabhängig von der Konzentration, bei welcher das Maximum erreicht wurde. Der Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin zeigte keinen Unterschied in der entwickelten Kraft; (B) Die Analyse der diastolischen Kraft [mN/mm^2] zum Zeitpunkt der entwickelten Kraft Maxima ergab keinen Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin. °: Ausreißer (Werte zwischen 1,5 – 3-fachen IQR); *: Extreme Ausreißer (Werte > 3-fachen IQR)..... 56

Abbildung 18: Dosiswirkungskurve: (A) Analyse der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] im Ventrikel, unabhängig von der Konzentration, bei welcher das Maximum erreicht wurde. Der Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin zeigte keinen Unterschied in der entwickelten Kraft; (B) Die Analyse der diastolischen Kraft [mN/mm^2] zum Zeitpunkt der entwickelten Kraft Maxima ergab keinen Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin. °: Ausreißer (Werte zwischen 1,5 – 3-fachen IQR); *: Extreme Ausreißer (Werte > 3-fachen IQR)..... 57

Abbildung 19: Dosiswirkungskurve: (A) Analyse der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] im ToF Ventrikel, unabhängig von der Konzentration, bei welcher das Maximum erreicht wurde. Der Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin zeigte einen signifikanten Unterschied in der entwickelten Kraft zwischen Istaroxime und Strophanthidin (#:p=0.009); (B) Die Analyse der diastolischen Kraft [mN/mm^2] zum Zeitpunkt der entwickelten Kraft Maxima ergab keinen Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin. °: Ausreißer (Werte zwischen 1,5 – 3-fachen IQR); *: Extreme Ausreißer (Werte > 3-fachen IQR)..... 57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: PatientInnen Demographie; atriale Trabekel. w=weiblich; m= männlich; Op=Operation; BMI=Body Mass Index; CABG=Coronary artery bypass graft; AKE=Aortenklappenersatz; SR=Sinusrhythmus; VHFA=Vorhofflimmerarrhythmie; EF=Ejection Fraction; Dias. DF=Diastolische Dysfunktion; DM II=Diabetes Mellitus II; T-ASS=Acetylsalicylsäure; AT II =Angiotensin II; ACE=Angiotensin Converting Enzyme..... 35

Tabelle 2: PatientInnen Demographie der nicht transplantierten Herzen; ventrikuläre Trabekel; Pat.=PatientInnen neg.=negativ; CMV=Cytomegalievirus; IgG=Immunglobulin G; pos.=positiv; Anti HBs AK= Anti Hepatitis B Antikörper; n.b.=nicht bekannt; pAVK=periphere arterielle Verschlusskrankheit; KHK=Koronare Herzkrankheit; EF=Ejection Fraction; DIU=Diuretika; OAK=Orale Antikoagulation; BB= β -Blocker; DIG=Digitalis; PPI=Protonenpumpeninhibitor; TAH=Thrombozytenaggregationshemmer; ACE=Angiotensin Converting Enzyme..... 36

Tabelle 3: PatientInnen Demographie der ToF Herzen; w=weiblich; m=männlich; Re-Op=Re-Operation; TAPSE=Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion; EF=Ejection Fraction; AV-Tachyarrh.=Atrioventrikuläre-Tachyarrhythmie..... 36

Tabelle 4: Zusammensetzung der modifizierten Tyrode 37

Tabelle 5: Aufgezeichnete Parameter; Bei jeder Muskelkontraktion wurden diese kinetischen Daten registriert und gespeichert. 43

Zusammenfassung

Hintergrund: Zur Behandlung von sowohl systolischer als auch diastolischer Herzinsuffizienz, vor allem in der akuten kardialen Dekompensation, kommen häufig positiv inotrope Substanzen zum Einsatz. Istaroxime ist eine neue Substanz mit einem dualen Wirkmechanismus. Zum einen wird die Natrium-Kalium ATPase (NKA) gehemmt und zum anderen die Sarcoendoplasmatische Reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) stimuliert. Verglichen mit den altbewährten NKA Inhibitoren, wie zum Beispiel Strophanthidin, gibt es wenige Erkenntnisse über die funktionellen Effekte von Istaroxime im gesunden und insuffizienten humanen Myokard.

Methode: Um die funktionellen Effekte von Istaroxime zu untersuchen, wurden atriale und ventrikuläre Trabekel von gesunden, normalen Herzen und rechtsventrikuläre Trabekel von Kindern mit Fallot'scher Tetralogie (ToF) verwendet. Letzteres stellt ein einzigartiges diastolisches Herzinsuffizienz-Modell dar.

Ergebnisse: Die funktionellen Effekte von Strophanthidin und Istaroxime waren im humanen atrialen und im nicht insuffizienten ventrikulären Myokard ähnlich und zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied. Im ToF Modell zeigte Strophanthidin und Istaroxime einen positiv inotropen dosisabhängigen Effekt, mit einem Maximum bei $0.3\mu\text{mol/l}$. In allen drei Gewebearten unterschieden sich die beiden Substanzen weder bezüglich der diastolischen Kraft noch bezüglich der RT50%. Die maximal entwickelte Kraft in den ToF Trabekeln war allerdings in der Istaroxime Gruppe signifikant höher verglichen mit der Strophanthidin Gruppe ($283 \pm 26\%$ von L_{max} vs. $186 \pm 21\%$ von L_{max} , $p=0.009$). In den atrialen und ventrikulären Trabekeln wurde dieser Unterschied nicht beobachtet. Sowohl die diastolische Kraft als auch die RT50% unterschieden sich zwischen den beiden Gruppen nicht. Im ToF Modell für diastolische Dysfunktion zeigte Istaroxime einen signifikant höheren maximalen inotropen Effekt verglichen mit Strophanthidin.

Konklusion: Eine kombinierte NKA Blockade und SERCA Aktivierung könnte bei der Behandlung diastolischer Funktionsstörungen positive Wirkungen entfalten.

Abstract

Objectives: Positive inotropic therapy can be crucial in conditions of impaired systolic and diastolic function. Istaroxime is a new drug that combines sodium-potassium ATPase inhibition with sarcoendoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) stimulation. Yet, compared to established inhibitors of the NKA such as strophanthidin, little is known about the functional effects of istaroxime in normal and failing human myocardium.

Methods: We used atrial and ventricular trabeculae obtained from normal hearts and from infants with tetralogy of Fallot (ToF) as a unique model of diastolic dysfunction. Our aim was to test functional effects of a combined NKA inhibition/SERCA stimulation.

Results: Strophanthidin and istaroxime revealed similar functional effects in human atrial and nonfailing ventricular myocardium. In ToF, we investigated the effects on developed force, diastolic force and on RT50%. Both drugs exhibited positive inotropic effects in a dose-dependent manner with a maximal inotropic effect at $0.3\mu\text{mol/l}$. In line with our findings for nonfailing atrium and ventricle, increasing the concentration further caused a reverse effect for both substances in ToF myocardium. Diastolic force and RT50 did not change with istaroxime or strophanthidin administration. The maximal developed force in ToF trabeculae was significantly higher in the istaroxime group than in the strophanthidin group ($283 \pm 26\%$ of baseline vs. $186 \pm 21\%$ of baseline, $p=0.009$). Such difference did not occur in atrial or in nonfailing ventricular trabeculae, and did not apply to diastolic force. Thus, in tetralogy of fallot, istaroxime has stronger maximal positive inotropic effects than strophanthidin.

Conclusions: We conclude that combined NKA inhibition/SERCA stimulation might be beneficial in conditions with impaired diastolic function as in ToF.

1 Einführung

1.1 Herzinsuffizienz

1.1.1 Definition

„Pathophysiologisch stellt die Herzinsuffizienz (HI) ein Syndrom aus kardial bedingter Minderperfusion lebenswichtiger Organe mit sekundärer neuro-humoraler Aktivierung und Schädigung dieser Organe (z.B. Niere) dar“ [1]. Klinisch äußert sich eine Herzinsuffizienz mit typischen Symptomen wie zum Beispiel Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Dyspnoe, Leistungsminderung, periphere Ödeme und Zeichen wie ein nach lateral verschobener Herzspitzenstoß, einem erhöhten Jugularvenendruck und pulmonale Rasselgeräusche [2]. Viele kardiologische Grunderkrankungen können im weiteren Verlauf in eine terminale Herzinsuffizienz übergehen. Die zwei häufigsten Ursachen für eine Herzinsuffizienz sind die Koronare Herzerkrankung (KHK, ischämische CMP) und eine chronische Drucküberlastung (Hypertensive Herzerkrankung). Ursächlich verantwortlich für eine Herzinsuffizienz können des Weiteren auch Klappenvitien, Tachyarrhythmien, virale Infektionen [3, 4], toxische Einflüsse wie Alkohol [5] und Medikamente [6], sowie auch idiopathische dilatative Kardiomyopathien mit genetischen Prädispositionen [7-9] sein.

1.1.2 Epidemiologie

Die Prävalenz von Herzinsuffizienz in Industrieländern liegt bei Erwachsenen bei ca. 1-2%, wobei es bei Menschen über 70 Jahren zu einer deutlichen Zunahme der Prävalenz bis zu 10% kommt [10]. Das Überleben mit Herzinsuffizienz nach Diagnosestellung hat sich in den letzten 30 Jahren verbessert. Die alterskorrigierte Sterberate hat abgenommen [11-13] und das mittlere Sterbealter von HerzinsuffizienzpatientInnen ist gestiegen [14, 15]. Trotz den neuesten Erkenntnissen und Fortschritten in der Diagnostik und Therapie liegt die 5-Jahres Mortalität bei ca. 50% und ist somit höher als die vieler Krebserkrankungen [16]. Die 30-Tage Mortalität von älteren amerikanischen hospitalisierten PatientInnen (Medicare PatientInnen: bundesstaatliche amerikanische Pflicht-Krankenversicherung für BürgerInnen über 65 Jahre bzw. BürgerInnen mit Behinderung) beträgt 10-12% [17]. Die 30-Tage-Rehospitalisierungsrate nach Entlassung beträgt 20-25% [18]. Interessanterweise steigt die Prävalenz von Herzinsuffizienz trotz einer beträchtlichen Verbesserung der

Prognose von einzelnen Herzerkrankungen wie z.B. dem akuten Koronarsyndrom, schwere arterielle Hypertension, Klappenvitien und angeborene Herzfehler, was auch als Herzinsuffizienz Paradoxon bezeichnet wird [19]. Drei mögliche Erklärungen werden in der rezenten Literatur diskutiert. Die Mortalität der einzelnen Entitäten konnte zwar gesenkt werden, die PatientInnen sind aber dennoch nicht geheilt. So konnte z.B. die Früh-Mortalität nach einem akutem Herzinfarkt im letzten halben Jahrhundert um 75% gesenkt werden [20]. Das Risiko allerdings, erneut ein koronares Ereignis, mit möglichem Verlust von myokardialer Masse zu erleiden und eine Herzinsuffizienz zu entwickeln, bleibt bestehen. Die zweite mögliche Erklärung könnte sein, dass mit zunehmendem Alter mehr und mehr Myozyten absterben und die Prävalenz von Komorbiditäten zunimmt. Zu den Komorbiditäten zählen chronische Niereninsuffizienz, Diabetes Mellitus Typ II, arterielle Hypertension, obstruktive Lungenerkrankungen und Arrhythmien (vor allem Vorhofflimmern) [21]. Die dritte Erklärungsmöglichkeit ist, dass die langsame Verbesserung der Herzinsuffizienzprognose zugleich die Prävalenz erhöht. Auf alle Fälle wird die Herzinsuffizienz, durch das zunehmende Alter der Bevölkerung, eines der größten Gesundheitsprobleme, sowohl in Industrie- als auch Entwicklungsländern, bleiben [19].

1.1.3 Pathophysiologie

Trotz der vielen unterschiedlichen Ätiologien findet sich bei einer Herzinsuffizienz typischerweise eine Hypertrophie der einzelnen Myozyten und eine Dilatation der Herzhöhlen. Dadurch kommt es zu charakteristischen hämodynamischen Veränderungen wie zu einer Erhöhung der enddiastolischen Füllungsdrücke sowie des totalen peripheren Widerstandes und zu einer Verminderung des Herzminutenvolumens. Durch die Veränderung der Hämodynamik treten Kompensationsmechanismen in Kraft, welche initial eine Verbesserung der hämodynamischen Situation bewirken, langfristig allerdings zu einer Verschlechterung und Progression der Herzinsuffizienz führen (Circulus Vitiosus). Prinzipiell können, aus herzmuskelmechanischer Sicht, fünf pathophysiologische Mechanismen für ein Myokardversagen verantwortlich sein.

- **Änderung der Herzfrequenz**
Bradykarde und tachykarde Herzrhythmusstörungen (Brady-/Tachymyopathien).

- **Änderung der Vorlast (Frank Starling Mechanismus)**
Volumenbelastung (z.B. Hypervolämie, Mitralsuffizienz, Aortensuffizienz) bzw. Volumenmangel; Durch eine Änderung der Vorlast wird die Aktin-Myosin Überlappung (Sarkomerlänge) und die Kalziumsensitivität der kontraktilen Proteine beeinflusst.

- **Änderung der Nachlast (Frank Starling Mechanismus)**
Druckbelastung des Herzens (z.B. arterielle / pulmonale Hypertonie) bzw. Druckentlastung.

- **Änderung der Kontraktilität**
Myokardinfarkt, primäre Kardiomyopathien, Intoxikationen.

- **Änderung der Ventrikeldehnbarkeit**
Diastolische Ventrikelfunktionsstörungen, Speicherkrankheiten, restriktive Kardiomyopathien, Myokardhypertrophien.

Regulation der Kontraktionskraft

Im Wesentlichen sind drei verschiedene Mechanismen für die Regulation der Kontraktionskraft verantwortlich. Die positive **Kraft-Längenbeziehung** wurde von den beiden Physiologen Otto Frank und Ernest Starling am isolierten Herzen als erstes beschrieben, daher auch der Name Frank-Starling Mechanismus. Experimentelle Tierstudien zeigten, dass dem Frank-Starling Mechanismus zum einen eine geringfügige Steigerung der intrazellulären Kalziumkonzentration und zum anderen eine sarkomerabhängige Erhöhung der Kalziumsensitivität der kontraktilen Proteine zu Grunde liegt [22, 23].

Die positive **Kraft-Frequenzbeziehung (Bowditch-Effekt)** wurde erstmals 1871 von Henry Pickering Bowditch: “On the peculiarities of excitability which the fibres of cardiac muscle show” beschrieben. Eine Zunahme der Stimulationsfrequenz im gesunden humanen

Myokard führt katecholaminunabhängig, durch eine intrazelluläre Zunahme der Kalziumkonzentration, zu einer Zunahme der myokardialen Inotropie. Mehrere Gruppen konnten zeigen, dass dieser Bowditch-Effekt im humanen insuffizienten Myokard aufgehoben bzw. die Kontraktionskraft bei höheren Stimulationsfrequenzen sogar abnimmt [24-26]. Diese negative Kraft-Frequenzbeziehung im insuffizienten humanen Myokard ist auf eine gestörte Kalziumhomöostase mit Abnahme der intrazellulären Kalziumkonzentration zurückzuführen. In erster Linie dürfte hierfür ein vermindertes Kalziumaufnahmevermögen des Sarkoplasmatischen Retikulums (SR) [27-30] und eine reduzierte SERCA Expression verantwortlich sein [25, 31]. Diese Ergebnisse konnten auch mit in-vivo Modellen bestätigt werden [32].

Der dritte wesentliche Mechanismus zur Regulation der Kontraktionskraft ist die **sympathoadrenerge Aktivierung**. Je nach Bedarf werden vom menschlichen Organismus das Herzminutenvolumen und die Kontraktionskraft durch eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems angepasst (bei körperlicher bzw. psychischer Belastung). Vermittelt wird die Zunahme der Inotropie durch adenylatzyklasegekoppelte β_1 - und β_2 -Adrenorezeptoren. Sowohl β_1 - als auch β_2 -Rezeptoren sind über ein stimulatorisches Guaninnukleotid bindendes Protein (G_s) an die Adenylatzyklase gekoppelt, welche vermehrt zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) aus ATP bildet. Zyklisches AMP aktiviert nachfolgend die Proteinkinase A (PKA), welche wiederum u.a. membranständige spannungsabhängige L-Typ Kalzium Kanäle, Ryanodin Rezeptoren (RyR2), Phospholamban oder Troponin I phosphorylieren. Die Phosphorylierung des L-Typ Kalziumkanals führt zu einer erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit und zu einer Aktivierung des langsamen Kalziumeinwärtsstromes. Diese Mechanismen sind für die positiv inotropen als auch positiv lusitropen myokardialen Effekte verantwortlich (weitere Details sind im Kapitel elektromechanische Koppelung angeführt). Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, dass sich im Myokard auch β_3 -Adrenorezeptoren befinden, welche anti-adrenerge Effekte auf die Kontraktilität vermitteln. Im Verlauf der Herzinsuffizienz kommt es zu Veränderungen des β -adrenergen Systems mit einer Abnahme der myokardialen β_1 -Rezeptor Dichte sowie einer Internalisierung von β -Rezeptoren [33-35].

Hypertrophie

Durch eine andauernde Druck- oder Volumenbelastung des Herzens mit zusätzlichem Verlust von Myokardmasse nach einem Herzinfarkt, kommt es zur Aktivierung von Wachstumsprozessen in nicht infarzierten Bereichen mit konsekutiver Hypertrophie und passagerer Zunahme der Inotropie [1]. Die Wandspannung lässt sich durch das Gesetz von Laplace wie folgt beschreiben: Die Wandspannung (σ) ist proportional zum Radius (r) und zum Druck (p) und umgekehrt proportional zur Wanddicke (d). Daraus ergibt sich, dass eine Myokardhypertrophie mit Zunahme der Wanddicke die Wandspannung zunächst senkt. Da die Kontraktilität umgekehrt proportional zur systolischen Wandspannung ist, bewirkt eine kompensatorische Hypertrophie eine Aufrechterhaltung der systolischen Pumpfunktion. Neben der Myokardhypertrophie kommt es im Herzen auch zu interstitiellen Veränderungen. Es kommt zu einer Zunahme des sehr zugfesten und kaum dehnbaren Kollagens im linken Ventrikel. Ab einem Kollagengehalt von ca. 20% tritt eine Kontraktilitätsminderung auf (Normwert: 2-4%).

Neurohumorale Aktivierung

Die neurohumorale Aktivierung spielt eine zentrale Rolle in der Entwicklung der Herzinsuffizienz. Eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems sowie die Ausschüttung von vasoaktiven Substanzen führen zu funktionellen und strukturellen Veränderungen in den einzelnen Organen, was wiederum zu einer Aggravierung der Grunderkrankung führt. Im gesamten kardiopulmonalen Gefäßsystem befinden sich sogenannte kardiopulmonale Barorezeptoren, welche vor allem für die Regulation des Füllungsdrucks des Herzens verantwortlich sind. Bei der Herzinsuffizienz kommt es zu einer Dysfunktion dieser Barorezeptoren mit generalisierter Aktivierung des Sympathikus. Therapeutisch versucht man, durch eine elektrische Baroreflex-Aktivierung, die autonome Balance im kardiovaskulären System wieder herzustellen. In Tierversuchen, wie auch in humanen klinischen Studien, konnten bereits die ersten positiven Ergebnisse veröffentlicht werden [36, 37].

Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Obwohl Tigerstedt und Bergmann bereits 1898 das Enzym Renin entdeckten und feststellten, dass Extrakte aus den Nieren einen blutdrucksteigernden Effekt aufweisen [38], ist das RAAS auch heute noch Gegenstand intensiver Forschungen. Aus Präprorenin wird durch proteolytische Abspaltung das inaktive Prorenin und letztendlich das aktive Renin. Renin ist eine Protease für das Angiotensinogen, welches vorwiegend in der Leber synthetisiert wird. Angiotensin RNA wurde aber auch im Herzen, im zentralen Nervensystem und der Niere nachgewiesen. Die Freisetzung von Renin aus dem juxtaglomerulären Apparat (Niere) wird durch drei Mechanismen getriggert: Abfall des intrarenalen Perfusionsdrucks, Reduktion der Natriumkonzentration im proximalen Teil des distalen Tubulus und durch eine β_1 -adrenerge Stimulation (Noradrenalin) der juxtaglomerulären Zellen durch Stimuli wie Stress, Schmerz oder Kälte. Renin setzt Angiotensinogen zu Angiotensin I um, welches wiederum durch das Angiotensin-Converting-Enzym proteolytisch gespalten wird und als Produkt Angiotensin II entstehen lässt. Angiotensin II interagiert mit membranständigen Rezeptoren (AT_1 - und AT_2 -Rezeptoren) und kann die Adenylatzyklase sowohl hemmen aber auch stimulieren. Des Weiteren kann der AT_1 II Effekt über den Phospholipase C pathway mit Bildung von Inositoltriphosphat (IP_3) und Diacylglycerol (DAG) vermittelt werden. Das Ergebnis ist eine Vasokonstriktion im Gefäßsystem und eine renale Mesangiumkontraktion. In der Nebennierenrinde führt AT_1 II zu einer Aldosteronfreisetzung mit konsekutiver Na^+ - und Wasserretention. AT_1 II spielt auch eine wichtige Rolle beim kardialen Remodeling. Neben einer Vorlast- und Nachlasterrhöhung führt AT_1 II zu strukturellen Veränderungen wie Mediahypertrophie in den Gefäßen, Myokardhypertrophie und Nephrosklerose [39-42]. All diese Kompensationsmechanismen führen kurzfristig zu einer Verbesserung der hämodynamischen Situation, langfristig allerdings sind diese maladaptiven Prozesse für die Progression der Herzinsuffizienz mitverantwortlich und sind daher auch Ziel therapeutischer Ansätze.

1.2 Elektromechanische Koppelung

Die elektromechanische Koppelung (*Abbildung 1*) beschreibt den Vorgang von der elektrischen Erregung des (Herz)Muskels bis zur mechanischen Kontraktion mit Auswurf des Schlagvolumens aus dem Herzen. Sydney Ringer konnte 1883 als Erster zeigen, dass ein Froschherz in einer kalziumfreien Flüssigkeit (ohne extrazelluläres Ca^{2+}) nicht kontrahieren kann [43]. In einer moderneren experimentellen Anordnung zeigte Rich 1988, dass nach Entfernen von Ca^{2+} aus dem Nährmedium, welches ventrikuläres Rattenmyokard umspülte, es zu einer raschen Beendigung der Kontraktion kam [44].

Nach Depolarisation des Sarkolemmis der Herzmuskelzelle öffnen sich die membranständigen spannungsabhängigen L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle (Dihydropyridin Rezeptoren) und ein kleiner Ca^{2+} -Einwärtsstrom erfolgt [45, 46]. 1983 wurde erstmals der Begriff Calcium-induced Calcium-release (CICR) formuliert [47]. Die einströmenden Ca^{2+} Ionen binden nun an Ryanodinrezeptoren, welche sich in der Membran des Sarkoplasmatischen Retikulums (SR) befinden. Diese Interaktion führt zu einer Öffnung der Ryanodinrezeptoren, was wiederum zu einer Ca^{2+} Freisetzung aus dem SR führt. Jede Öffnung führt zu Freisetzung sogenannter Ca^{2+} Sparks. Weitere mögliche Trigger für eine SR Ca^{2+} Freisetzung sind T-Typ bzw. Tetrodotoxin sensitive Kalziumkanäle, Ca^{2+} Einstrom über den Natrium/Kalzium Austauscher (NCX), gesteuert durch spannungsabhängige Natrium/Kalziumkanäle bzw. durch hohe Natriumkonzentrationen und veränderte Selektivität des Natriumkanals (permeabel für Ca^{2+}) durch PKA Aktivierung. Neben dem CICR gibt es noch zwei Ca^{2+} unabhängige Varianten Ca^{2+} aus dem SR freizusetzen. Zum einen die spannungsabhängige SR Ca^{2+} Freisetzung und zum anderen die Inositol(1,4,5,-)triphosphat (IP_3) induzierte SR Ca^{2+} Freisetzung [48]. Die Signaltransduktion verläuft sehr schnell und wird u.a. durch eine räumliche Nähe der sarkolemmalen L-Typ Kalziumkanäle, der Ryanodin Rezeptoren in den transversalen Tubuli und der terminalen Zisternen des SR ermöglicht [49]. Erst wenn der Ca^{2+} Einstrom einen Schwellenwert erreicht [50, 51], breitet sich der CICR Mechanismus über das gesamte SR aus und bewirkt eine massive Freisetzung von Ca^{2+} aus dem SR [47]. Eine Querbrückeninteraktion mit Kontraktion kann erst statt finden, wenn ausreichend Ca^{2+} in das Zytosol freigesetzt wurde [52].

Die Krafterzeugung durch die Aktin und Myosin Querbrückeninteraktion wurde unabhängig 1954 von 2 verschiedenen Forschergruppen als Gleitfilamenttheorie (sliding filaments) beschrieben und im Nature veröffentlicht [53, 54]. Ein exaktes Zusammenspiel

von kontraktilen Proteinen (Aktin, Myosin), Regulatorproteinen (Troponin, Tropomyosin) und Stützproteinen (Titin) ist notwendig, um eine myozytäre Kontraktion auslösen zu können. Zu Beginn des Querbrückenzyklus ist Aktin und Myosin fest miteinander verbunden. Erst durch die Bindung von Adenosintriphosphat (ATP) am Myosinköpfchen sinkt dessen Affinität zum Aktin. Myosin löst sich vom Aktin und ATP wird durch die Myosin ATPase zu Adenosindiphosphat (ADP) hydrolysiert. Zu diesem Zeitpunkt werden die Bindungsstellen fürs Myosinköpfchen am Aktin durch Tropomyosin blockiert. Erst durch den Anstieg der zytosolischen Kalziumkonzentration bindet das Troponin C vier Ca^{2+} Ionen, was zu einer Konformationsänderung des Troponin-Tropomyosinkomplexes führt und eine Querbrückenbindung zwischen Aktin und Myosin ermöglicht. Das Myosinköpfchen bindet in einem Winkel von 90° schwach ans Aktin. Durch die Freisetzung der Phosphatgruppe knickt das nun fest gebundene Myosinköpfchen in eine 45° Position und zieht sich somit weiter ins Aktin hinein. Somit gleiten die Aktinfilamente an den Myosinfilamente entlang, ohne dass sich die kontraktilen Filamente dabei selbst verkürzen. Nun löst sich auch noch das ADP vom Myosinkopf, die Bindungsstelle für ein neues ATP ist wieder frei und der Zyklus kann von vorne beginnen. Gleichzeitig kommt es zu einer Abnahme der Kalziumkonzentration in der Diastole, was zum ab diffundieren des Ca^{2+} vom Troponin C führt. Das Tropomyosin blockiert nun wieder die Bindungsstelle fürs Myosinköpfchen am Aktin und der Muskel erschlafft [55-58].

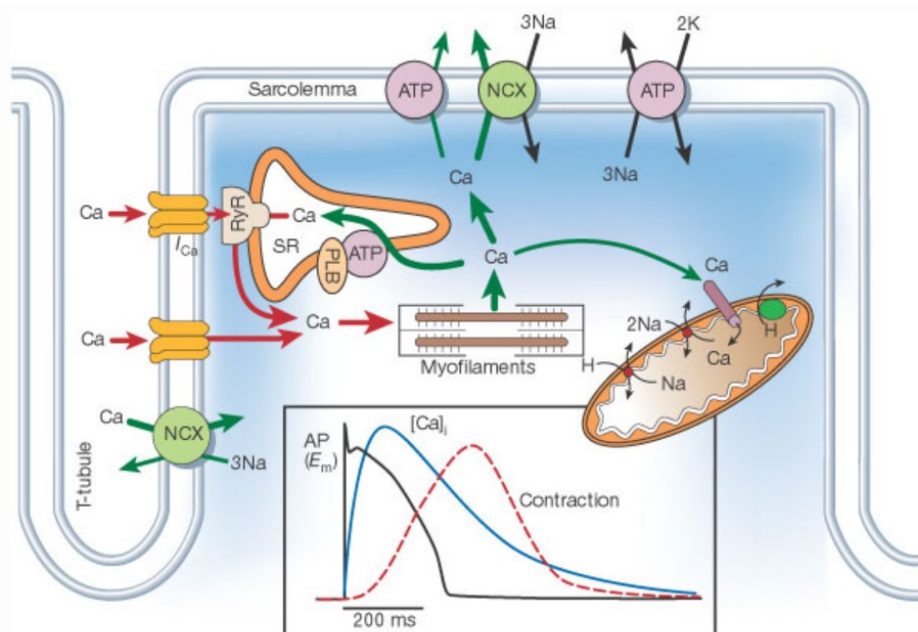


Abbildung 1: aus Donald M. Bers; Nature 415, 198-205 (January 2002); Schematische Darstellung eines Kardiomyozyten; Prinzip der elektromechanischen Kopplung.

1.3 Heart Failure with reduced/preserved Ejection Fraction

Herzinsuffizienz wird in zwei unterschiedliche Formen, der systolischen und der diastolischen Herzinsuffizienz, unterteilt. Im englischen Sprachgebrauch werden die Begriffe Heart Failure with reduced Ejection Fraction (HFrEF; systolische Herzinsuffizienz) bzw. Heart Failure with preserved Ejection Fraction (HFpEF; diastolische Herzinsuffizienz) verwendet. Epidemiologische Studien zeigen, dass ca. die Hälfte aller HI PatientInnen an HFpEF leiden [2]. Im Vergleich zu HFrEF hat sich die Prognose in HFpEF in den letzten Jahrzehnten nicht verbessert, nicht zuletzt auf Grund fehlender effektiver Therapien [59, 60]. Seit 20 Jahren wird intensiv an HFpEF geforscht und die Ergebnisse äußerst kontroversiell diskutiert. HFpEF scheint eine andere ätiologische und epidemiologische Grundlage zu besitzen als HFrEF [61, 62]. PatientInnen mit HFpEF sind verglichen mit HFrEF PatientInnen älter, adipöser und häufiger weiblich. Darüber hinaus ist eine Koronare Herzerkrankung bei HFpEF Patienten seltener zu finden, jedoch entwickeln sie häufiger arterielle Hypertensionen, Anämien und Vorhofflimmern. Allerdings ist die Prognose bei HFpEF besser verglichen mit HFrEF [63, 64].

Mittlerweile ist HFpEF in den neuesten ESC Guidelines für Heart Failure voll akzeptiert und verankert [2]. HFpEF präsentiert typische hämodynamische Veränderung wie erhöhte linksventrikuläre Füllungsdrücke (LVEDP) und eine gestörte systemische und pulmonale Vasorelaxation [65-67]. Bei PatientInnen mit HFpEF kommt es auch zu einer neurohumoralen Aktivierung wie bei HFrEF [68]. Die Frage, ob HFpEF nur ein transientes Stadium von HFrEF ist oder ob HFpEF eine eigenständige HI Entität darstellt, konnte bis dato nicht restlos geklärt werden. Es gibt einige Argumente, welche für Ersteres sprechen, wie z.B. eine unimodale Verteilung der EF in HI PatientInnen innerhalb des CHARM Programmes [69], eine geringe systolische Funktionsstörung in HFpEF PatientInnen oder umgekehrt, diastolische Dysfunktionen in HFrEF Kollektiven [70, 71]. Trotz einigen Überschneidungen gibt es fundamentale Unterschiede im linksventrikulären (LV) Remodeling und auf ultra-struktureller Ebene zwischen HFpEF und HFrEF. LV Dilatation (exzentrisches Remodeling) ist typisch für HFrEF, im Unterschied dazu ist der LV Durchmesser bei HFpEF normal oder fast normal mit einer Zunahme der Wanddicke in Relation zum LV Durchmesser (konzentrisches Remodeling) [72]. Dadurch ergeben sich auch funktionelle Unterschiede in den LV Druck-Volumen Kurven zwischen HFrEF und HFpEF. Diese Unterschiede könnten auch zumindest teilweise die Unwirksamkeit von arteriellen Vasodilatoren in klinischen HFpEF Studien erklären [73-75]. Des Weiteren

unterscheiden sich HF_rEF und HF_pEF auch auf zellulärer Ebene. In HF_rEF finden sich schmale und gestreckte Kardiomyozyten mit einer verminderten myofibrillären Dichte, hingegen finden sich bei HF_pEF vergrößerte Myozytendurchmesser und eine erhöhte Ruhespannung. Subzellulär unterscheidet sich die Zusammensetzung der Titin Isoformen. Bei HF_pEF verschiebt sich das Verhältnis zu Gunsten der steiferen Isoform [72].

HF_pEF PatientInnen weisen viele Komorbiditäten auf, sodass Kritiker HF_pEF nur als eine Sammlung dieser sehen. Mortalitätsvergleiche zwischen HF_pEF Studien und nicht HF_pEF Studien (Hypertension, Diabetes Mellitus, KHK) mit vergleichbarer Geschlechts-, Alters-, und Komorbiditätsverteilung zeigten signifikante Unterschiede. HF_pEF Studien zeigten viel höhere Mortalitätsraten verglichen mit nicht HF_pEF Studien [76]. Diese Ergebnisse sprechen auch dafür, dass HF_pEF eine unabhängige, eigenständig HI Entität ist.

Die exakte Diagnosestellung von HF_pEF ist nach wie vor eine Herausforderung und wird kontroversiell diskutiert. Laut ESC Guidelines müssen folgende drei Kriterien erfüllt sein: (1) klinische Zeichen und Symptome von HI; (2) Nachweis einer erhaltenen EF; und (3) Nachweis einer diastolischen Funktionsstörung und/oder eine pathologische LV Morphologie [2]. Keinen Konsens gibt es bis dato weder über die optimale EF Grenze, um eine erhaltene bzw. eine normale EF zu definieren, noch über den EF Graubereich zwischen 40-50%. Eine EF \geq 50% gilt als erhaltene systolische Pumpfunktion des Herzens.

1.4 Medikamentöse Therapie der chronischen Herzinsuffizienz

Ziel der HI Therapie ist es, die klinischen Symptome und Zeichen zu lindern und somit die Lebensqualität der PatientInnen zu verbessern, Hospitalisierungen zu vermeiden und das Überleben zu verbessern. Obwohl der Fokus der meisten HI Studien auf Mortalität lag, hat man mittlerweile aber erkannt, dass die Verhinderung von Rehospitalisierung extrem wichtig für PatientInnen und fürs Gesundheitssystem ist [77].

Therapie von HFrEF

- **Diuretika:** symptomatische Therapie bei Beinödemen und Lungenödem, keine Prognoseverbesserung (Mortalität, Hospitalisierung)
- **ACE Hemmer** [78, 79]: LV antiremodeling Effekt; verbessern die Prognose von HI; bei ACE Hemmer Unverträglichkeit wird ein Angiotensin-Rezeptor Antagonist empfohlen
- **β-Blocker** [80-82]: antiischämischer Effekt, leichte Verbesserung der EF, verbessern die Prognose von HI

Wenn der/die PatientIn trotz adäquater Basistherapie NYHA Klasse II-IV präsentiert, sollte laut ESC Guidelines von 2012 mit einem Aldosteronantagonisten begonnen werden. Bei weiterer Beschwerdepersistenz, $EF \leq 35\%$, Sinusrhythmus (SR) mit einer Herzfrequenz von $\geq 70/\text{min}$ wird Ivabradin empfohlen. Ivabradin ist ein sogenannter If-Kanal Blocker, welcher selektiv nur am Sinusknoten seine herzfrequenzsenkende Wirkung entfaltet. Herzglykoside (Digitalis) sind nach wie vor bei HI PatientInnen mit tachykardem Vorhofflimmern zur Frequenzsenkung und auch bei PatientInnen mit SR, $EF \leq 40\%$ und symptomatischer Herzinsuffizienz indiziert [2].

Ca. die Hälfte der PatientInnen mit HFrEF verstirbt plötzlich und unerwartet. Viele, wenn nicht die Meisten davon, versterben an ventrikulären Arrhythmien. Ein Implantierbarer-Kardioverter-Defibrillator (ICD) kann das Risiko an einer ventrikulären Arrhythmie zu versterben senken. Sowohl für die primäre als auch sekundäre (nach erlittenem Herzkreislaufstillstand bzw. bei symptomatischen, anhaltenden, ventrikulären Tachykardien) Prävention des plötzlichen Herztodes gibt es von der ESC eine Klasse I - Empfehlung (Evidenz-Level A). Bei PatientInnen mit Sinusrhythmus, Linksschenkelblock, NYHA III-IV, QRS Breite $\geq 120\text{ms}$ und einer $EF \leq 35\%$ mit einer Lebenserwartung > 1

Jahr empfiehlt die ESC (Klasse IA Empfehlung) eine Kardiale-Resynchronisationstherapie (CRT). Ein CRT Device kann das Hospitalisierungsrisiko auf Grund von HI und das Risiko eines vorzeitigen Todes reduzieren [2].

Therapie von HFpEF

Die aktuell verfügbaren medikamentösen therapeutischen Möglichkeiten zur spezifischen Behandlung von HFpEF sind limitiert und es besteht ein klarer Mangel an Evidenz. Die ESC empfiehlt den Einsatz von Diuretika zur Symptomkontrolle, optimale Therapie von arterieller Hypertension und KHK, sowie Herzfrequenzkontrolle, da eine hohe Herzfrequenz nur schlecht von einem steifen linken Ventrikel toleriert wird [2].

β-Blocker

Derzeit gibt es keine konklusive Evidenz dafür, dass β-Blocker oder Verapamil einen Nutzen in der Behandlung von HFpEF darstellen. Die ELANDD Studie zeigte, dass Nebivolol weder die Symptome noch die Leistungsfähigkeit von HFpEF PatientInnen positiv beeinflussen konnte. Es gab allerdings eine direkte Korrelation der Abnahme des maximalen Sauerstoffverbrauchs (VO_{2max}) und der Abnahme der Herzfrequenz in der Nebivolol Gruppe [83]. Das Optimize HF Register zeigte keine signifikante Beziehung zwischen dem Einsatz von β-Blockern bei der Entlassung und Mortalität und/oder Rehospitalisierungsrate in einem 60-90 Tage Follow-up [84].

ACE Hemmer

Es wurden drei Outcome Trials mit ACE Hemmern bzw. mit Angiotensin-Rezeptor Blockern durchgeführt. Sowohl CHARM Preserved [74] als auch PEP CHF [75] und I-Preserve [73] waren negativ bezogen auf deren primären Endpunkt. Diese Ergebnisse in HFpEF waren enttäuschend und brachten nicht, wie in den HFrEF Studien, den erhofften Nutzen. Eine großangelegte prospektive Kohortenstudie aus Schweden zeigte allerdings, dass der Einsatz von RAAS Antagonisten mit einer niedrigeren Gesamtmortalität assoziiert ist [85].

Digoxin

In einer Subgruppen Analyse des Digitalis Interaction Group Trial (DIG) wurden 988 HFpEF PatientInnen (EF > 45%) entweder mit Placebo bzw. Digoxin behandelt. Es konnte

kein Unterschied in der Gesamtmortalität, kardiovaskulären Mortalität und auch nicht im kombinierten Endpunkt (HI Tod, Hospitalisierung) nach einem Follow-up von 37 Monaten beobachtet werden. Lediglich ein Trend in der Reduktion der Hospitalisierungsrate war zu beobachten [86].

Neue therapeutische Strategien zur Behandlung von HFpEF

Im Fokus der HFpEF Forschung steht nun vor allem die endotheliale Dysfunktion und Inflammation, was zu einer Erniedrigung der Stickstoffmonoxid-Verfügbarkeit (NO) im Myozyten, weiters zu einer Reduktion des zyklischen Guanosin 3',5'-monophosphat (cGMP) Gehalts und zu einer verminderten Aktivität der Proteinkinase G (PKA) führt. Eine zentrale Rolle hierfür nimmt der NO-cGMP-PKG pathway ein (*Abbildung 2*).

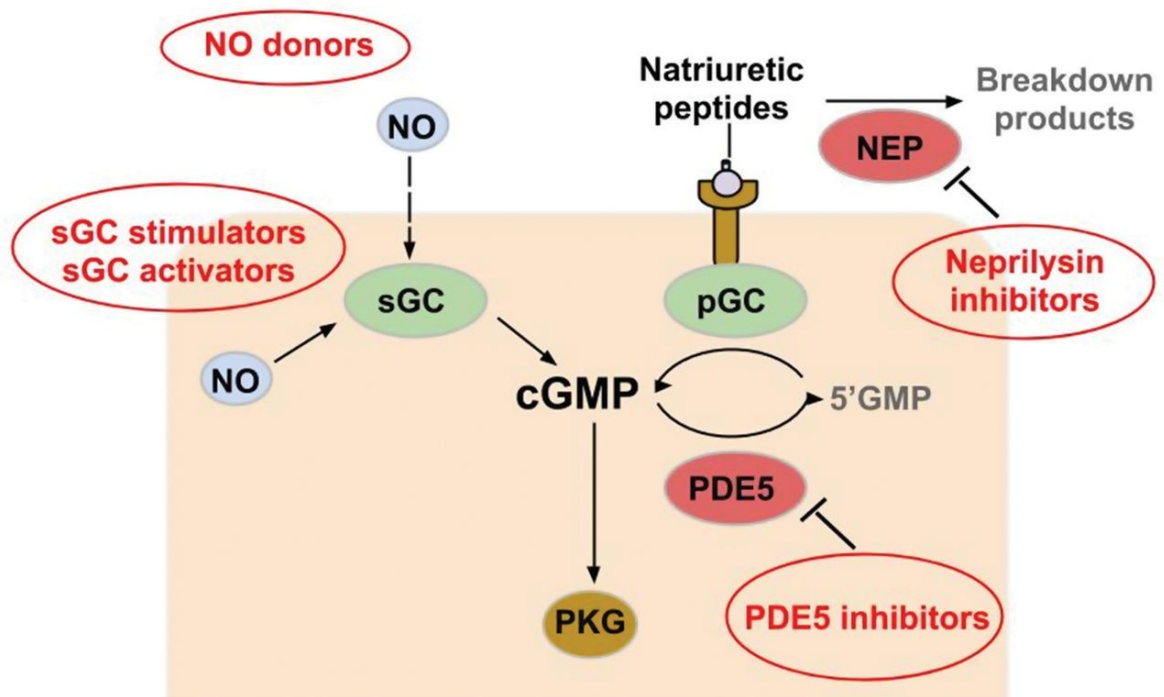


Abbildung 2: aus Komajda M, und Lam C S Eur Heart J 2014;35:1022-1032; Der NO-cGMP-PKG pathway steht im Fokus neuer therapeutischen Ansätze zur Therapie von HFpEF.

Im RELAX Trial wurde der Phosphodiesterase-5 Inhibitor Sildenafil in einem HFpEF Kollektiv untersucht. Nach 24 Wochen konnte kein positiver Effekt bezüglich maximaler Leistungsfähigkeit, 6 Minuten Gehdistanz, klinischer Symptomatik, Quality of Life, LV remodeling oder diastolischer Funktion beobachtet werden [87]. Eine mögliche Erklärung für die Unwirksamkeit von PDE-5 Inhibitoren ist, dass bei Vorliegen von HFpEF nicht der gesteigerte Abbau von cGMP, sondern vielmehr die verminderte Produktion das Problem darstellt. Deshalb gibt es Bestrebungen die cGMP Produktion zu stimulieren.

Der Angriffspunkt für diesen Versuch ist die lösliche Guanylatzyklase (sGC). Einerseits kann die Sensibilität der sGC auf endogenes NO durch Stabilisierung der sGC-NO Verbindung erhöht werden, andererseits kann die sGC NO-unabhängig direkt stimuliert werden. In der Socrates-preserved Studie (Phase IIB) wird ein neuer sGC Stimulator BAY1021189 an PatientInnen getestet, bei denen es auf Grund einer Verschlechterung der chronischen HFpEF zu einer Hospitalisierung kommt (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01951638). Der Neprilysin Inhibitor LCZ 696 ist ein komplexes Molekül, bestehend aus Valsartan und dem Neprilysin Inhibitor AHU377 und wurde in der PARAMOUNT Studie mit Valsartan verglichen. Der primäre Endpunkt, eine Reduktion der NT-proBNP Konzentration nach 12 Wochen wurde erreicht. Nach 36 Wochen kam es auch zu einer signifikanten Reduktion des linksatrialen Volumens in der Neprilysin Gruppe verglichen mit Valsartan [88]. Mit PARAGON-HF ist ein Outcome Trial mit LCZ 696 geplant (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01920711).

In ALDO-DHF wurden 422 HFpEF-PatientInnen entweder mit 25mg Spironolacton bzw. mit Placebo behandelt. Die diastolische Funktion (e/a gemessen im Herzultraschall mittels Dopplerverfahren) verbesserte sich in der Spironolacton Gruppe leicht. Dieser Unterschied war verglichen mit der Placebo Gruppe signifikant. Hingegen gab es keine Unterschiede in der Quality of Life, der Leistungsfähigkeit bzw. den klinischen Symptomen [89]. Der große Outcome Trial TOPCAT, in dem Spironolacton 45mg pro Tag gegen Placebo getestet wurde, verfehlte den primären kombinierten Endpunkt [90].

Die bisherigen Ergebnisse aus den klinischen HFpEF Studien waren bis dato enttäuschend. Es konnten viele neue Erkenntnisse über die zu Grunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen und mögliche neue, vielversprechende, therapeutische Ziele gewonnen werden. Allerdings werden weitere, gut konzipierte, randomisierte klinische Studien mit einer präzisen PatientInnenauswahl benötigt, um einen möglichen Durchbruch in der Therapie von HFpEF zu schaffen [72].

1.5 Inotropika

Klassische inotrope Substanzen wie z.B. β_1 -adrenerge Agonisten (Dobutamin, Adrenalin) und Phosphodiesterase-3 Hemmer (Milrinon, Enoximon) verbessern die klinischen Symptome und die Hämodynamik durch eine Erhöhung der intrazellulären freien Ca^{2+} -Konzentration. Nachteilig kommt es allerdings beim Einsatz von klassischen Inotropika auch zu einem erhöhten myokardialen Sauerstoffverbrauch und zu proarrhythmogenen Effekten [91]. Trotz der akuten Verbesserung der Hämodynamik spielen diese Inotropika, auf Grund ihrer ungünstigen Risikoprofile, keine Rolle in der chronischen HI Therapie [92-94]. Aus diesem Grund besteht ein dringender klinischer Bedarf für Medikamente, welche die kardiale Leistung verbessern, die aber auch sicher in der klinischen Anwendung sind [93, 95]. Die neuen Substanzgruppen an denen geforscht wird, reichen von Myosin Aktivatoren, Gentherapie, NO Donatoren, Ryanodin Rezeptor Stabilisatoren bis hin zu Medikamenten, welche den kardialen Energiestoffwechsel modulieren [93]. Einige neue Medikamente, wie Anti-Endothelin, Natriuretische Peptide, Istaroxime, Myosin Aktivatoren und Vasopressin-Antagonisten sind bereits in der präklinischen bzw. klinischen Phase und könnten eventuell in naher Zukunft Anwendung in der Therapie von HI finden [96].

1.6 Herzglykoside

Herzglykoside bestehen aus einem Aglykon, an welches glykosidisch drei Desoxyzucker gebunden sind und sind meist pflanzlicher Herkunft. 1982 fand man allerdings auch eine endogene, herzglykosid-ähnliche Substanz, welche später auf Grund ihrer Ähnlichkeit „ouabain like compound“ getauft wurde [97]. Die im klinischen Alltag eingesetzten Herzglykoside besitzen eine positiv inotrope und bathmotrope Wirkung und eine negative chronotrope und dromotrope Wirkung. Auf Grund der geringen therapeutischen Breite kann es zu einer Digitalis Überdosierung bzw. Digitalis Intoxikation, mit Arrhythmien und diastolischen Relaxationsstörungen, kommen.

Ihre Wirkung entfalten Herzglykoside durch Hemmung der transsarkolemmalen Na^+/K^+ -ATPase. Durch die Hemmung kommt es zu einem Anstieg der intrazellulären Na^+ -Konzentration, was wiederum zur Folge hat, dass der $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher (NCX) weniger Ca^{2+} aus der Zelle transportiert. Während der Depolarisation läuft der NCX in einem inverse-mode und bringt Ca^{2+} in und Na^+ aus der Zelle. Das vermehrte intrazelluläre

Ca^{2+} wird nun ins SR aufgenommen. Bei den nachfolgenden Kontraktionen steht dem Kardiomyozyt durch das CICR mehr Ca^{2+} zur Verfügung, was zu einer Zunahme der Kontraktionskraft führt. Das für die Versuchsreihe verwendete Strophanthidin wird aus der afrikanischen Buschpflanze *Strophantus gratus* gewonnen.

1.7 Istaroxime

Präklinische Forschungsergebnisse und klinische Studien konnten bereits zeigen, dass eine SERCA Aktivierung, kombiniert mit einer Na^+/K^+ -ATPase (NKA) Hemmung, sowohl einen positiven Effekt auf die myokardiale Kontraktilität (positiv inotrop) als auch positiven Einfluss auf die Relaxation (positiv lusitrop) hat. Hiermit würde sowohl die systolische als auch diastolische Funktion verbessert werden [98, 99].

Istaroxime, ein nicht-glykosidischer Inhibitor der NKA und SERCA Stimulator, verfügt über einen positiv inotropen und lusitropen Effekt, welcher sowohl in experimentellen als auch in klinischen Studien bereits gezeigt werden konnte [93]. Erste Daten in klinischen Studien zeigten, dass Istaroxime den pulmonalen kapillären Wedge Druck (PCWP) senkt und die diastolische Ventrikelfunktion verbessert, ohne dabei den myokardialen Sauerstoffverbrauch zu erhöhen. Darüber hinaus kam es durch Istaroxime zu keiner signifikanten Zunahme von ischämischen oder arrhythmogenen Ereignissen [94, 95]. Im Vergleich zu konventionell verfügbaren Inotropika erhöht Istaroxime den systolischen Blutdruck und senkt die Herzfrequenz [99, 100]. Ebenso könnte Istaroxime eventuell auch in der Pädiatrie eingesetzt werden [101]. Derzeit sind weitere neue Istaroxime Analoga in Entwicklung [102].

1.8 Fallot'sche Tetralogie

Um die funktionellen Effekte von Istaroxime in einem Modell mit diastolischer Funktionsstörung zu untersuchen, wurde humanes Myokard von PatientInnen mit Fallot'scher Tetralogie (ToF) verwendet. ToF ist der häufigste angeborene zyanotische Herzfehler, welcher erstmals 1672 von Stenson beschrieben wurde und später vom französischen Pathologen Étienne-Louis Arthur Fallot seinen Namen erhielt. ToF besteht aus vier angeborenen Veränderungen: (1) Pulmonalstenose, (2) Ventrikelseptumdefekt (VSD), (3) überreitende Aorta, (4) rechtsventrikuläre Hypertrophie [103]. Diese Fehlbildungen führen zu einem erniedrigten pulmonalen Blutfluss und einem Rechts-Links Shunt mit Hypoxie und Zyanose [104]. Normalerweise werden PatientInnen mit diagnostizierter ToF innerhalb der ersten sechs Monate operiert. Eine Totalkorrektur der angeborenen Anomalien wird in den meisten Fällen angestrebt (Mortalität von <2%) [103]. Prinzipiell stehen zwei unterschiedliche herzchirurgische Herangehensweisen zur Verfügung. Ein zweizeitiges Vorgehen mit einer vorübergehenden palliativen Korrektur, gefolgt von der endgültigen Totalkorrektur, oder eine frühe Totalkorrektur [104]. Die operative Korrektur kann zu einer signifikanten Pulmonalklappeninsuffizienz führen, was wiederum eine rechtsventrikuläre Dysfunktion, schlechte körperliche Belastbarkeit, Arrhythmien und plötzlichen Herztod zur Folge haben kann [105]. Aus diesem Grund kann ein Pulmonalklappenersatz in weiterer Folge notwendig werden, um die Volumenüberladung des rechten Ventrikels zu vermindern und dadurch die klinischen Symptome und die RV Funktion zu verbessern [105]. Die Indikation für einen Pulmonalklappenersatz nach einer ToF Korrektur wurde kürzlich auch auf asymptotische PatientInnen ausgeweitet [106]. Nach einer ToF Korrektur findet sich häufig eine restriktive RV-Physiologie mit typischem antegraden Fluss in der Pulmonalarterie in der späten Diastole zur Zeit der atrialen Kontraktion wieder [107]. Ca. 8% der operierten ToF-PatientInnen erleiden einen plötzlichen Herztod (meistens durch maligne Arrhythmien), was zu gleich auch eine der Haupttodesursachen bei Erwachsenen mit angeborenen Herzfehlern darstellt [108, 109].

1.9 Fragestellung der Arbeit

Alle verfügbaren zugelassenen inotropen Substanzen sind auf Grund ihrer potentiellen Arrhythmogenität und ihres Risikoprofils nur limitiert und nur mit einem adäquaten Monitoring einsetzbar. Die Therapie von HFpEF im speziellen ist für Kliniker nach wie vor eine ganz besondere Herausforderung, nicht zuletzt auch deshalb, weil die meisten HFpEF Studien enttäuschende Ergebnisse lieferten und die Prognose sich in den letzten Jahren nur unwesentlich verbessert hat. Eine genaue Charakterisierung subzellulärer Wirkmechanismen von inotropen Substanzen ist eine wesentliche Grundlage für die Weiterentwicklung von Medikamenten für die Behandlung von Herzinsuffizienz.

Die funktionellen Effekte von Istaroxime und Strophanthidin wurden sowohl in vitro im gesunden humanen atrialen und ventrikulären Myokard, als auch in einem humanen Modell für diastolische Funktionsstörung untersucht. Nach unserem Wissen ist es weltweit das erste Mal, dass Istaroxime im Myokard von Patienten mit diagnostizierter Fallot'schen Tetralogie getestet wurde.

Folgende Hypothesen wurden in der Arbeit überprüft

- Istaroxime führt, verglichen mit Strophanthidin, bei äquimolaren Konzentrationen zu einer höheren positiven Inotropie.
- Istaroxime führt, verglichen mit Strophanthidin, bei äquimolaren Konzentrationen zu einem geringeren Anstieg der diastolischen Kraft.
- Istaroxime führt zu einer Verbesserung der Relaxation. Die RT50% verlängert sich mit Istaroxime weniger stark als mit Strophanthidin.
- Toxische Effekte von Istaroxime treten erst bei höheren Konzentrationen auf, verglichen mit Strophanthidin.
- Funktionelle Unterschiede zwischen Istaroxime und Strophanthidin treten im Modell der diastolischen Dysfunktion stärker hervor als im gesunden Myokard.

2 Material und Methoden

2.1 Beschreibung der verwendeten Gewebeproben

Für die durchgeführten Experimente wurden drei unterschiedliche humane Gewebeproben verwendet: Nicht insuffizientes (1) atriales und (2) ventrikuläres Myokard, sowie Myokardproben aus (3) ToF Herzen mit diastolischer Dysfunktion.

2.1.1 Vorhofgewebe

Das humane Vorhofgewebe wurde im Rahmen von herzchirurgischen Operationen gewonnen. Bei Bypass- bzw. Klappenoperationen werden PatientInnen an eine extrakorporale Zirkulation (Herz-Lungen-Maschine) angeschlossen und das Herz mittels kardiopleger Lösung in einen Depolarisationsblock gebracht. Beim venösen Kanülierungsschritt wird der venöse Schenkel in das rechte Atrium eingebracht und im Zuge dessen das rechte Herzohr vom rechten Vorhof abgesetzt. Die Größe der Vorhoföhren variierte von Patient zu Patient und war im Schnitt ca. 2cm x 2cm x 1cm groß. Alle verwendeten Herzohren stammten aus herzchirurgischen Operationen, welche allesamt an der klinischen Abteilung für Herzchirurgie der Medizinischen Universität Graz stattfanden. Aus 22 humanen Herzohren wurden insgesamt 57 atriale Muskelstreifen (Trabekel) mit einer maximalen Querschnittsfläche von $\leq 0.9\text{cm}^2$ isoliert. Von den 57 Trabekeln wurden 21 für die Dosiswirkungskurven verwendet und 36 für die Kraft-Frequenzbeziehung. Die Muskelstreifen wurde vor Protokollbeginn auf eine optimale Länge (L_{max} /Baseline), an der eine maximale Kraftentwicklung zu beobachten war, vorgedehnt. Trabekel, welche bei L_{max} nicht mindestens 4mN/mm^2 Kraft (Systolische Kraft – Diastolische Kraft) entwickelten oder Arrhythmien aufwiesen, wurden für den Versuch nicht mehr verwendet. Die 57 Trabekel aus den 22 Herzohren haben alle die Qualitätskriterien erfüllt. Insgesamt wurden ca. 100 Trabekel aus 40 Herzohren isoliert. Tabelle 1 zeigt die PatientInnen Demographie der verwendeten Gewebeproben.

PatientInnen	n=22	%
Geschlecht w/m	7/15	32/68
Alter bei Op	72 ± 10	
BMI	27 ± 3	
CABG	15	68
AKE	8	36
SR/VHFA	15/7	68/32
EF (%)	51 ± 12	
Diast. DF	5	22
DM II	9	40
Medikamente		
T-ASS	11	50
Statine	17	77
AT II Antagonisten	3	13
ACE Hemmer	6	27
β-Blocker	15	68

Tabelle 1: PatientInnen Demographie; atriale Trabekel. w=weiblich; m= männlich; Op=Operation; BMI=Body Mass Index; CABG=Coronary artery bypass graft; AKE=Aortenklappenersatz; SR=Sinusrhythmus; VHFA=Vorhofflimmerarrhythmie; EF=Ejection Fraction; Dias. DF=Diastolische Dysfunktion; DM II=Diabetes Mellitus II; T-ASS=Acetylsalicylsäure; AT II =Angiotensin II; ACE=Angiotensin Converting Enzyme.

2.1.2 Nicht insuffizientes ventrikuläres Myokard

Das nicht insuffiziente ventrikuläre Gewebe stammt von herzgesunden OrganspenderInnen, deren Herzen aus verschiedenen Gründen nicht transplantiert werden konnten (*Tabelle 2*). Aus acht Herzen wurden insgesamt 32 ventrikuläre Trabekel isoliert. 18 Trabekel wurden für die Dosiswirkungskurve verwendet und 14 Trabekel für die Kraft-Frequenzbeziehung. Die Entnahme der acht Herzen erfolgte am LKH Graz. *Tabelle 2* zeigt die PatientInnen Demographie der verwendeten, nicht transplantierten Herzen.

Pat.	Alter	Virologie	Grund für Nicht-Transplantation	EF (%)	Medikamente
1	82	neg.	Alter	60	
2	61	CMV IgG pos	n.b.	60	DIU
3	70	CMV IgG pos	Alter	60	
4	40	neg.	v.a. Malignom	60	
5	74	CMV IgG pos	Alter	50-60	OAK, BB, DIG
6	64	Anti HBs AK pos.	pAVK, KHK	60	PPI, TAH, ACE
7	52	CMV IgG pos	n.b.	68	
8	61	neg.	Tumor	60	OAK

Tabelle 2: PatientInnen Demographie der nicht transplantierten Herzen; ventrikuläre Trabekel; Pat.=PatientInnen neg.=negativ; CMV=Cytomegalievirus; IgG=Immunglobulin G; pos.=positiv; Anti HBs AK= Anti Hepatitis B Antikörper; n.b.=nicht bekannt; pAVK=periphere arterielle Verschlusskrankheit; KHK=Koronare Herzkrankheit; EF=Ejection Fraction; DIU=Diuretika; OAK=Orale Antikoagulation; BB= β -Blocker; DIG=Digitalis; PPI=Protonenpumpeninhibitor; TAH=Thrombozytenaggregationshemmer; ACE=Angiotensin Converting Enzyme.

2.1.3 Ventrikuläres Myokard von PatientInnen mit Fallot'scher Tetralogie

PatientInnen mit ToF werden in der Regel in den ersten sechs Monaten am Herzen operiert. Im Rahmen der notwendigen operativen rechtsventrikulären Ausflusstrakt Modulation wurden rechtsventrikuläre Trabekel gewonnen. Aus acht ToF Herzen wurden insgesamt 19 Trabekel isoliert und eine Dosiswirkungskurve durchgeführt. Alle Operationen wurden am LKH Graz an der Klinischen Abteilung für Herzchirurgie durchgeführt. *Tabelle 3* zeigt die PatientInnen Demographie der ToF Gewebeproben.

Pat.	Alter	Geschlecht	Gewicht (kg)	Re-OP	TAPSE	EF (%)	Rhythmus
1	<1	w	7,6	nein	0.6	70	SR
2	3	m	12,2	nein	1.23	60	AV-Tachyarrh.
3	<1	m	7,02	nein	0.3	60	SR
4	7	m	17	nein	1.8	75	SR
5	4	w	9,3	ja	1.6	90	SR
6	5	m	14	nein	0.7	60	SR
7	3	m	12	ja	1.2	60	SR
8	35	m	79	ja	2.5	60	SR
9	14	w	47,9	ja	1.5	75	SR

Tabelle 3: PatientInnen Demographie der ToF Herzen; w=weiblich; m=männlich; Re-Op=Re-Operation; TAPSE=Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion; EF=Ejection Fraction; AV-Tachyarrh.=Atrioventrikuläre-Tachyarrhythmie.

2.2 Transport und Präparation

2.2.1 Verwendete Materialien und Instrumente

- Stereomikroskop: Fa. Olympus VMT, 10-fache Vergrößerung
- Kaltlichtquelle: Fa. Olympus Europe, Highlight 2100
- Transferpipette 5ml: Fa. Sarstedt AG&Co
- Plastik-Einwegbecher 100ml: Fa. Greiner bio-one
- Mikro Federschere Ger. 105mm: Fa. Braun Aesculap AG
- Mikro Pinzette Uhrmacher 0.2mm; 110mm: Fa. Braun Aesculap AG

Tyrodellösung

Als Nährmedium für den Transport, die Präparation und die Experimente wurde eine modifizierte Krebs-Henseleit Lösung verwendet. Die Zusammensetzung der Tyrode ist in *Tabelle 4* angeführt.

Substrat	Konzentration
NaCL	127 mmol/l
KCL	2.3 mmol/l
NaHCO₃	25 mmol/l
MgSO₄	0.6 mmol/l
KH₂PO₄	1.3 mmol/l
CaCl₂	0.2 mmol/l
Glukose	11.2 mmol/l
Altinsulin	5 I.E./l

Tabelle 4: Zusammensetzung der modifizierten Tyrode.

Die Tyrode wurde mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) begast und auf einen pH-Wert von 7.4 eingestellt. Um die Trabekel beim Transport und der Präparation zu schützen wurde der Tyrodellösung 2,3-Butandion-Monoxim (30mmol/l) zugeführt und die Temperatur auf 4°C gehalten. 2,3-Butandion-Monoxim (BDM) ist eine chemische Phosphatase, die eine reversible konzentrationsabhängige Hemmung der Aktin/Myosin Querbrückeninteraktion bewirkt [110, 111] und die Ca²⁺-Ansprechbarkeit der kontraktilen Proteine vermindert

[112, 113]. Bei einer BDM-Konzentration von 30mmol/l kommt es zu einer vollständigen Blockade der myokardialen Kraftentwicklung und zu einer Reduzierung des ATP Verbrauchs [111]. Unbeeinflusst von BDM sind hingegen die SR Ca^{2+} -Aufnahme [114], die Membran- und Aktionspotentiale [115] sowie die Troponin C Ca^{2+} -Sensitivität [112, 113]. BDM verhindert auch Trabekel-Kontraktionen während der Präparation, welche durch den mechanischen Stress und dem konsekutiv hohen Ca^{2+} -Einstrom entstehen können [116].

2.2.2 Transport

Die atrialen Gewebeproben wurden täglich direkt aus dem Operationssaal geholt. Bei der venösen Kanülierung wurde das rechte Herzohr von dem/der HerzchirurgIn abgeschnitten und vorsichtig mit einer Pinzette direkt in einen Einwegbecher mit 100ml BDM-versetzter, begaster und 4°C gekühlter Tyrode transferiert. Der Transport vom Operationssaal ins Labor dauerte ca. zehn Minuten. Unmittelbar nach dem Eintreffen im Labor wurde die Transportlösung durch frisch-begaste (Carbogen) und gekühlte Tyrodelösung ersetzt. Die Gewebeproben der Fallot'schen Herzen und der nicht insuffizienten ventrikulären Proben wurde exakt auf dieselbe Weise transportiert.

2.2.3 Präparation der Trabekel

Das Herzgewebe wurde vorsichtig vom Transportbecher in eine Präparierschale mit präoxygenierter BDM-Tyrode-Lösung transferiert. Mit der Hilfe eines Stereomikroskops mit 10-facher Vergrößerung wurden nun möglichst lange, unverzweigte Trabekel (Muskelstreifen) freipräpariert. Für die Präparation wurden mikrochirurgische Scheren und Pinzetten verwendet. Es wurden nur Trabekel mit einer Querschnittsfläche $<0,9\text{mm}^2$ für die Experimente verwendet. Trabekel, die eine größere Querschnittsfläche aufweisen, bergen die Gefahr, dass die inneren Schichten eine Hypoxie erleiden [117]. Bei der Präparation wurde vor allem darauf geachtet, möglichst atraumatisch und vorsichtig zu arbeiten und jegliche Dehnung der Trabekel zu vermeiden. Aus diesem Grund wurde auch darauf verzichtet, das Gewebestück mit einer Nadel zu fixieren. Die frei präparierten Trabekel wurden anschließend mit einer Transferpipette in einen Einwegbecher mit präoxygenierter BDM-Tyrode-Lösung übertragen. Damit sich die Trabekel von dem mechanischen Stress erholen konnten, wurden sie bei 4°C für zehn Minuten gelagert.

2.3 Die Messanlage

Aufbau der Messanlage (*Abbildung 3*)

- 4er-Anlage Messeinheit: Basisgerät zur Messung isometrischer Kontraktionskraft Typ OPTIL mit Force Transducer KG3 (Scientific Instruments) (1)
- Rollpumpe MC MS, Ismatec Zürich, Schweiz (2)
- Stimulator STM1 (Scientific Instruments) (3)
- 50ml Perfusorspritze für den Auswaschvorgang von BDM (4)
- Tyrodebecken mit Schlauchsystem (5)
- Stereomikroskop: Fa. Olympus VMT, 10-fache Vergrößerung
- 4-Kanal Thermoschreiber Graphtec Linearcorder WR 3320
- Computer mit Labview

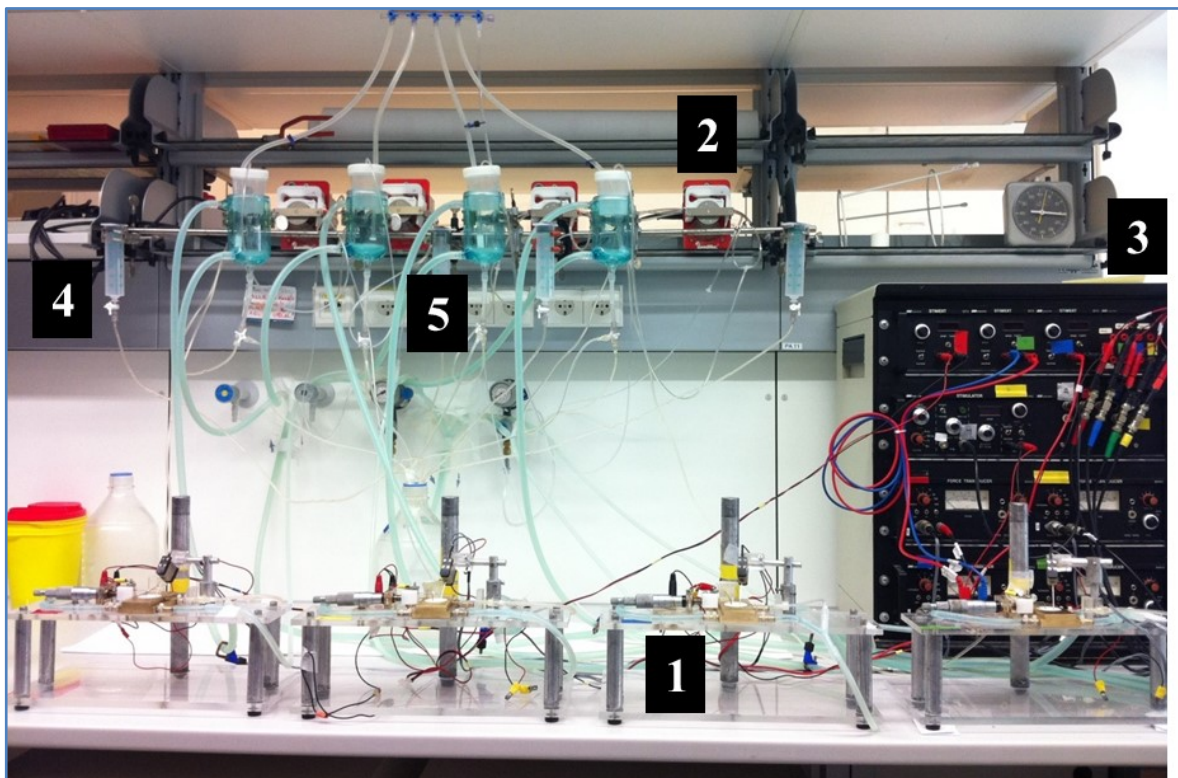


Abbildung 3: Arbeitsplatz mit Messanlage: (1)4er-Anlage Messeinheit; (2)Rollpumpe MC MS, Ismatec Zürich, Schweiz; (3)Stimulator STM1 (Scientific Instruments); (4)50ml Perfusorspritze; (5)Tyrodebecken mit Schlauchsystem.

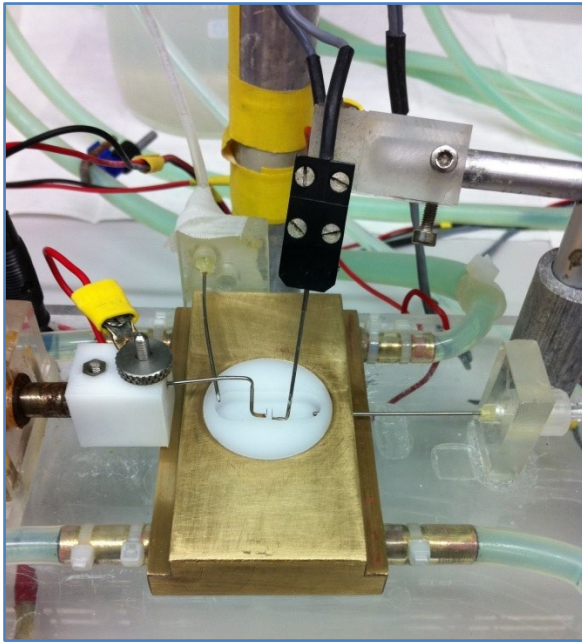


Abbildung 4: Organbad mit Thermoblock; Minutiennadeln zum Fixieren der Trabekel; Force Transducer (schwarzes Element) zur Registrierung der kinetischen Parameter.



Abbildung 5: Herzohr – Blick durch ein Mikroskop.

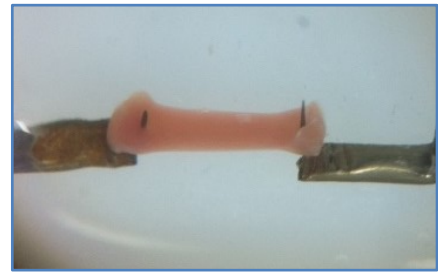


Abbildung 6: Isolierter und fixierter Trabekel.

Die Anlage besteht aus vier Messkanälen. Demnach können vier Trabekel simultan gemessen werden. Während des gesamten Experimentes befindet sich der Trabekel in einem Organbad (Abbildung 4), aufgehängt auf zwei eigens präparierten Minutiennadeln. Das Organbad besteht aus Teflon und wurde speziell für diese Versuchsanordnung vom Institut für Physik in Graz produziert. Das Organbad ist in einem Thermoblock eingefasst. Die modifizierte Tyrodelösung befindet sich in den Tyrodebehältern, in welchen sie während des gesamten Versuches mit Carbogen über Fritten begast wird. Mit Hilfe einer Rollpumpe wird die begaste Tyrode durch ein Schlauchsystem ins Organbad gepumpt, umspült den Trabekel und wird am Ende des Bades wieder abgesaugt und zurück ins Tyrodebecken geführt. Die Tyrode wurde während des gesamten Versuches konstant auf einer Temperatur von 37°C gehalten. Ein Wärmebecken erhitzt eine Trägerflüssigkeit und pumpt diese im Gegenstromprinzip durch ein Schlauchsystem, in welchem sich die kleineren Schläuche des Tyrodekreislaufes befinden. Die Temperatur im Organbad wird regelmäßig während des gesamten Experimentes gemessen. Zusätzlich besitzt die Anlage vier Perfusorspritzen, welche als Behältnis zum Auswaschen der BDM Lösung dienen. Die Stimulation der Trabekel erfolgte durch einen Stimulator. Frequenz, Stärke und Dauer des Impulses können verändert werden. Ein Ende des Trabekles ist mit einer Mikrometerschraube verbunden, zur Veränderung der Vorlast (Dehnung) des Trabekels.

Das andere Ende des Trabekels ist mit einem Force Transducer verbunden, welcher die kinetischen Daten abnimmt und analog an einen Thermoschreiber bzw. digital an einen Computer übermittelt.

2.4 Versuchsvorbereitungen

Die präparierten Trabekel wurden mit einer Transferpipette vorsichtig in das Organbad transferiert. Da die Trabekel bei der Fixation auf die Minutiennadel (*Abbildung 6*) wieder mechanischem Stress ausgesetzt waren, wurde dieser Schritt wiederum unter „BDM-Schutz“ durchgeführt. Nachdem alle vier Trabekel fixiert waren, wurde fünf Minuten gewartet, damit sich die Trabekel vom mechanischen Stress erholen konnten. Im nächsten Schritt wurde die BDM Lösung im Organbad durch BDM-freie Tyrode ersetzt, indem die ersten 40ml Flüssigkeit aus der Messanlage in die Perfusorspritzen abgepumpt wurden. Danach wurde der Kreislauf geschlossen und mit der elektrischen Stimulation des Trabekels mit einem Hertz (Hz) und einem Rechteckimpuls von 2,5ms begonnen. Dabei wurde die Spannung so lange langsam erhöht, bis es zur ersten Kontraktion des Muskelstreifens kam (Schwellenpotential). Die Spannung wurde dann um weitere 20% erhöht, um eine konstante und suffiziente Stimulation des Trabekels während des gesamten Versuches zu gewährleisten. Nach dem Erreichen eines steady state wurde die Kalziumkonzentration in der Tyrode in zwei Schritten von 0.2 μ mol/l auf 1.2 bzw. 2.5 μ mol/l erhöht. Dadurch kam es zu einem Anstieg der entwickelten Kontraktionskraft. Nachdem wiederum ein steady state erreicht wurde, begann die schrittweise (0.05mm) Vordehnung der Trabekel auf L_{max} (Baseline; BL). L_{max} war definiert als jene Vordehnung, bei denen die Trabekel eine maximale isometrische Kraft entwickelten. Die isometrische Kontraktionskraftamplitude ist die Differenz zwischen systolischer und diastolischer Kraftentwicklung des Muskelstreifens. Für die Experimente wurden ausschließlich Trabekel verwendet, welche bei L_{max} eine isometrische Kraft von >4mN/mm² aufwiesen und bei welchen bis zu diesem Zeitpunkt keine arrhythmischen Ereignisse auftraten. L_{max} war für alle durchgeführten Experimente die Ausgangskondition.

2.5 Versuchsprotokolle

2.5.1 Dosiswirkungskurve

Nach Erreichen von L_{max} wurden die Trabekel steigenden Konzentrationen (0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 0.5 und 1 $\mu\text{mol/l}$) von Istaroxime bzw. Strophanthidin ausgesetzt. Nach jeder Konzentrationserhöhung wurde 30 Minuten gewartet und anschließend wurden die einzelnen Signale (isometrische Kontraktionen) mittels Thermoschreiber (analog) im Schnellschrieb bzw. in digitaler Form am Computer gespeichert.

2.5.2 Kraft-Frequenzbeziehung

Nach Erreichen von L_{max} wurde die Stimulationsfrequenz auf 0.5Hz verringert und danach in 0.5Hz Schritten wieder bis auf 3Hz erhöht. Nach jeweils fünf Minuten war ein steady state erreicht und die Daten wurden, wie oben beschrieben, digital und analog registriert. Nach dem Durchlauf der Kraft-Frequenzbeziehung wurde die Stimulationsfrequenz wieder auf 1Hz gesenkt. Anschließend wurden die Trabekel für 30 Minuten entweder mit 0.1 $\mu\text{mol/l}$ Istaroxime bzw. Strophanthidin inkubiert. Nach Erreichen des steady states wurde nochmals eine Kraft-Frequenzbeziehung (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0Hz) durchgeführt.

2.5.3 Pharmakologische Substanzen

Istaroxime wurde von SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A., Rome – Italy zur Verfügung gestellt. Strophanthidin wurde von Calbiochem bezogen.

2.6 Auswertung

Die generierten Daten beruhen auf Einzelkontraktion der Muskelstreifen bzw. gemittelten Werten mehrerer Kontraktionen. Tabelle 5 zeigt die aufgezeichneten und gespeicherten Parameter im Überblick. Für eine bessere Vergleichbarkeit der generierten Kraftdaten wurden diese auf die Querschnittsfläche der Trabekel normiert.

F [mN]	Amplitude der entwickelten isometrischen Kraft
DT [mN/mm²]	Diastolische Kraft (diastolic tension)
ST [mN/mm²]	Systolische Kraft (systolic tension)
TPT [ms]	Zeit bis zum Erreichen der maximal entwickelten Kraft
(+)dT/dt_{max} [mN/s]	Maximale Kraftanstiegsgeschwindigkeit
(-)dT/dt_{min} [mN/s]	Maximale Relaxationsgeschwindigkeit
RT_{50%} [ms]	Zeit vom Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft bis zur 50%igen Relaxation

Tabelle 5: Aufgezeichnete Parameter; Bei jeder Muskelkontraktion wurden diese kinetischen Daten registriert und gespeichert.

2.6.1 Statistik

Es wurde für alle drei Gewebearten (Vorhof, nicht insuffizienter Ventrikel, ToF-Ventrikel) eine eigene Varianzanalyse für wiederholte Messungen (rmANOVA) mit den rangtransformierten Daten der kinetischen Parameter (entwickelte Kraft, diastolische Kraft, RT50%) durchgeführt. Neben den Haupteffekten der Konzentrationsstufe (Baseline, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 0.5, 1) als Innersubjektfaktor und der Gruppe (Istaroxime und Strophanthidin) als Zwischensubjektfaktor wurden Kontraste definiert, um sowohl im Gesamten als auch innerhalb jeder Gruppe zu testen, welche Konzentrationsstufen sich von der Baseline unterscheiden und um innerhalb jeder einzelnen Konzentrationsstufe zu testen, ob sich Istaroxime und Strophanthidin voneinander unterscheiden, sowie Kontraste um eine signifikante Interaktion Gruppe*Konzentration in zwei aufeinanderfolgenden Konzentrationsstufen zu erkennen. P-Werte für Mehrfachvergleiche wurden Bonferroni-korrigiert. Unterschiede zwischen Istaroxime and Strophanthidin in der maximal entwickelten Kraft, sowie Unterschiede in der dazugehörigen diastolischen Kraft und der RT50% unabhängig von der Konzentration, bei welcher die maximal entwickelte Kraft erreicht wurde, wurde mit dem Wilcoxon Rangsummentest getestet. P-Werte kleiner als

0.05 wurden als statistisch signifikant angesehen. Die statistischen Berechnungen sind mit dem Softwarepaket IBM SPSS Statistics (Version 21.0.0.0 2012, Armonk (NY), USA: International Business Machines Corporation) durchgeführt worden.

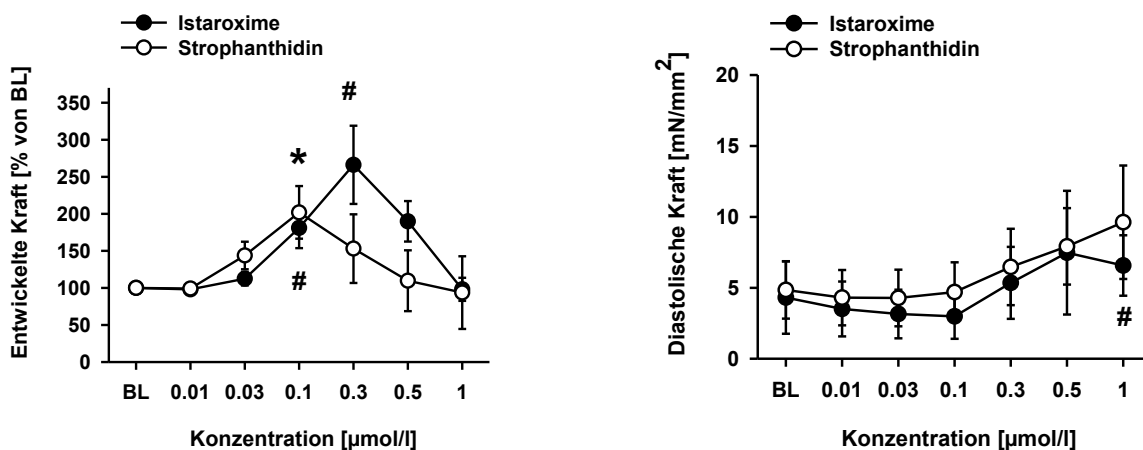
3 Ergebnisse

3.1 Funktionelle Effekte im humanen atrialen Myokard

3.1.1 Dosiswirkungskurve

Die funktionellen und toxischen Effekte von Strophanthidin im insuffizienten Myokard wurden in früheren Studien beschrieben [118]. *Abbildung 7* (links) zeigt die dosisabhängige entwickelte Kraft in atrialen Trabekeln nach Istaroxime (n=13) bzw. Strophanthidin (n=8) Zugabe. Steigende Konzentrationen von Strophanthidin führten zu einem Anstieg der entwickelten Kraft mit einem maximalen Effekt (201.9% ± 35.6% von Lmax) bei 0.1 µmol/l. Eine weitere Steigerung der Konzentration führte zu einer Abnahme der entwickelten Kraft. Ein ähnliches Ergebnis ergab die Dosiswirkungskurve mit Istaroxime (schwarze Kreise). Das Maximum der entwickelten Kraft (266.2% ± 52.8% von Lmax) wurde bei 0.3 µmol/l Istaroxime erreicht, eine weitere Konzentrationserhöhung führte auch bei Istaroxime zu einer Abnahme der entwickelten Kraft. *Abbildung 7* (rechts) zeigt den Einfluss von Strophanthidin bzw. Istaroxime auf die diastolische Kraft in denselben Trabekeln, in denen zuvor die entwickelte Kraft gemessen wurde. Beide Substanzen führten zu einem leichten, dosisabhängigen Anstieg der diastolischen Kraft verglichen zu Lmax.

Atrium - DWK



*Abbildung 7: Dosiswirkungskurve - atriales Myokard: Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin: Entwickelte Kraft in % von Baseline (BL)/Lmax (links); diastolische Kraft derselben Trabekel in mN/mm² (rechts); *=*p*<0.05 vs. Baseline von Strophanthidin; #=<0.05 vs. Baseline von Istaroxime.*

3.1.2 Kraft-Frequenzbeziehung

Als Nächstes wurde der Einfluss von Strophanthidin (n=17) und Istaroxime (n=19) auf die Kraft-Frequenzbeziehung untersucht. Zunächst wurde die Stimulationsfrequenz von 0.5Hz auf 3Hz erhöht. Danach wurden die Trabekel mit 1Hz stimuliert, mit 0.1µmol/l Strophanthidin bzw. Istaroxime für 30 Minuten inkubiert und nach Erreichen des steady states erneut eine Kraft-Frequenzbeziehung durchgeführt. Vor Zugabe der Substanzen kam es in beiden Gruppen am Beginn der Kraft-Frequenzbeziehung zu einem Anstieg der entwickelten isometrischen Kraft. Das Maximum der entwickelten Kraft (vor Inkubation) lag in der Istaroxime Gruppe bei $147.4\% \pm 14.7\%$ bezogen auf den Ausgangswert 0.5Hz (=100%) und in der Strophanthidin Gruppe bei $161.6\% \pm 18.3\%$. Erst bei höheren Stimulationsfrequenzen kam es zu einem Abfall der entwickelten Kraft (schwarze Kreise in *Abbildung 8*). Sowohl Istaroxime als auch Strophanthidin zeigten bei 0.1µmol/l einen signifikanten positiven inotropen Effekt nach 30 Minuten (entwickelte Kraft $191.1\% \pm 28.5\%$ bzw. $214.1\% \pm 14.0\%$ vom Ausgangswert bei 1 Hz). Die erneut durchgeführte Kraft-Frequenzbeziehung war nun in beiden Gruppen geringfügig schlechter verglichen mit ihren nativen Kraft-Frequenzbeziehungen. Die maximal entwickelte Kraft bei steigender Stimulation war in beiden Gruppen niedriger, verglichen mit ihrer Ausgangs-Kraft-Frequenzbeziehung und auch der Abfall der entwickelten Kraft bei höheren Stimulationsfrequenzen war etwas höher nach Inkubation. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant (*Abbildung 8*).

Atrium - KFB

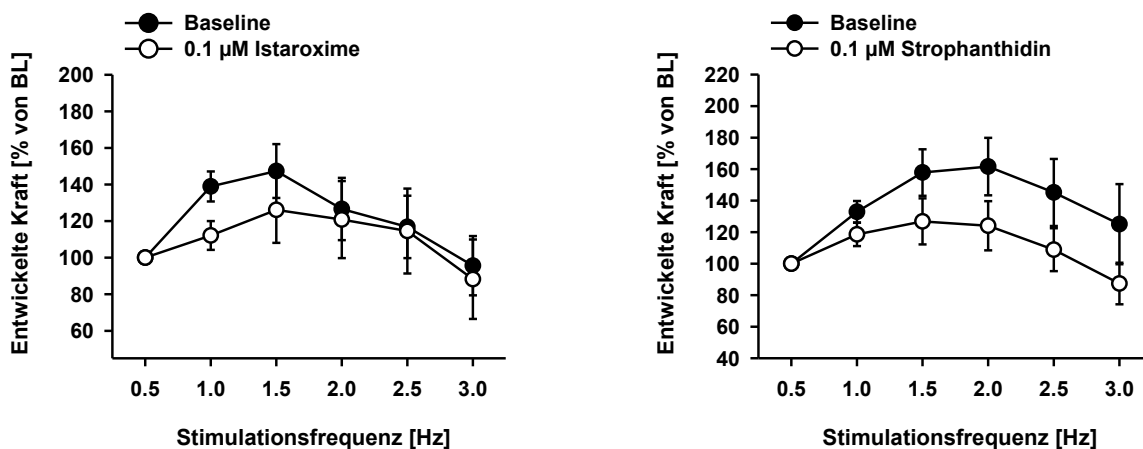


Abbildung 8: Einfluss von Istaroxime (links) und Strophanthidin (rechts) auf die entwickelte Kraft in der Kraft-Frequenzbeziehung im atrialen Myokard; Sowohl Istaroxime als auch Strophanthidin führten zu einer geringen Verschlechterung der Kraft-Frequenzbeziehung, der Unterschied zur Baseline war allerdings statistisch nicht signifikant.

Die statistische Auswertung der diastolischen Kraft bzw. der RT50% zeigte auch keinen signifikanten Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin (Abbildung 9). Zusammengefasst konnten in humanen atrialen Trabekeln ähnlich funktionelle Effekte (entwickelte Kraft, diastolische Kraft und Relaxation) zwischen Istaroxime und Strophanthidin beobachtet werden.

Atrium - KFB

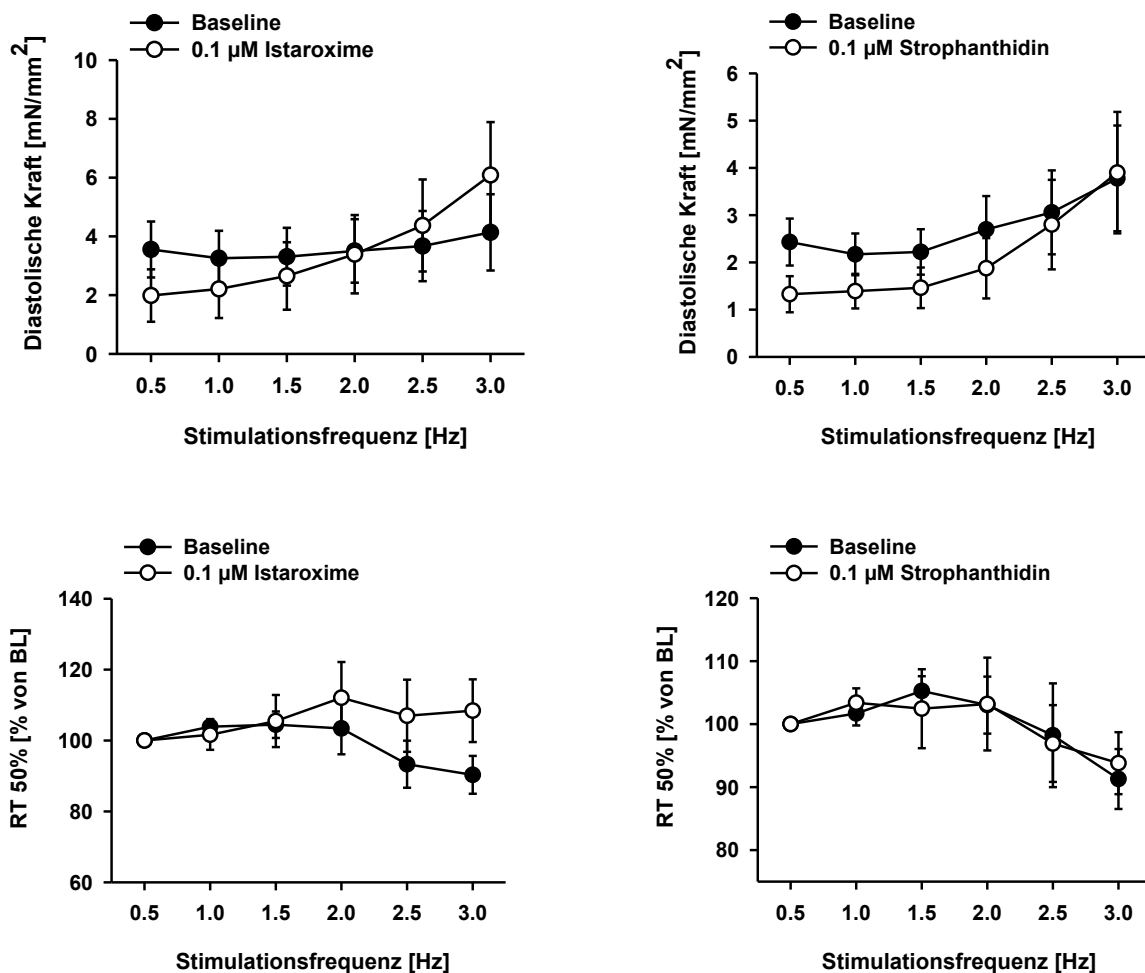


Abbildung 9: Einfluss von Istaroxime (links) und Strophanthidin (rechts) auf die diastolische Kraft (oben) bzw. RT50% (unten) in der Kraft-Frequenzbeziehung im atrialen Myokard; Zwischen Istaroxime und Strophanthidin konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden.

3.2 Funktionelle Effekte im humanen nicht insuffizienten ventrikulären Myokard

3.2.1 Dosiswirkungskurve

Als Nächstes wurden die funktionellen Effekte von Istaroxime und Strophanthidin im nicht insuffizienten ventrikulären Myokard untersucht. Die Trabekel wurden aus humanen Spenderherzen isoliert, welche aus verschiedenen Gründen nicht für eine Transplantation geeignet waren (Tabelle 2). Die Trabekel wurden steigenden Konzentrationen von Istaroxime (n=9) bzw. Strophanthidin (n=9) ausgesetzt. *Abbildung 10* (links) zeigt die alleinige NKA Inhibition (Strophanthidin) verglichen mit einer kombinierten NKA Inhibition und SERCA Stimulation (Istaroxime). Analog zu den Beobachtungen im atrialen Myokard kam es zu einem dosisabhängigen Anstieg der entwickelten Kraft. Der maximale Effekt trat bei beiden Substanzen bei $0.3\mu\text{mol/l}$ auf (Istaroxime: $201.1\% \pm 34.0\%$ von L_{max} ; Strophanthidin: $196.2\% \pm 32.5\%$ von L_{max}) und war in beiden Gruppen verglichen mit dem Ausgangswert (L_{max}) statistisch signifikant. Eine weitere Konzentrationssteigerung führte wieder zu einer Abnahme der entwickelten Kraft. Zwischen Istaroxime und Strophanthidin konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden. *Abbildung 10* (rechts) zeigt den Einfluss von Strophanthidin bzw. Istaroxime auf die diastolische Kraft in denselben Trabekeln in denen zuvor die entwickelte Kraft gemessen wurde. Beide Substanzen führten ab einer Konzentration von $0.3\mu\text{mol/l}$ zu einem Anstieg der diastolischen Kraft. Wiederum unterschieden sich die zwei Gruppen nicht voneinander.

Ventrikel - DWK

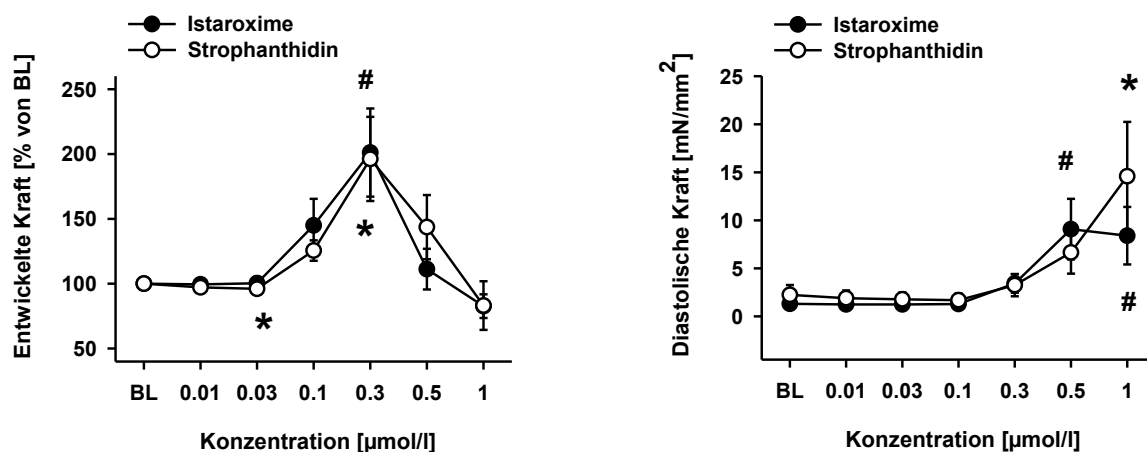


Abbildung 10: Dosiswirkungskurve – nicht insuffizientes ventrikuläres Myokard: Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin: Entwickelte Kraft in % von Baseline (BL)/ L_{max} (links); diastolische Kraft derselben Trabekel in mN/mm^2 (rechts); *= $p < 0.05$ vs. Baseline von Strophanthidin; #= $p < 0.05$ vs. Baseline von Istaroxime.

3.2.2 Kraft-Frequenzbeziehung

Als Nächstes wurde nun auch im ventrikulären Myokard der Einfluss von Strophanthidin (n=7) und Istaroxime (n=7) auf die Kraft-Frequenzbeziehung untersucht. Wiederum wurde die Stimulationsfrequenz von 0.5Hz auf 3Hz erhöht. Danach wurden die Trabekel mit 1Hz stimuliert, mit 0.1µmol/l Strophanthidin bzw. Istaroxime für 30 Minuten inkubiert und nach Erreichen des steady states erneut eine Kraft-Frequenzbeziehung durchgeführt. Vor Zugabe der Substanzen kam es mit zunehmender Stimulationsfrequenz in beiden Gruppen zu einem Abfall der entwickelten isometrischen Kraft (*Abbildung 11*, schwarze Kreise). Das Maximum der entwickelten Kraft (vor Inkubation) lag in der Istaroxime Gruppe bei $107.9\% \pm 11.1\%$ bezogen auf den Ausgangswert 0.5Hz (=100%) und in der Strophanthidin Gruppe bei $104.3\% \pm 4.0\%$. Sowohl Istaroxime als auch Strophanthidin zeigten bei 0.1µmol/l einen signifikanten positiven inotropen Effekt nach 30 Minuten (entwickelte Kraft $119.9\% \pm 6.5\%$ bzw. $116.7\% \pm 1.8\%$ vom Ausgangswert bei 1Hz). Die erneut durchgeführte Kraft-Frequenzbeziehung war nun in beiden Gruppen verbessert, verglichen mit ihren nativen Kraft-Frequenzbeziehungen. Die maximal entwickelte Kraft mit Istaroxime war $162.4\% \pm 29.6\%$ und mit Strophanthidin $162.3\% \pm 30.2\%$. Die Kraft-Frequenzbeziehung unterschied sich nicht zwischen Istaroxime und Strophanthidin.

Ventrikel - KFB

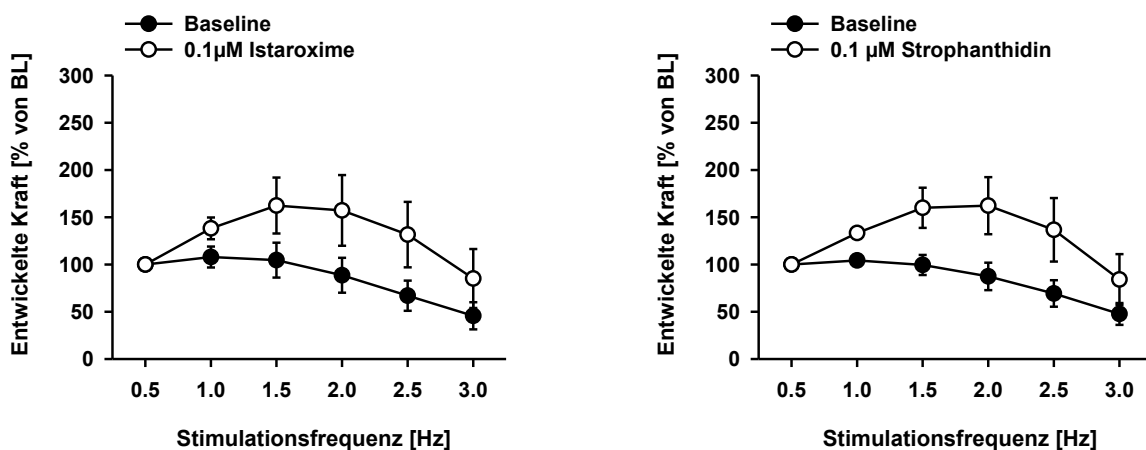


Abbildung 11: Einfluss von Istaroxime (links) und Strophanthidin (rechts) auf die entwickelte Kraft in der Kraft-Frequenzbeziehung im ventrikulären Myokard.

Die statistische Auswertung der diastolischen Kraft bzw. der RT50% zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin (*Abbildung 12*). Zusammengefasst konnten auch in humanen ventrikulären Trabekeln ähnlich funktionelle Effekte (entwickelte Kraft, diastolische Kraft und Relaxation) zwischen Istaroxime und Strophanthidin beobachtet werden.

Ventrikel - KFB

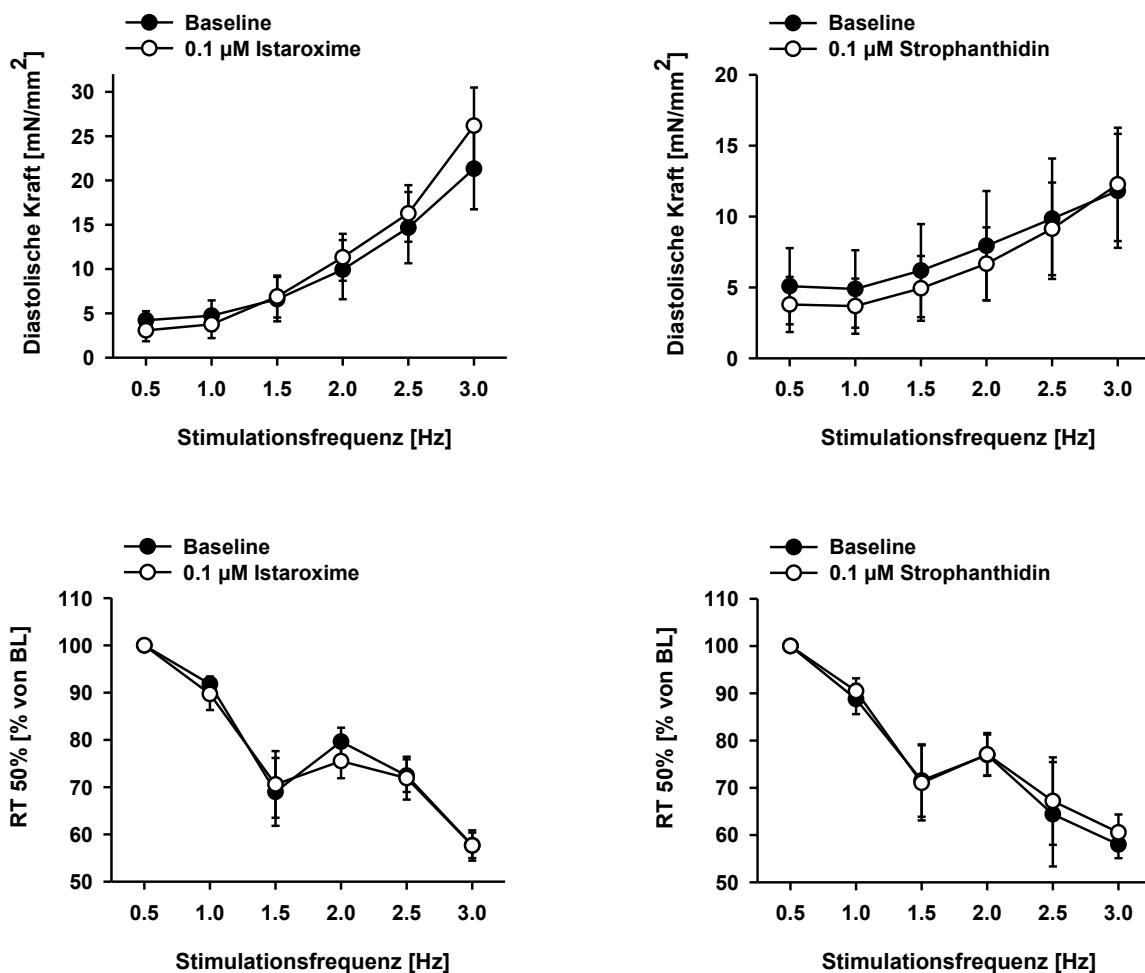


Abbildung 12: Einfluss von Istaroxime (links) und Strophanthidin (rechts) auf die diastolische Kraft (oben) bzw. RT50% (unten) in der Kraft-Frequenzbeziehung im ventrikulären Myokard; Zwischen Istaroxime und Strophanthidin konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden.

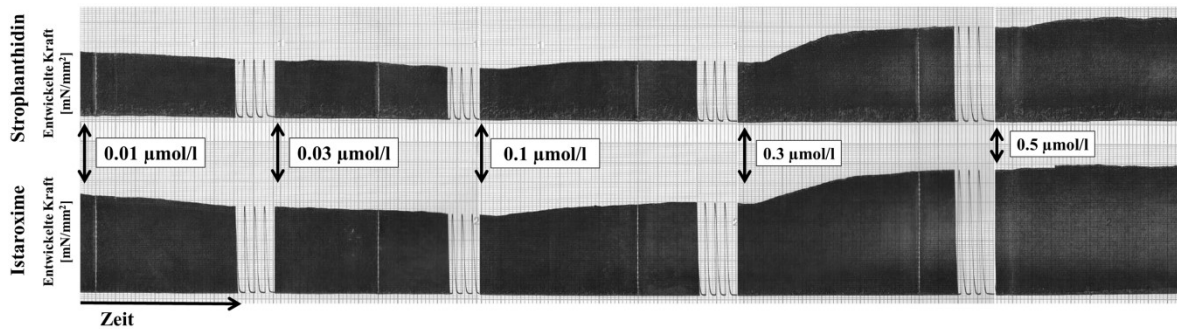


Abbildung 13: Originalregistrierung einer Dosiswirkungskurve – nicht insuffizientes ventrikuläres Myokard; Die Trabekel wurden steigenden Konzentrationen von Strophanthidin (oben) bzw. Istaroxime (unten) ausgesetzt; Beide Substanzen bewirken einen dosisabhängigen positiv inotropen Effekt; In der entwickelten Kraft konnte zwischen Strophanthidin und Istaroxime kein statistisch signifikanter Unterschied beobachtet werden.

3.3 Weiterführende Analyse der Kraft-Frequenzbeziehung

Um potentielle Unterschiede zwischen Istaroxime und Strophanthidin identifizieren zu können, wurden die durchgeführten Kraft-Frequenzbeziehungen (Atrium und Ventrikel) weiterführenden Analysen unterzogen. Im Fokus der Analysen stand die maximal entwickelte Kraft in den FFR Experimenten. Analysiert wurde die maximal entwickelte Kraft nach Inkubation mit $0,1\ \mu\text{mol/l}$ Istaroxime bzw. Strophanthidin, unabhängig von der Stimulationsfrequenz bei der die maximale Kraft erreicht wurde. In den vorherigen FFR Analysen wurden die Kraft- und Kinetikdaten in den jeweiligen Stimulationsfrequenzklassen ausgewertet. *Abbildung 14* zeigt Box-Whisker-Plots der maximal entwickelten Kraft mit der dazugehörigen diastolischen Kraft bzw. RT50% unabhängig von der Stimulationsfrequenz, bei welcher die Maxima erreicht wurden. Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin im Hinblick auf die maximal entwickelte Kraft, die diastolische Kraft oder auch auf die RT50%, weder im atrialen noch im ventrikulären humanen Gewebe festgestellt werden.

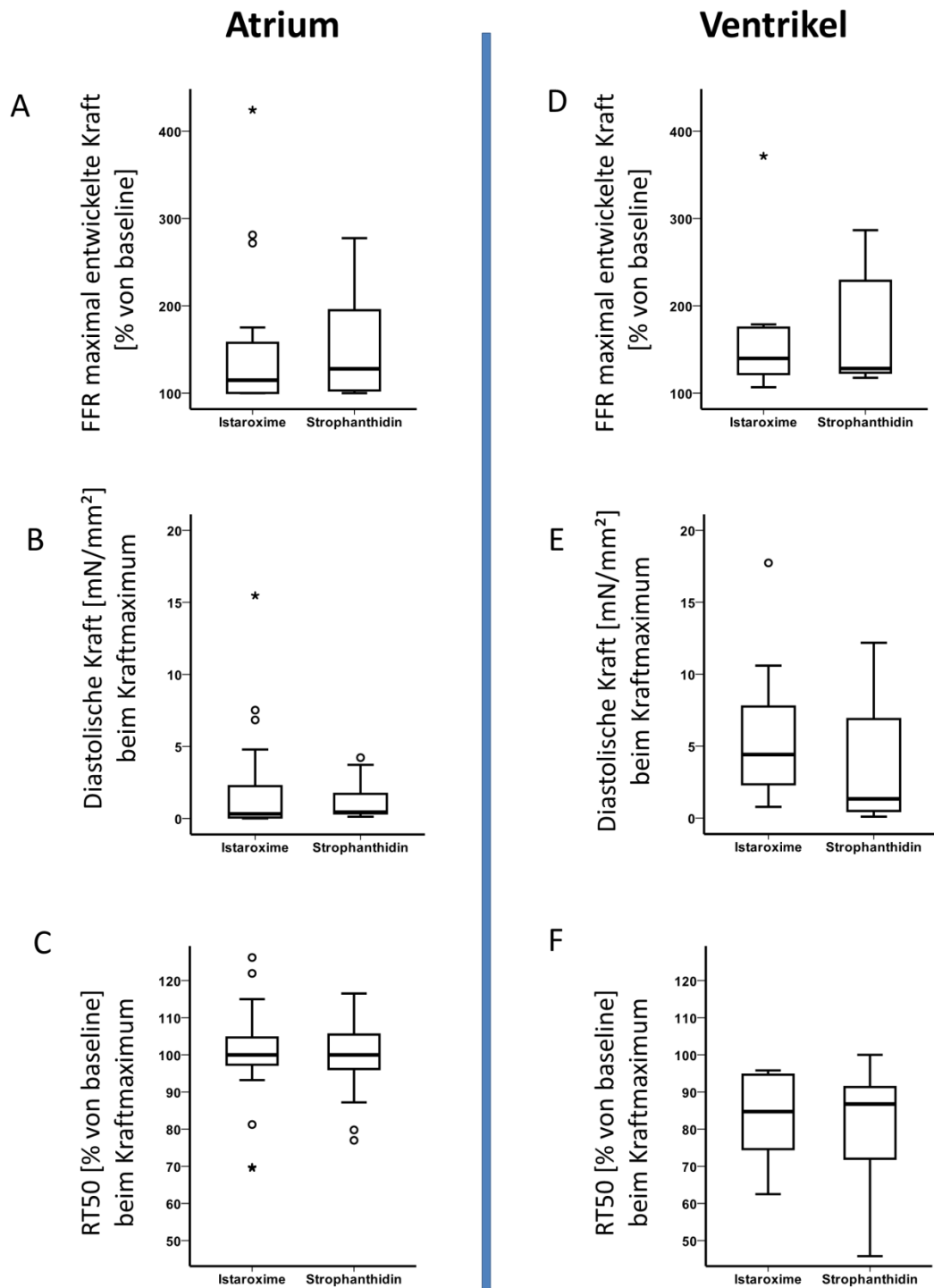


Abbildung 14: FFR Analysen im atrialen und ventrikulären Myokard; Istaroxime ($0.1\mu\text{mol/l}$) beeinflusst die maximal entwickelte Kraft in der FFR im selben Ausmaß wie Strophanthin ($0.1\mu\text{mol/l}$), unabhängig von der Stimulationsfrequenz. (A) Box-Whisker-Plot der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] - Istaroxime verglichen mit Strophanthin im atrialen Myokard; (B) Box-Whisker-Plot der diastolischen Kraft [mN/mm^2] zum Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft - Istaroxime verglichen mit Strophanthin im atrialen Myokard; (C) Box-Whisker-Plot der RT50% [% von Baseline] zum Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft - Istaroxime verglichen mit Strophanthin im atrialen Myokard; (D) Box-Whisker-Plot der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] - Istaroxime verglichen mit Strophanthin im ventrikulären Myokard; (E) Box-Whisker-Plot der diastolischen Kraft [mN/mm^2] zum Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft - Istaroxime verglichen mit Strophanthin im ventrikulären Myokard; (F) Box-Whisker-Plot der RT50% [% von Baseline] zum Zeitpunkt der maximal entwickelten Kraft - Istaroxime verglichen mit Strophanthin im ventrikulären Myokard. \circ : Ausreißer (Werte zwischen 1,5 – 3-fachen IQR); *: Extreme Ausreißer (Werte > 3-fachen IQR).

3.4 Fallot'sche Tetralogie - Funktionelle Effekte im ventrikulären Myokard

Nach der Charakterisierung der funktionellen Effekte von Istaroxime und Strophanthidin im gesunden atrialen und ventrikulären Myokard, wurde als Nächstes die Wirkung beider Substanzen in rechtsventrikulären Trabekeln von PatientInnen mit diagnostizierter Fallot'scher Tetralogie (ToF) untersucht. *Abbildung 15* zeigt eine Originalregistrierung der Istaroxime – Dosiswirkungskurve bei einer Konzentration von $0.1\mu\text{mol/l}$.

Das ToF Modell ist aus zweierlei Gründen von äußerst großem Interesse: (1) Noch nie zuvor wurden die Effekte von Istaroxime in ToF untersucht: (2) ToF PatientInnen weisen eine rechtsventrikuläre restriktive Physiologie auf. Auf Grund der vorliegenden diastolischen Funktionsstörung des rechten Ventrikels könnte die zusätzliche SERCA Stimulation durch Istaroxime die diastolische Funktion im ToF Myokard verbessern.

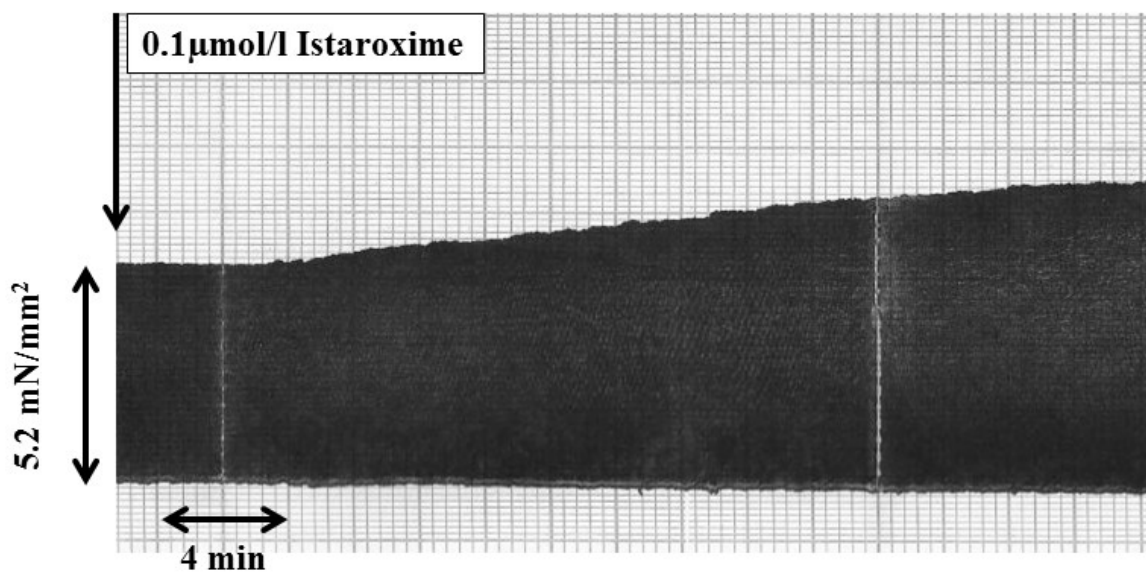


Abbildung 15: Originalregistrierung eines ToF Trabekels; Nach Erhöhung der Istaroxime Konzentration auf $0.1\mu\text{mol/l}$ kommt es zu einem raschen Anstieg der entwickelten Kraft; Steady state wurde nach 30 min erreicht.

Abbildung 16 zeigt die funktionellen Effekte von Istaroxime und Strophanthidin im Bezug auf die entwickelte Kraft (links) und die diastolische Kraft (rechts). Beide Substanzen entfalteten einen dosisabhängigen, positiv inotropen Effekt mit einer maximalen Inotropie bei $0.3\mu\text{mol/l}$ (Istaroxime: $209\% \pm 106.8\%$ von L_{max} ; Strophanthidin: $184.8\% \pm 59.3\%$ von L_{max}). Konsistent mit den Beobachtungen im atrialen und ventrikulären nicht insuffizienten Gewebe, führte auch im ToF Gewebe eine weitere Konzentrationssteigerung zu einer Abnahme der entwickelten Kraft. Es konnte allerdings kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin beobachtet werden. Die diastolische Kraft stieg geringfügig bei den höchsten Konzentrationen in beiden Gruppen an, unterschied sich allerdings nicht zwischen Istaroxime und Strophanthidin (Abbildung 16).

ToF - DWK

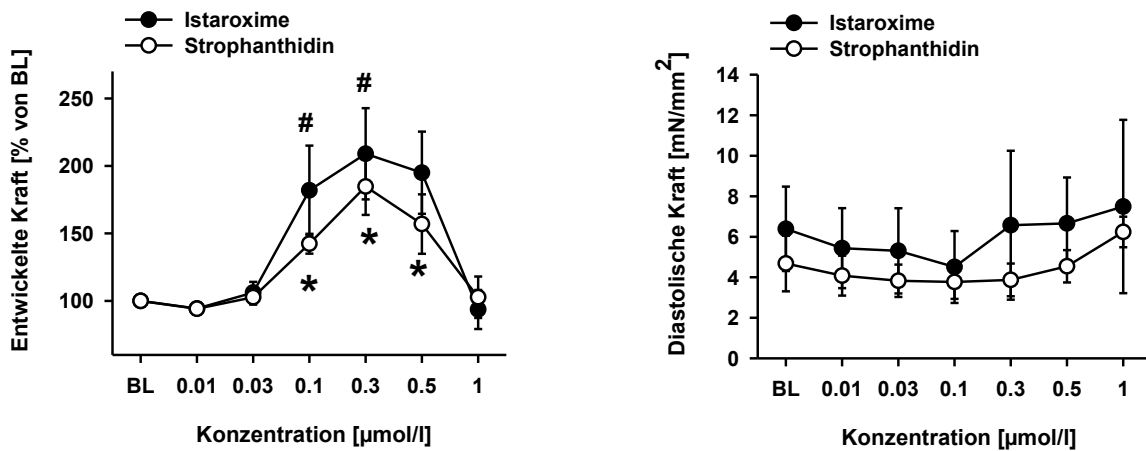


Abbildung 16: Dosiswirkungskurve – ventrikuläres ToF Myokard: Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin: Entwickelte Kraft in % von Baseline (BL)/ L_{max} (links); diastolische Kraft derselben Trabekel in mN/mm^2 (rechts); $*=p<0.05$ vs. Baseline von Strophanthidin; $\#<0.05$ vs. Baseline von Istaroxime

3.5 Analyse der maximal entwickelten Kraft: Atrium, Ventrikel und Fallot

Wie bereits in den atrialen und ventrikulären Kraft-Frequenzbeziehungen, wurden auch die Dosiswirkungskurven aller drei Gewebearten (Atrium, nicht insuffizienter Ventrikel, Fallot Ventrikel) zu einer genaueren statistischen Analyse herangezogen. Hierfür wurde von jedem Trabekel die maximal entwickelte Kraft [% von Baseline], unabhängig von der Konzentration, bei welcher dieses Maximum erreicht wurde, für die Auswertung verwendet. *Abbildung 17A* zeigt den Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin im atrialen Myokard, dargestellt mit Box-Whisker-Plots der maximal entwickelten Kraft. Zum Zeitpunkt des Kraftmaximums wurde auch die dazugehörige diastolische Kraft (*Abbildung 17B*) aufgezeichnet und analysiert. In den atrialen Trabekeln konnte weder in der maximal entwickelten Kraft noch in der diastolischen Kraft ein Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin beobachtet werden. *Abbildung 18A* und *Abbildung 18B* zeigt Box-Whisker-Plots der maximal entwickelten Kraft und der diastolischen Kraft der ventrikulären nicht insuffizienten ventrikulären Trabekel. Wie in den atrialen Trabekeln konnte auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin beobachtet werden. Die Auswertung der maximal entwickelten Kraft in den ToF Trabekeln zeigte jedoch einen signifikanten Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin (*Abbildung 19A*). Istaroxime führte zu einem höheren maximalen Anstieg der entwickelten Kraft verglichen mit Strophanthidin ($283\% \pm 26\%$ von Baseline vs. $186\% \pm 21\%$ von Baseline, $p=0.009$). Die diastolischen Kräfte unterschieden sich nicht zwischen den beiden Gruppen (*Abbildung 19B*). Im gesunden humanen atrialen und ventrikulären Myokard konnte kein Unterschied zwischen den beiden Substanzen beobachtet werden. Im ToF Modell (diastolische Funktionsstörung) entfaltete Istaroxime einen signifikant höheren positiv inotropen Effekt verglichen mit Strophanthidin.

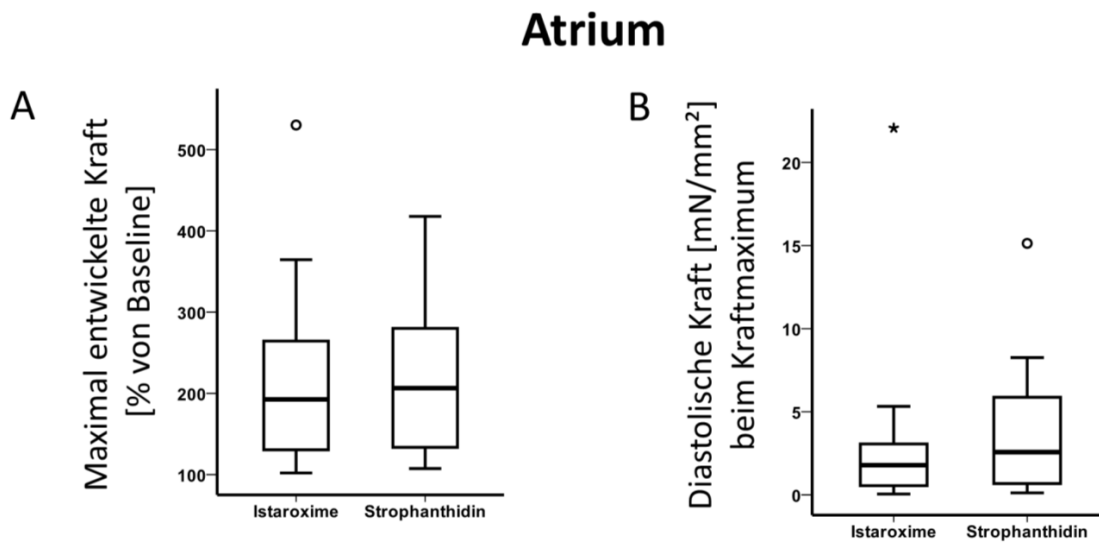


Abbildung 17: Dosiswirkungskurve: (A) Analyse der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] im Atrium, unabhängig von der Konzentration, bei welcher das Maximum erreicht wurde. Der Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin zeigte keinen Unterschied in der entwickelten Kraft; (B) Die Analyse der diastolischen Kraft [mN/mm²] zum Zeitpunkt der entwickelten Kraft Maxima ergab keinen Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin. °: Ausreißer (Werte zwischen 1,5 – 3-fachen IQR); *: Extreme Ausreißer (Werte > 3-fachen IQR).

Nicht insuffizienter Ventrikel

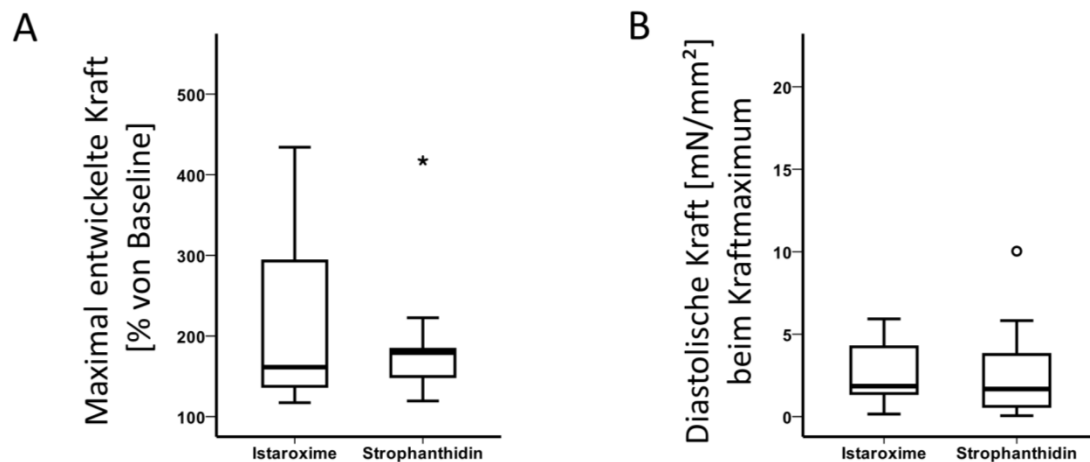


Abbildung 18: Dosiswirkungskurve: (A) Analyse der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] im Ventrikel, unabhängig von der Konzentration, bei welcher das Maximum erreicht wurde. Der Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin zeigte keinen Unterschied in der entwickelten Kraft; (B) Die Analyse der diastolischen Kraft [mN/mm²] zum Zeitpunkt der entwickelten Kraft Maxima ergab keinen Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin. °: Ausreißer (Werte zwischen 1,5 – 3-fachen IQR); *: Extreme Ausreißer (Werte > 3-fachen IQR).

Ventrikel - Fallot'sche Tetralogie

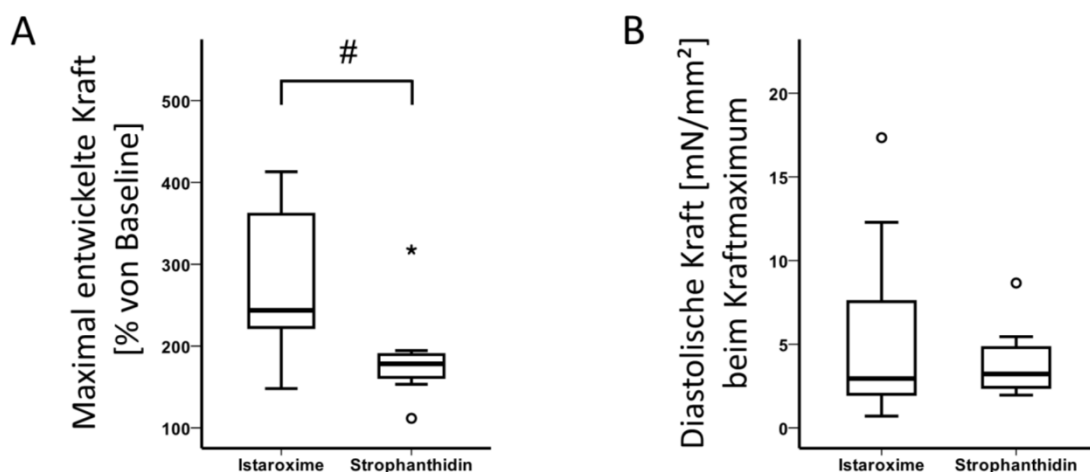


Abbildung 19: Dosiswirkungskurve: (A) Analyse der maximal entwickelten Kraft [% von Baseline] im ToF Ventrikel, unabhängig von der Konzentration, bei welcher das Maximum erreicht wurde. Der Vergleich zwischen Istaroxime und Strophanthidin zeigte einen signifikanten Unterschied in der entwickelten Kraft zwischen Istaroxime und Strophanthidin (#:p=0.009); (B) Die Analyse der diastolischen Kraft [mN/mm²] zum Zeitpunkt der entwickelten Kraft Maxima ergab keinen Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin. °: Ausreißer (Werte zwischen 1,5 – 3-fachen IQR); *: Extreme Ausreißer (Werte > 3-fachen IQR).

4 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ausschließlich humane Gewebeproben verwendet. Die atrialen Herzohren stehen beinahe täglich zur Verfügung. Die ventrikulären Myokardproben, von nicht insuffizienten Spenderherzen und die rechtsventrikulären Trabekel von Fallot PatientInnen sind äußerst seltenes Gewebe. Pro Jahr sind ca. fünf Spenderherzen verfügbar. Bei den Fallotherzen ist die Verfügbarkeit noch ein wenig schwieriger und komplizierter. Zum einen sind ToF Operationen selten (ca. 5 pro Jahr in Graz) und zum anderen steht nicht ein gesamtes ausgewachsenes Herz zur Verfügung (explantierte Herzen), sondern nur einzelne Trabekel. Nicht nur die rare Verfügbarkeit, sondern auch die Tatsache, dass ToF ein einzigartiges diastolisches Herzinsuffizienzmodell repräsentiert, macht dieses Myokard zu einem wertvollen Gewebe. In vitro Untersuchungen haben den Vorteil, dass im Vergleich zu in vivo Experimenten inotrope Effekte bei konstanter Vor- und Nachlast bzw. Frequenz gemessen werden können. Des Weiteren kann die Stimulationsfrequenz aber auch beliebig verändert werden, wie es z.B. auch in der KFB durchgeführt wurde. Tierexperimentelle Studien und Ergebnisse sind mit dem Problem der Übertragbarkeit auf den Menschen konfrontiert. Im Übrigen können neue therapeutische Strategien direkt am humanen Myokard getestet werden.

4.1 Funktionelle und toxische Effekte von Istaroxime im humanem Myokard

In früheren Arbeiten wurden die funktionellen und toxischen Effekte von Strophanthidin im insuffizienten humanen Herzen beschrieben [118]. In dieser Arbeit wird das erste Mal Istaroxime in einem ToF Modell getestet. Istaroxime verfügt über einen dualen Wirkmechanismus. Zum einen inhibiert es die NKA und zum anderen stimuliert Istaroxime die SERCA2a [119].

Die durchgeführte Dosiswirkungskurve im atrialen Gewebe verglich die funktionellen Effekte von Istaroxime und Strophanthidin. Beide Substanzen führten zu einem positiv inotropen Effekt mit einem Maximum bei $0.3\mu\text{mol/l}$. Darüber hinaus führte eine Konzentrationserhöhung zu toxischen Effekten mit einer Abnahme der entwickelten Kraft. Diese Beobachtung ist kongruent mit den Ergebnissen einer experimentellen Studie mit ventrikulären Mäuse-Kardiomyozyten, bei denen die dosisabhängigen Effekte von

Istaroxime auf die Inotropie untersucht wurden [120]. Des Weiteren konnte Istaroxime die kardiale Funktion und Herzfrequenzvariabilität in Kardiomyopathie-Hamstern verbessern [121].

In dieser Studie führte sowohl Istaroxime als auch Strophanthidin zu einem leichten, dosisabhängigen Anstieg der diastolischen Kraft verglichen mit der Baseline. Sowohl in der Dosiswirkungskurve als auch in der Kraft-Frequenzbeziehung in atrialen Trabekeln wurden keine Unterschiede zwischen den beiden Substanzen hinsichtlich entwickelter Kraft, diastolischer Kraft und Relaxation (RT50%) beobachtet. In der HORIZON-HF Studie (randomisierte placebo-kontrollierte klinische Studie mit 120 PatientInnen), wurden die Effekte von Istaroxime im Rahmen einer akuten Herzinsuffizienz getestet. Alle PatientInnen erhielten einen Rechtsherzkatheter zur invasiven Messung der Hämodynamik und eine ausführliche echokardiographische Untersuchung. Eine kontinuierliche Infusion von Istaroxime über sechs Stunden führte zu einer Senkung des PCWP, Erhöhung des systolischen Blutdrucks und zu einer Abnahme der diastolischen Ventrikelsteifigkeit [122]. In Hunden mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz konnte gezeigt werden, dass Istaroxime dosisabhängig die LV Ejektion Fraktion signifikant erhöht und den linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDP) und die enddiastolische Wandspannung erniedrigt [94]. Eine weitere Phase I-II Studie untersuchte die Sicherheit und Verträglichkeit von Istaroxime und kam zu dem Ergebnis, dass die Anwendung von Istaroxime zur Behandlung von HI vielversprechend sein könnte, speziell zur Verbesserung der systolischen und/oder diastolischen Funktion [123]. Micheletti et al. untersuchten die Effekte von Istaroxime in Muskelstreifen von explantierten humanen Herzen. Steigende Konzentrationen von Istaroxime (0.1-1 $\mu\text{mol/l}$) erhöhten die entwickelte Spannung und die absolute Kontraktionsgeschwindigkeit [124].

4.2 Effekte von Istaroxime im humanen ventrikulären Myokard

Die Untersuchung von nicht insuffizienten, ventrikulären, humanen Trabekeln zeigte bezüglich der entwickelten Kraft keinen Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin. Steigende Konzentrationen von Istaroxime und Strophanthidin führten zu einem signifikanten Anstieg der Inotropie verglichen zur Baseline. Das Maximum der entwickelten Kraft wurde von beiden Substanzen bei einer Konzentration von 0.3 $\mu\text{mol/l}$ erreicht. Wie im atrialen Gewebe führte eine weitere Erhöhung der Konzentration auch im

ventrikulären Myokard zu einer Abnahme der entwickelten Kraft. Beide Substanzen bewirkten auch einen dosisabhängigen Anstieg der diastolischen Kraft. Die KFB ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen Istaroxime (0.1µmol/l) und Strophanthidin (0.1µmol/l), weder in der entwickelten Kraft noch in der diastolischen Kraft. Die nativ durchgeführte KFB unterschied sich nicht signifikant von der KFB mit präinkubiertem Istaroxime (0.1µmol/l) bzw. Strophanthidin (0.1µmol/l). Die Annahme, dass eine zusätzliche SERCA2a Stimulation die diastolische Funktion bzw. Relaxation verbessern sollte, konnte zumindest im gesunden, nicht insuffizienten Myokard nicht nachgewiesen werden. Die SERCA2a Stimulation konnte, im Vergleich zu Strophanthidin, die diastolische Kraft nicht senken und auch die RT50% nicht verkürzen. Diese Ergebnisse im gesunden ventrikulären Myokard lassen vermuten, dass die NKA Inhibition und nicht die SERCA2a Aktivierung der Schlüsselmechanismus von Istaroxime ist.

Im ventrikulären Myokard führen Istaroxime und Strophanthidin zu ähnlichen funktionellen Effekten. Sogar eine ausführliche Analyse mit Fokus auf den maximal entwickelten Kräften in der KFB unabhängig von der Stimulationsfrequenz, konnte keinen Unterschied zwischen den beiden Substanzen zum Vorschein bringen, weder im Atrium noch im Ventrikel. Diese Ergebnisse waren in dieser Form nicht zu erwarten, wenn man den Wirkmechanismus von Istaroxime [125] bedenkt. Die Abnahme der entwickelten Kraft bei höheren Konzentrationen unterschied sich zwischen den Gruppen auch nicht voneinander, obwohl Istaroxime ein deutlich geringeres proarrhythmogenes Potential verglichen mit Digoxin hat [120].

4.3 Fallot'sche Tetralogie und diastolische Funktion

PatientInnen mit angeborenen Herzfehlern leiden häufig an einer rechtsventrikulären Dysfunktion, was wiederum die Mortalität und Morbidität beachtlich erhöht [126]. ToF ist der häufigste angeborene zyanotische Herzfehler. Durch die angeborenen Anomalien ist, von Geburt an, der rechte Ventrikel einer Drucküberlastung ausgesetzt. Deshalb wird bereits innerhalb der ersten sechs Monate eine operative Korrektur angestrebt. Nach der Beseitigung der Pulmonalstenose entsteht häufig eine relevante Pulmonalinsuffizienz mit Volumenüberlastung des RVs mit konsekutiver Entwicklung einer gestörten diastolischen Relaxation. Die restriktive Physiologie des RV eignet sich hervorragend für die Untersuchung der funktionellen Effekte von Istaroxime. Istaroxime zeigte in den

bisherigen funktionellen Experimenten am gesunden atrialen und ventrikulärem Myokard keinen Unterschied im Vergleich zu Strophanthidin. Eine SERCA2a Aktivierung sollte die diastolische Funktionsstörung in den ToF Trabekeln positiv beeinflussen können. In der Dosiswirkungskurve konnte allerdings keine Veränderung der diastolischen Kraft bzw. der RT50% im Vergleich zu Strophanthidin beobachtet werden. Die Analyse der maximal entwickelten Kraft zeigte einen signifikant höheren Anstieg der maximalen entwickelten Kraft in der Istaroxime Gruppe verglichen mit der Strophanthidin Gruppe. Dieser Unterschied wurde nur in den ToF Trabekeln beobachtet, nicht jedoch in den atrialen und ventrikulären Trabekeln.

Eine mögliche Erklärung hierfür könnte in der gestörten diastolischen Funktion der ToF Trabekeln zu finden sein. In gesunden Herzen (Atrium, Ventrikel) konnte in den in vitro Experimenten kein Unterschied in der maximal entwickelten Kraft zwischen Istaroxime und Strophanthidin beobachtet werden. Da der positiv inotrope Effekt der beiden Substanzen vorwiegend über eine NKA Inhibierung vermittelt wird, mit konsekutiven Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} Konzentration, kann man indirekt darauf schließen, dass die NKA von beiden Substanzen in einem ähnlichen Ausmaß inhibiert wird. In ToF Trabekeln konnte allerdings interessanterweise ein deutlich größerer positiver Effekt unter Istaroxime verglichen mit Strophanthidin beobachtet werden. Demnach entfaltet Istaroxime einen größeren Effekt in Trabekeln mit einer diastolischen Funktionsstörung als im gesunden Myokard. Da die NKA in den durchgeführten Experimenten, im selben Ausmaß von Istaroxime und Strophanthidin gehemmt worden sein dürfte, könnte die zusätzliche SERCA2a Stimulation durch Istaroxime, für die stärkere Inotropie im ToF Modell verantwortlich sein.

Die SERCA Modulation durch Istaroxime wurde auch in einem druck-induzierten Meerschweinchen-Herzinsuffizienz-Modell (aortic banding) getestet [127]. Auch hier konnte gezeigt werden, dass Istaroxime die SR Funktion vor allem in herzinsuffizienten Kardiomyozyten verbesserte. Normale Myozyten profitierten nicht in diesem Ausmaß von der SERCA Stimulation. In den erkrankten Myozyten kam es beinahe zu einer vollständigen Erholung der gestörten SR Funktion [127]. In einem anderen Tiermodell wurde versucht die hämodynamischen Bedingungen eines operierten Fallot Ventrikels zu imitieren. Hierzu wurde in 2 Monate alten Schweinen ein Banding der Pulmonalarterie und zugleich eine Vergrößerung des RVOTs mittels Patchplastik durchgeführt. Es kam zu einem

frühen RV Remodeling mit erhöhten endsystolischen und enddiastolischen Volumina, verminderter EF, vermehrter Fibrose und Hypertrophie [128].

Viele vergangene Studien haben die verschiedenen Unterschiede zwischen normalem und ToF Myokard beschrieben. Das arrhythmogene Risiko für PatientInnen mit diagnostizierter Fallot'schen Tetralogie ist beachtlich und umfasst viele verschiedene Entitäten [129]. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass eine chronische Hypoxie in ToF Kindern zu einer gesteigerten Expression von Genen führt, welche für Apoptose und Remodeling verantwortlich sind und eine verminderte Expression von Genen bewirkt, welche für die myokardiale Kontraktilität und Funktion wichtig sind [130].

Typische kardiale morphologische Veränderungen bei ToF PatientInnen mit leichter RV Dilatation sind abnormale bi-atriale Funktion und bi-ventrikuläre diastolische Dysfunktion. Eine Vergrößerung des Atriums könnte auf die restriktive rechtsventrikuläre Physiologie zurückzuführen sein [131]. In einer weiteren tierexperimentellen Studie wurde in Hasen eine rechtsventrikuläre Drucküberladung mittels Pulmonalarterienbanding induziert, was im weiteren Verlauf zu einer RV Hypertrophie geführt hat. In diesem Modell kam es zu einer RV Funktionsstörung, Hypertrophie und Fibrose. Apoptose von RV Kardiomyozyten spielte eine wichtige Rolle in der Progression [132].

Die diastolische Funktion in ToF wird in der rezenten Literatur widersprüchlich diskutiert. Zum einen wurde gezeigt, dass eine restriktive RV Physiologie nach einer Fallot Korrektur mit einem verlängerten Intensivstationaufenthalt, höherem Katecholaminbedarf und höherem Diuretikabedarf assoziiert ist [133]. Zum anderen gibt es Hinweise, dass eine rechtsventrikuläre restriktive Physiologie in operierten ToF Patienten von Vorteil sein könnte. Rechtsventrikuläre restriktive Physiologie ist charakterisiert durch einen enddiastolischen antegraden Fluss (EDFF) in der Pulmonalarterie zum Zeitpunkt der atrialen Kontraktion. Bei PatientInnen mit rechtsventrikulärer restriktiver Physiologie ist nach einer ToF Korrektur die diastolische RV Steifigkeit erhöht [134]. Van den Berg et al. zeigten, dass nach einer ToF Korrektur ein enddiastolischer antegrader Fluss (EDFF) in der Pulmonalarterie mit einer schlechteren körperlichen Belastbarkeit und höhergradigeren Pulmonalinsuffizienzen assoziiert ist verglichen mit ToF Patienten ohne EDFF [135].

Zusammengefasst weisen PatientInnen nach einer Fallot Korrektur eine rechtsventrikuläre Dysfunktion und eine verminderte körperliche Leistungsfähigkeit auf. Des Weiteren kommt es bei korrigierten ToF zu einer diastolischen Dysfunktion des linken und rechten

Ventrikels, einer Vergrößerung des rechten Ventrikels und einer eingeschränkten frühdiastolischen Füllung [136-138].

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden erstmals die funktionellen Effekte von Istaroxime im humanen Myokard von PatientInnen mit angeborener Fallot'schen Tetralogie in vitro untersucht. Istaroxime ist ein neues Medikament, das über einen dualen Wirkmechanismus verfügt und zur Therapie von Herzinsuffizienz entwickelt wurde. Istaroxime hemmt die NKA und stimuliert zusätzlich die SERCA2a, was sowohl einen positiv inotropen als auch lusitropen Effekt bewirkt.

Es wurde gezeigt, dass Istaroxime einen dosisabhängigen, positiv inotropen Effekt im atrialen, nicht insuffizienten ventrikulären und rechtsventrikulären Myokard von ToF PatientInnen bewirkt. Die Inotropie durch Istaroxime in allen drei Gewebearten war vergleichbar mit Strophanthidin, einem gewöhnlichen Digitalispräparat. Die diastolische Kraft stieg erwartungsgemäß dosisabhängig mit beiden Substanzen leicht an, es konnte allerdings kein Unterschied zwischen Istaroxime und Strophanthidin beobachtet werden. Auf Grund des Wirkmechanismus von Istaroxime (SERCA Aktivierung) war vor allem der Relaxationsparameter (RT50%) von Interesse. Die RT50% wurde in allen drei Gewebearten von beiden Substanzen im selben Ausmaß beeinflusst.

Die Kraft-Frequenzbeziehung, eine katecholaminunabhängige Erhöhung der myokardialen Kontraktilität mit steigender Herzfrequenz, ist für die Regulation der Myokard- und Kreislauffunktion ein wichtiger physiologischer Mechanismus. Die KFB ist beim terminal insuffizienten Herzen aufgehoben oder sogar umgekehrt (negative KFB). In der vorliegenden Arbeit konnte kein funktioneller Unterschied (entwickelte Kraft, diastolische Kraft, RT50%) in der KFB zwischen Istaroxime und Strophanthidin gezeigt werden, weder im atrialen noch im nicht insuffizienten ventrikulären Myokard, noch im ToF Myokard.

Bei der Analyse der maximal entwickelten Kraft, unabhängig von der Istaroxime bzw. Strophanthidin Konzentration bei welcher das Maximum erreicht wurde, zeigte Istaroxime verglichen mit Strophanthidin eine signifikant höhere positive Inotropie, aber nur in den ToF Trabekeln. In den atrialen und nicht insuffizienten Trabekeln konnte dieser Unterschied nicht beobachtet werden.

Demnach könnte Istaroxime vor allem bei Vorliegen einer diastolischen ventrikulären Dysfunktion von Vorteil sein und in Zukunft eventuell zur Therapie von HFpEF eingesetzt werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Erdmann, E., *Klinische Kardiologie*. Vol. 8. Auflage. 2011, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg. 607.
2. McMurray, J.J., et al., *ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC*. Eur Heart J, 2012. **33**(14): p. 1787-847.
3. Bowles, N.E., et al., *End-stage dilated cardiomyopathy. Persistence of enterovirus RNA in myocardium at cardiac transplantation and lack of immune response*. Circulation, 1989. **80**(5): p. 1128-36.
4. Cambridge, G., et al., *Antibodies to Coxsackie B viruses in congestive cardiomyopathy*. Br Heart J, 1979. **41**(6): p. 692-6.
5. W, M., *Tübinger Weinherz*. Arch klin Med 19, 1887: p. 444-52.
6. Henderson, I.C. and E. Frei, 3rd, *Adriamycin cardiotoxicity*. Am Heart J, 1980. **99**(5): p. 671-4.
7. Limas, C.J., et al., *Anti-beta-receptor antibodies in human dilated cardiomyopathy and correlation with HLA-DR antigens*. Am J Cardiol, 1990. **65**(7): p. 483-7.
8. Anderson, J.L., et al., *HLA A, B and DR typing in idiopathic dilated cardiomyopathy: a search for immune response factors*. Am J Cardiol, 1984. **53**(9): p. 1326-30.
9. Schulze, K., B.F. Becker, and H.P. Schultheiss, *Antibodies to the ADP/ATP carrier, an autoantigen in myocarditis and dilated cardiomyopathy, penetrate into myocardial cells and disturb energy metabolism in vivo*. Circ Res, 1989. **64**(2): p. 179-92.
10. Mosterd, A. and A.W. Hoes, *Clinical epidemiology of heart failure*. Heart, 2007. **93**(9): p. 1137-46.
11. Jhund, P.S., et al., *Long-term trends in first hospitalization for heart failure and subsequent survival between 1986 and 2003: a population study of 5.1 million people*. Circulation, 2009. **119**(4): p. 515-23.

12. Chen, J., et al., *National and regional trends in heart failure hospitalization and mortality rates for Medicare beneficiaries, 1998-2008*. JAMA, 2011. **306**(15): p. 1669-78.
13. Levy, D., et al., *Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure*. N Engl J Med, 2002. **347**(18): p. 1397-402.
14. Dunlay, S.M., et al., *Lifetime costs of medical care after heart failure diagnosis*. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2011. **4**(1): p. 68-75.
15. Roger, V.L., *The heart failure epidemic*. Int J Environ Res Public Health, 2010. **7**(4): p. 1807-30.
16. Askoxylakis, V., et al., *Long-term survival of cancer patients compared to heart failure and stroke: a systematic review*. BMC Cancer, 2010. **10**: p. 105.
17. Hummel, S.L., et al., *Thirty-day outcomes in Medicare patients with heart failure at heart transplant centers*. Circ Heart Fail, 2010. **3**(2): p. 244-52.
18. Ross, J.S., et al., *Recent national trends in readmission rates after heart failure hospitalization*. Circ Heart Fail, 2010. **3**(1): p. 97-103.
19. Braunwald, E., *Heart failure*. JACC Heart Fail, 2013. **1**(1): p. 1-20.
20. Braunwald, E., *Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities*. N Engl J Med, 1997. **337**(19): p. 1360-9.
21. Mountantonakis, S.E., et al., *Presence of atrial fibrillation is independently associated with adverse outcomes in patients hospitalized with heart failure: an analysis of get with the guidelines--heart failure*. Circ Heart Fail, 2012. **5**(2): p. 191-201.
22. Pieske, B., et al., *Ca(2+)-dependent and Ca(2+)-independent regulation of contractility in isolated human myocardium*. Basic Res Cardiol, 1997. **92 Suppl 1**: p. 75-86.
23. Allen, D.G. and J.C. Kentish, *Calcium concentration in the myoplasm of skinned ferret ventricular muscle following changes in muscle length*. J Physiol, 1988. **407**: p. 489-503.
24. Mulieri, L.A., et al., *Altered myocardial force-frequency relation in human heart failure*. Circulation, 1992. **85**(5): p. 1743-50.

25. Hasenfuss, G., et al., *Relation between myocardial function and expression of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase in failing and nonfailing human myocardium*. Circ Res, 1994. **75**(3): p. 434-42.
26. Pieske, B., et al., *Alterations of the force-frequency relationship in the failing human heart depend on the underlying cardiac disease*. Basic Res Cardiol, 1992. **87 Suppl 1**: p. 213-21.
27. Pieske, B., et al., *Alterations in intracellular calcium handling associated with the inverse force-frequency relation in human dilated cardiomyopathy*. Circulation, 1995. **92**(5): p. 1169-78.
28. Schwinger, R.H., et al., *Unchanged protein levels of SERCA II and phospholamban but reduced Ca²⁺ uptake and Ca(2+)-ATPase activity of cardiac sarcoplasmic reticulum from dilated cardiomyopathy patients compared with patients with nonfailing hearts*. Circulation, 1995. **92**(11): p. 3220-8.
29. Lindner, M., E. Erdmann, and D.J. Beuckelmann, *Calcium content of the sarcoplasmic reticulum in isolated ventricular myocytes from patients with terminal heart failure*. J Mol Cell Cardiol, 1998. **30**(4): p. 743-9.
30. Limas, C.J. and J.N. Cohn, *Defective calcium transport by cardiac sarcoplasmic reticulum in spontaneously hypertensive rats*. Circ Res, 1977. **40**(5 Suppl 1): p. I62-9.
31. Meyer, M., et al., *Alterations of sarcoplasmic reticulum proteins in failing human dilated cardiomyopathy*. Circulation, 1995. **92**(4): p. 778-84.
32. Hasenfuss, G., et al., *Influence of the force-frequency relationship on haemodynamics and left ventricular function in patients with non-failing hearts and in patients with dilated cardiomyopathy*. Eur Heart J, 1994. **15**(2): p. 164-70.
33. Bristow, M.R., et al., *Decreased catecholamine sensitivity and beta-adrenergic-receptor density in failing human hearts*. N Engl J Med, 1982. **307**(4): p. 205-11.
34. Bohm, M., et al., *Reduction of beta-adrenoceptor density and evaluation of positive inotropic responses in isolated, diseased human myocardium*. Eur Heart J, 1988. **9**(8): p. 844-52.
35. Brodde, O.E., *Beta 1- and beta 2-adrenoceptors in the human heart: properties, function, and alterations in chronic heart failure*. Pharmacol Rev, 1991. **43**(2): p. 203-42.

36. Dumas, M., et al., *Carotid baroreceptor stimulation: a promising approach for the management of resistant hypertension and heart failure*. *Curr Vasc Pharmacol*, 2014. **12**(1): p. 30-7.
37. Gronda, E., et al., *The baroreceptor as a therapeutic target for heart failure*. *J Cardiovasc Transl Res*, 2014. **7**(3): p. 301-9.
38. Tigerstedt R, B.P., *Niere und Kreislauf* Scand ArchPhysiol 1898.
39. Danser, A.H. and J. Deinum, *Renin, prorenin and the putative (pro)renin receptor*. *Hypertension*, 2005. **46**(5): p. 1069-76.
40. De Mello, W.C. and A.H. Danser, *Angiotensin II and the heart : on the intracrine renin-angiotensin system*. *Hypertension*, 2000. **35**(6): p. 1183-8.
41. Carey, R.M. and H.M. Siragy, *Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation*. *Endocr Rev*, 2003. **24**(3): p. 261-71.
42. Crowley, S.D., et al., *Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. **103**(47): p. 17985-90.
43. Ringer, S., *A further Contribution regarding the influence of the different Constituents of the Blood on the Contraction of the Heart*. *J Physiol*, 1883. **4**(1): p. 29-42 3.
44. Rich, T.L., G.A. Langer, and M.G. Klassen, *Two components of coupling calcium in single ventricular cell of rabbits and rats*. *Am J Physiol*, 1988. **254**(5 Pt 2): p. H937-46.
45. Nilius, B., et al., *A novel type of cardiac calcium channel in ventricular cells*. *Nature*, 1985. **316**(6027): p. 443-6.
46. Bean, B.P. and E. Rios, *Nonlinear charge movement in mammalian cardiac ventricular cells. Components from Na and Ca channel gating*. *J Gen Physiol*, 1989. **94**(1): p. 65-93.
47. Fabiato, A., *Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum*. *Am J Physiol*, 1983. **245**(1): p. C1-14.
48. Bers, D.M., *Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force*. Second Edition ed. 2001: Kluwer Academic Publishers.
49. Wibo, M., G. Bravo, and T. Godfraind, *Postnatal maturation of excitation-contraction coupling in rat ventricle in relation to the subcellular localization and*

- surface density of 1,4-dihydropyridine and ryanodine receptors. Circ Res, 1991. 68(3): p. 662-73.*
50. Callewaert, G., *Excitation-contraction coupling in mammalian cardiac cells. Cardiovasc Res, 1992. 26(10): p. 923-32.*
 51. Fabiato, A., *Time and calcium dependence of activation and inactivation of calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine cardiac Purkinje cell. J Gen Physiol, 1985. 85(2): p. 247-89.*
 52. Lederer, W.J., et al., *Excitation-contraction coupling in heart cells. Roles of the sodium-calcium exchange, the calcium current, and the sarcoplasmic reticulum. Ann N Y Acad Sci, 1990. 588: p. 190-206.*
 53. Huxley, A.F. and R. Niedergerke, *Structural changes in muscle during contraction; interference microscopy of living muscle fibres. Nature, 1954. 173(4412): p. 971-3.*
 54. Huxley, H. and J. Hanson, *Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. Nature, 1954. 173(4412): p. 973-6.*
 55. Solaro, R.J. and H.M. Rarick, *Troponin and tropomyosin: proteins that switch on and tune in the activity of cardiac myofilaments. Circ Res, 1998. 83(5): p. 471-80.*
 56. Brenner, B. and E. Eisenberg, *The mechanism of muscle contraction. Biochemical, mechanical, and structural approaches to elucidate cross-bridge action in muscle. Basic Res Cardiol, 1987. 82 Suppl 2: p. 3-16.*
 57. Eisenberg, E. and L.E. Greene, *The relation of muscle biochemistry to muscle physiology. Annu Rev Physiol, 1980. 42: p. 293-309.*
 58. Tobacman, L.S., *Thin filament-mediated regulation of cardiac contraction. Annu Rev Physiol, 1996. 58: p. 447-81.*
 59. Bhatia, R.S., et al., *Outcome of heart failure with preserved ejection fraction in a population-based study. N Engl J Med, 2006. 355(3): p. 260-9.*
 60. Owan, T.E., et al., *Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. N Engl J Med, 2006. 355(3): p. 251-9.*
 61. Lam, C.S., et al., *Epidemiology and clinical course of heart failure with preserved ejection fraction. Eur J Heart Fail, 2011. 13(1): p. 18-28.*
 62. Hogg, K., K. Swedberg, and J. McMurray, *Heart failure with preserved left ventricular systolic function; epidemiology, clinical characteristics, and prognosis. J Am Coll Cardiol, 2004. 43(3): p. 317-27.*

63. Meta-analysis Global Group in Chronic Heart, F., *The survival of patients with heart failure with preserved or reduced left ventricular ejection fraction: an individual patient data meta-analysis*. Eur Heart J, 2012. **33**(14): p. 1750-7.
64. Steinberg, B.A., et al., *Trends in patients hospitalized with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction: prevalence, therapies, and outcomes*. Circulation, 2012. **126**(1): p. 65-75.
65. Borlaug, B.A., et al., *Impaired chronotropic and vasodilator reserves limit exercise capacity in patients with heart failure and a preserved ejection fraction*. Circulation, 2006. **114**(20): p. 2138-47.
66. Lam, C.S., et al., *Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction: a community-based study*. J Am Coll Cardiol, 2009. **53**(13): p. 1119-26.
67. Zile, M.R., C.F. Baicu, and W.H. Gaasch, *Diastolic heart failure--abnormalities in active relaxation and passive stiffness of the left ventricle*. N Engl J Med, 2004. **350**(19): p. 1953-9.
68. Kitzman, D.W., et al., *Pathophysiological characterization of isolated diastolic heart failure in comparison to systolic heart failure*. JAMA, 2002. **288**(17): p. 2144-50.
69. Solomon, S.D., et al., *Influence of ejection fraction on cardiovascular outcomes in a broad spectrum of heart failure patients*. Circulation, 2005. **112**(24): p. 3738-44.
70. Fukuta, H. and W.C. Little, *Contribution of systolic and diastolic abnormalities to heart failure with a normal and a reduced ejection fraction*. Prog Cardiovasc Dis, 2007. **49**(4): p. 229-40.
71. Wang, J., et al., *Preserved left ventricular twist and circumferential deformation, but depressed longitudinal and radial deformation in patients with diastolic heart failure*. Eur Heart J, 2008. **29**(10): p. 1283-9.
72. Komajda, M. and C.S. Lam, *Heart failure with preserved ejection fraction: a clinical dilemma*. Eur Heart J, 2014. **35**(16): p. 1022-32.
73. Massie, B.M., et al., *Irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction*. N Engl J Med, 2008. **359**(23): p. 2456-67.
74. Yusuf, S., et al., *Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial*. Lancet, 2003. **362**(9386): p. 777-81.

75. Cleland, J.G., et al., *The perindopril in elderly people with chronic heart failure (PEP-CHF) study*. Eur Heart J, 2006. **27**(19): p. 2338-45.
76. Campbell, R.T., et al., *What have we learned about patients with heart failure and preserved ejection fraction from DIG-PEF, CHARM-preserved, and I-PRESERVE?* J Am Coll Cardiol, 2012. **60**(23): p. 2349-56.
77. Stewart, S., et al., *The current cost of heart failure to the National Health Service in the UK*. Eur J Heart Fail, 2002. **4**(3): p. 361-71.
78. *Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators*. N Engl J Med, 1991. **325**(5): p. 293-302.
79. Kjekshus, J., K. Swedberg, and S. Snapinn, *Effects of enalapril on long-term mortality in severe congestive heart failure. CONSENSUS Trial Group*. Am J Cardiol, 1992. **69**(1): p. 103-7.
80. *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): p. 2001-7.
81. Packer, M., et al., *Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure*. N Engl J Med, 2001. **344**(22): p. 1651-8.
82. Segev, A. and Y.A. Mekori, *The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II*. Lancet, 1999. **353**(9161): p. 1361.
83. Conraads, V.M., et al., *Effects of the long-term administration of nebivolol on the clinical symptoms, exercise capacity, and left ventricular function of patients with diastolic dysfunction: results of the ELANDD study*. Eur J Heart Fail, 2012. **14**(2): p. 219-25.
84. Fonarow, G.C., et al., *Characteristics, treatments, and outcomes of patients with preserved systolic function hospitalized for heart failure: a report from the OPTIMIZE-HF Registry*. J Am Coll Cardiol, 2007. **50**(8): p. 768-77.
85. Lund, L.H., et al., *Association between use of renin-angiotensin system antagonists and mortality in patients with heart failure and preserved ejection fraction*. JAMA, 2012. **308**(20): p. 2108-17.
86. Ahmed, A., et al., *Effects of digoxin on morbidity and mortality in diastolic heart failure: the ancillary digitalis investigation group trial*. Circulation, 2006. **114**(5): p. 397-403.

87. Redfield, M.M., et al., *Phosphodiesterase-5 Inhibition to Improve Clinical Status and Exercise Capacity in Diastolic Heart Failure (RELAX) trial: rationale and design*. *Circ Heart Fail*, 2012. **5**(5): p. 653-9.
88. Solomon, S.D., et al., *The angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 in heart failure with preserved ejection fraction: a phase 2 double-blind randomised controlled trial*. *Lancet*, 2012. **380**(9851): p. 1387-95.
89. Edelmann, F., et al., *Effect of spironolactone on diastolic function and exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the Aldo-DHF randomized controlled trial*. *JAMA*, 2013. **309**(8): p. 781-91.
90. Desai, A.S., et al., *Rationale and design of the treatment of preserved cardiac function heart failure with an aldosterone antagonist trial: a randomized, controlled study of spironolactone in patients with symptomatic heart failure and preserved ejection fraction*. *Am Heart J*, 2011. **162**(6): p. 966-972 e10.
91. Tamargo, J., et al., *New investigational drugs for the management of acute heart failure syndromes*. *Curr Med Chem*, 2010. **17**(4): p. 363-90.
92. Toma, M. and R.C. Starling, *Inotropic therapy for end-stage heart failure patients*. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2010. **12**(5): p. 409-19.
93. Hasenfuss, G. and J.R. Teerlink, *Cardiac inotropes: current agents and future directions*. *Eur Heart J*, 2011. **32**(15): p. 1838-45.
94. Sabbah, H.N., et al., *Hemodynamic properties of a new-generation positive lusototropic agent for the acute treatment of advanced heart failure*. *Am J Cardiol*, 2007. **99**(2A): p. 41A-46A.
95. Khan, H., et al., *Istaroxime, a first in class new chemical entity exhibiting SERCA-2 activation and Na-K-ATPase inhibition: a new promising treatment for acute heart failure syndromes?* *Heart Fail Rev*, 2009. **14**(4): p. 277-87.
96. Tavares, M., et al., *New pharmacologic therapies for acute heart failure*. *Crit Care Med*, 2008. **36**(1 Suppl): p. S112-20.
97. Hamlyn, J.M., et al., *A circulating inhibitor of (Na⁺ + K⁺)ATPase associated with essential hypertension*. *Nature*, 1982. **300**(5893): p. 650-2.
98. Campia, U., S. Nodari, and M. Gheorghiade, *Acute heart failure with low cardiac output: can we develop a short-term inotropic agent that does not increase adverse events?* *Curr Heart Fail Rep*, 2010. **7**(3): p. 100-9.

99. Gheorghiade, M., et al., *Combining SERCA2a activation and Na-K ATPase inhibition: a promising new approach to managing acute heart failure syndromes with low cardiac output*. *Discov Med*, 2011. **12**(63): p. 141-51.
100. Gheorghiade, M., et al., *Hemodynamic, echocardiographic, and neurohormonal effects of istaroxime, a novel intravenous inotropic and lusitropic agent: a randomized controlled trial in patients hospitalized with heart failure*. *J Am Coll Cardiol*, 2008. **51**(23): p. 2276-85.
101. Hoffman, T.M., *Newer inotropes in pediatric heart failure*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2011. **58**(2): p. 121-5.
102. Gobbini, M., et al., *Novel analogues of Istaroxime, a potent inhibitor of Na(+),K(+)-ATPase: Synthesis, structure-activity relationship and 3D-quantitative structure-activity relationship of derivatives at position 6 on the androstane scaffold*. *Bioorg Med Chem*, 2010. **18**(12): p. 4275-99.
103. Starr, J.P., *Tetralogy of fallot: yesterday and today*. *World J Surg*, 2010. **34**(4): p. 658-68.
104. Duro, R.P., C. Moura, and A. Leite-Moreira, *Anatomophysiologic basis of tetralogy of Fallot and its clinical implications*. *Rev Port Cardiol*, 2010. **29**(4): p. 591-630.
105. Jang, W., et al., *Mid-term results of bioprosthetic pulmonary valve replacement in pulmonary regurgitation after tetralogy of Fallot repair*. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2012. **42**(1): p. e1-8.
106. Babu-Narayan, S.V., et al., *Clinical Outcomes of Surgical Pulmonary Valve Replacement after Repair of Tetralogy of Fallot and Potential Prognostic Value of Preoperative Cardiopulmonary Exercise Testing*. *Circulation*, 2013.
107. Ahmad, N., et al., *Influence of RV restrictive physiology on LV diastolic function in children after tetralogy of Fallot repair*. *J Am Soc Echocardiogr*, 2012. **25**(8): p. 866-73.
108. Koyak, Z., et al., *Sudden cardiac death in adult congenital heart disease*. *Circulation*, 2012. **126**(16): p. 1944-54.
109. Zeltser, I., et al., *The roles of chronic pressure and volume overload states in induction of arrhythmias: an animal model of physiologic sequelae after repair of tetralogy of Fallot*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005. **130**(6): p. 1542-8.

110. Blanchard, E.M., et al., *The effects of 2,3-butanedione monoxime on initial heat, tension, and aequorin light output of ferret papillary muscles*. Pflugers Arch, 1990. **416**(1-2): p. 219-21.
111. Perreault, C.L., et al., *Cellular basis of negative inotropic effect of 2,3-butanedione monoxime in human myocardium*. Am J Physiol, 1992. **263**(2 Pt 2): p. H503-10.
112. Gwathmey, J.K., R.J. Hajjar, and R.J. Solaro, *Contractile deactivation and uncoupling of crossbridges. Effects of 2,3-butanedione monoxime on mammalian myocardium*. Circ Res, 1991. **69**(5): p. 1280-92.
113. Solaro, R.J., *Regulation of Ca(2+)-signaling in cardiac myofilaments*. Med Sci Sports Exerc, 1991. **23**(10): p. 1145-8.
114. Phillips, R.M. and R.A. Altschuld, *2,3-Butanedione 2-monoxime (BDM) induces calcium release from canine cardiac sarcoplasmic reticulum*. Biochem Biophys Res Commun, 1996. **229**(1): p. 154-7.
115. Fryer, M.W., I.R. Neering, and D.G. Stephenson, *Effects of 2,3-butanedione monoxime on the contractile activation properties of fast- and slow-twitch rat muscle fibres*. J Physiol, 1988. **407**: p. 53-75.
116. Mulieri, L.A., et al., *Protection of human left ventricular myocardium from cutting injury with 2,3-butanedione monoxime*. Circ Res, 1989. **65**(5): p. 1441-9.
117. Paradise, N.F., J.L. Schmitter, and J.M. Surmitis, *Criteria for adequate oxygenation of isometric kitten papillary muscle*. Am J Physiol, 1981. **241**(3): p. H348-53.
118. von Lewinski, D., et al., *Mechanistic insight into the functional and toxic effects of Strophanthidin in the failing human myocardium*. Eur J Heart Fail, 2007. **9**(11): p. 1086-94.
119. Ferrari, P., et al., *Targeting SERCA2a as an innovative approach to the therapy of congestive heart failure*. Med Hypotheses, 2007. **68**(5): p. 1120-5.
120. Alemanni, M., et al., *Role and mechanism of subcellular Ca²⁺ distribution in the action of two inotropic agents with different toxicity*. J Mol Cell Cardiol, 2011. **50**(5): p. 910-8.
121. Lo Giudice, P., et al., *Chronic istaroxime improves cardiac function and heart rate variability in cardiomyopathic hamsters*. Cardiovasc Drugs Ther, 2011. **25**(2): p. 133-8.
122. Shah, S.J., et al., *Effects of istaroxime on diastolic stiffness in acute heart failure syndromes: results from the Hemodynamic, Echocardiographic, and*

- Neurohormonal Effects of Istaroxime, a Novel Intravenous Inotropic and Lusitropic Agent: a Randomized Controlled Trial in Patients Hospitalized with Heart Failure (HORIZON-HF) trial.* Am Heart J, 2009. **157**(6): p. 1035-41.
123. Ghali, J.K., et al., *A phase 1-2 dose-escalating study evaluating the safety and tolerability of istaroxime and specific effects on electrocardiographic and hemodynamic parameters in patients with chronic heart failure with reduced systolic function.* Am J Cardiol, 2007. **99**(2A): p. 47A-56A.
124. Micheletti, R., et al., *Istaroxime, a stimulator of sarcoplasmic reticulum calcium adenosine triphosphatase isoform 2a activity, as a novel therapeutic approach to heart failure.* Am J Cardiol, 2007. **99**(2A): p. 24A-32A.
125. Hohendanner, F., et al., *Intracellular dyssynchrony of diastolic cytosolic [Ca(2)(+)] decay in ventricular cardiomyocytes in cardiac remodeling and human heart failure.* Circ Res, 2013. **113**(5): p. 527-38.
126. Guihaire, J., et al., *The Right Heart in Congenital Heart Disease, Mechanisms and Recent Advances.* J Clin Exp Cardiol, 2012. **8**(10): p. 1-11.
127. Rocchetti, M., et al., *Modulation of sarcoplasmic reticulum function by PST2744 [istaroxime; (E,Z)-3-((2-aminoethoxy)imino) androstane-6,17-dione hydrochloride] in a pressure-overload heart failure model.* J Pharmacol Exp Ther, 2008. **326**(3): p. 957-65.
128. Lambert, V., et al., *Right ventricular failure secondary to chronic overload in congenital heart disease: an experimental model for therapeutic innovation.* J Thorac Cardiovasc Surg, 2010. **139**(5): p. 1197-204, 1204 e1.
129. Khairy, P., et al., *Arrhythmia burden in adults with surgically repaired tetralogy of Fallot: a multi-institutional study.* Circulation, 2010. **122**(9): p. 868-75.
130. Ghorbel, M.T., et al., *Transcriptomic analysis of patients with tetralogy of Fallot reveals the effect of chronic hypoxia on myocardial gene expression.* J Thorac Cardiovasc Surg, 2010. **140**(2): p. 337-345 e26.
131. Luijnenburg, S.E., et al., *Abnormal right atrial and right ventricular diastolic function relate to impaired clinical condition in patients operated for tetralogy of Fallot.* Int J Cardiol, 2013. **167**(3): p. 833-9.
132. Minegishi, S., et al., *Mechanism of pressure-overload right ventricular hypertrophy in infant rabbits.* Int Heart J, 2011. **52**(1): p. 56-60.

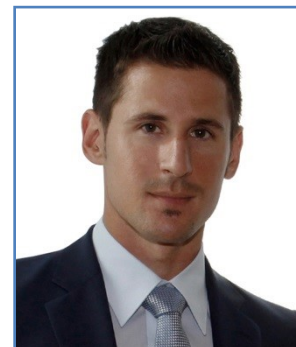
133. Sachdev, M.S., et al., *Right ventricular diastolic function after repair of tetralogy of Fallot*. *Pediatr Cardiol*, 2006. **27**(2): p. 250-5.
134. Apitz, C., et al., *Impact of restrictive physiology on intrinsic diastolic right ventricular function and lusitropy in children and adolescents after repair of tetralogy of Fallot*. *Heart*, 2010. **96**(22): p. 1837-41.
135. van den Berg, J., et al., *Diastolic function in repaired tetralogy of Fallot at rest and during stress: assessment with MR imaging*. *Radiology*, 2007. **243**(1): p. 212-9.
136. Friedberg, M.K., et al., *Impaired right and left ventricular diastolic myocardial mechanics and filling in asymptomatic children and adolescents after repair of tetralogy of Fallot*. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2012. **13**(11): p. 905-13.
137. Koestenberger, M., et al., *Systolic right ventricular function in children and young adults with pulmonary artery hypertension secondary to congenital heart disease and tetralogy of Fallot: tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) and magnetic resonance imaging data*. *Congenit Heart Dis*, 2012. **7**(3): p. 250-8.
138. Reddy, S., et al., *Physiologic and molecular characterization of a murine model of right ventricular volume overload*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013. **304**(10): p. H1314-27.

7 Anhang

7.1 Lebenslauf

PERSONAL DETAILS

Name	Dr. med. univ. Markus WALLNER
Address	Auenbruggerplatz 15 8036 Graz, Austria
Phone	+43 (0)316 385 12544
e-mail	markus.wallner@medunigraz.at
Nationality	Austria
Date of birth	16/01/1984



EDUCATION

since November 2010	Resident-Internal Medicine and Cardiology <i>Medical University of Graz, Division of Cardiology</i> Prof. Burkert Pieske Head, Department of Cardiology Head, University Heart Center
since October 2010	Cardiovascular Doctoral School (PhD equivalent) <i>Medical University of Graz</i>
2003 –2010	Medical Student, School of Medicine <i>Medical University of Graz</i>
November 2002 - July 2003	Military Service <i>Jägerbatallion 26, Spittal/Drau, Austria</i>
September 1998 - June 2002	University-Entrance diploma <u>with distinction</u> <i>BORG Spittal/Drau, Austria; 4 years; all <u>with distinction</u></i>
September 1994 - June 1998	Secondary School, 4 years, finished all <u>with distinction</u> <i>Europahauptschule Dellach im Drautal, Austria</i>
September 1990 - June 1994	Primary school, 4 years, finished all <u>with distinction</u> <i>Volksschule Dellach im Drautal</i>

SCIENTIFIC EXPERIENCE

Skills in multicellular preparations and functional measurements, single cells and confocal microscopy.

Experience in studying the functional effects of bile acids and pharmacological modulation of contractility in human atrial myocardium

Research interests in the field of excitation contraction coupling and subcellular ion homeostasis

Background in the effects of mild hypothermia on circulatory and pulmonary dysfunction during experimental endotoxemia.

Background in pharmacological treatment of a *Candida parapsilosis* endocarditis.

Expertise in congenital heart disease: diploma thesis: Comparison of different surgical techniques in PatientInnen with sinus venosus defect. Impact of different surgical procedures on sinus node dysfunction and vena cava superior obstruction

Chairman at annual meeting of Austrian Society of Cardiology 2012 and 2013

Reviewer for ESC Congress 2013 (Amsterdam)

Reviewer for ESC Congress 2014 (Barcelona)

Member of **ESC Congress Programme Committee** ESC Congress 2014 (Barcelona)

Experience in the conduct of clinical trials (Atlantis ACS, Fer-Cars 05, Socrates)

Co-Supervisor of dissertations (currently 3 medical students under my supervision)

WORK EXPERIENCE

Resident at the Medical University of Graz, Austria, Division of Cardiology since 12/2010. Knowledge in cardiac rhythm management, device therapy, transthoracic and transesophageal echocardiography, cardiac catheterization. Highly interested in cardiovascular basic research, especially ion homeostasis and heart failure.

MEMBERSHIP & FUNCTION

Nucleus Member of the ESC Working Group Cardiologists of Tomorrow
National Leader of the Austrian Society of Cardiology Working Group "Cardiologists of Tomorrow Austria"
Fellow Speaker of the Scientific Cardiovascular Doctoral School (PhD equivalent) Graz, Austria

HONOURS

Performance Scholarship from Medical University of Graz (2010)
Advancement Scholarship for above-average research performance (Medical University of Graz – 2010)
Styrian Medical Association Award 2012

ADDITIONAL SKILLS

LANGUAGES

German, English, Italian

List of publications – Dr. med. univ. Markus Wallner

Peer-reviewed Publications

2014

Wallner, M; Zweiker, R; Maier, R; Strunk, D; von Lewinski, D Massive fistulization into the left ventricle of a transplanted heart. Herz, 2014.

2013

Lewinski, D; Schuchlenz, H; Doppler, R; Wallner, M; Pieske, B Dual platelet inhibition in ACS - the styrian consensus
Cor et Vasa 2013

Rainer, PP; Primessnig, U; Harenkamp, S; Doleschal, B; Wallner, M; Fauler, G; Stojakovic, T; Wachter, R; Yates, A; Groschner, K; Trauner, M; Pieske, BM; von Lewinski, D Bile acids induce arrhythmias in human atrial myocardium--implications for altered serum bile acid composition in PatientInnens with atrial fibrillation.
Heart. 2013;

Schwarzl, M; Seiler, S; Wallner, M; von Lewinski, D; Huber, S; Maechler, H; Steendijk, P; Zelzer, S; Truschnig-Wilders, M; Obermayer-Pietsch, B; Lueger, A; Pieske, BM; Post, H Mild Hypothermia Attenuates Circulatory and Pulmonary Dysfunction During Experimental Endotoxemia.
Crit Care Med. 2013;

Wallner, M; Steyer, G; Krause, R; Gstettner, C; von Lewinski, D Fungal endocarditis of a bioprosthetic aortic valve : Pharmacological treatment of a Candida parapsilosis endocarditis.
Herz. 2013; 38(4):431-434

2012

Sacherer, M; Sedej, S; Wakula, P; Wallner, M; Vos, MA; Kockskämper, J; Stiegler, P; Sereinigg, M; von Lewinski, D; Antoons, G; Pieske, BM; Heinzl, FR; CONTICA investigators JTV519 (K201) Reduces Sarcoplasmic Reticulum Ca(2+) Leak and Improves Diastolic Function in vitro in Ouabain-Induced Cellular Ca(2+) Overload in Murine and Human Non-Failing Myocardium.
Br J Pharmacol. 2012; 167(3):493-504

Abstracts

Wallner, M; Rainer, PP; Mächler, H; Pichler, M; Pieske, B; von Lewinski, D Funktionelle Effekte der Multikinase-Inhibitoren Sorafenib und Sunitinib Supplement 01/13 Wiener Klinische Wochenschrift; XIV-5. 2013; -Österreichische Kardiologische Gesellschaft Jahrestagung 2013; JUN 5-8; 2103; Salzburg, AUSTRIA. [Poster]

Wallner, M; Rainer, PP; Mächler, H; Pichler, M; Pieske, B; von Lewinski, D; Kardiotoxische Effekte von Multikinase Inhibitoren. Clin Res Cardiol 102, Suppl 1, April 2013; P1705 . 2013; -79. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie; APR 3-6, 2013; Mannheim, GERMANY. [Poster]

Schwarzl, M; Seiler, S; **Wallner, M;** Huber, S; Steendijk, P; Maechler, H; Truschnig-Wilders, M; Von Lewinski, D; Pieske, B; Post, H The induction of mild hypothermia prevents sympathetic activation and improves myocardial beta-adrenergic responsiveness during endotoxemia in pigs. CARDIOVASC RES. Cardiovasc Res 2012;93(Suppl. 1);S67. 2012; 93: S66-S67.-2nd Congress of the European-Society-of-Cardiology Council on Basic Cardiovascular Science - Frontiers in Cardiovascular Biology; MAR 30-APR 01, 2012; London, ENGLAND. [Poster]

Schwarzl, M; **Wallner, M;** Seiler, S; Huber, S; Steendijk, P; Maechler, H; Truschnig-Wilders, M; von Lewinski, D; Pieske, B; Post, H The induction of mild hypothermia prevents sympathetic activation in-vivo and improves in-vitro myocardial beta-adrenergic responsiveness during experimental sepsis in pigs. European Journal of Heart Failure Supplements 2012;11(Suppl 1):S180. 2012; -ESC Heart Failure Congress; MAY 19-22, 2012; Belgrade, SERBIA. [Poster]

Wallner, M Die Initiative „Young Cardiologists of Tomorrow“ ESC und ÖKG. Austrian Journal of Cardiology. 2012; -Jahrestagung der Österreichischen Kardiologischen Gesellschaft; MAY 30 - JUN 2, 2012; Salzburg, AUSTRIA. [Oral Communication]

Wallner, M; Schwarzl, M; Seiler, S; Huber, S; Steendijk, P; Mächler, H; Truschnig-Wilders, M; Pieske, B; von Lewinski, D; Post, H; Milde Hypothermie verbessert die myokardiale β -adrenerge Ansprechbarkeit und Kraft-Frequenzbeziehung während experimentell-induzierter Sepsis im Großtiermodell. Austrian Journal of Cardiology. 2012; -Jahrestagung der Österreichischen Kardiologischen Gesellschaft ; MAY 30 - JUN 2, 2012; Salzburg, AUSTRIA. [Poster]

Wallner, M; Schwarzl, M; Seiler, S; Huber, S; Steendijk, P; Mächler, H; Truschnig-Wilders, M; Pieske, B; von Lewinski, D; Post, H The Induction of Mild Hypothermia Improves Myocardial β -Adrenergic Responsiveness and the Force-Frequency Response During Endotoxemia in Pigs. Clin Res Cardiol 2012;101(Suppl 1):P400. 2012; -78. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie; APR 11-14, 2012; Mannheim, GERMANY. [Poster]

Wallner, M; Schwarzl, M; Seiler, S; Huber, S; Steendijk, P; Machler, H; Truschnig-Wilders, M; Pieske, B; von Lewinski, D; Post, H The Induction of Mild Hypothermia Improves Myocardial beta-Adrenergic Responsiveness During Endotoxemia in Pigs.CIRCULATION. 2011; 124(21): [Poster]

Wallner, M; Beran, E; Ovcina, I; Curcic, P; Dacar, D; Tscheliessnigg, KH; Heinzl, B; Nagel, B; Gamillscheg, A; Knez, I; Verschiedene kinderherzchirurgische Techniken bei PatientInnenmit Sinus Venosus Defekt und rechtsseitiger partieller Lungenvenenfehlöffnung: Einfluss auf Sinusknotendysfunktion und Obstruktion der Vena cava superior. European Surgery 2010; 42(236):29-29.-51st Annual Meeting of the austrian Society of Surgery; June 2-4, 2010; Linz, Austria. [Oral Communication]

7.2 Deskriptive Statistik

Entwickelte Kraft [% von Lmax]

Gewebe	Parameter/Konz. [$\mu\text{mol/l}$]	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	-	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	Entwickelte Kraft (Lmax)	Istaroxime	9	100	0	100	0	100	-	100
		Strophanthidin	9	100	0	100	0	100	-	100
	Entwickelte Kraft (0.01)	Istaroxime	9	99.48	3.621	100	0	90.72	-	104.61
		Strophanthidin	9	97.19	9.494	100	0.36	75.39	-	109.49
	Entwickelte Kraft (0.03)	Istaroxime	9	100.31	14.873	97.59	7.97	89.81	-	138.47
		Strophanthidin	9	96.02	9.764	98.07	10.23	80.95	-	115.33
	Entwickelte Kraft (0.1)	Istaroxime	9	144.95	61.476	122.18	26.81	94.35	-	299.82
		Strophanthidin	9	125.59	23.642	120.83	34.45	102.34	-	173.36
	Entwickelte Kraft (0.3)	Istaroxime	9	201.11	101.985	160.29	73.75	117.35	-	434.13
		Strophanthidin	8	196.22	91.811	177.52	21.41	119.50	-	417.42
	Entwickelte Kraft (0.5)	Istaroxime	7	111.28	41.567	108.5	92.04	66.78	-	161.36
		Strophanthidin	8	143.64	70.019	144.57	104.54	23.66	-	232.96
	Entwickelte Kraft (1)	Istaroxime	4	82.69	18.272	91.69	18.48	55.28	-	92.08
		Strophanthidin	5	83.14	42.002	73.03	55.46	42.71	-	144.19
Fallot'sche Tetralogie	Entwickelte Kraft (Lmax)	Istaroxime	11	100	0	100	0	100	-	100
		Strophanthidin	8	100	0	100	0	100	-	100
	Entwickelte Kraft (0.01)	Istaroxime	11	94.36	10.933	98.49	13.02	78.75	-	116.23
		Strophanthidin	8	94.17	7.071	96.40	7.99	79.20	-	100.00
	Entwickelte Kraft (0.03)	Istaroxime	11	106.13	26.411	102.49	33.08	73.07	-	152.95
		Strophanthidin	8	102.68	15.288	101.75	13.44	84.06	-	135.01
	Entwickelte Kraft (0.1)	Istaroxime	11	181.96	109.777	134.92	62.87	109.8	-	413.12
		Strophanthidin	8	142.36	20.786	151.03	34.16	107.83	-	163.40
Entwickelte Kraft (0.3)	Istaroxime	10	209.04	106.828	201.73	168.76	37.69	-	374.89	
	Strophanthidin	8	184.82	59.831	177.62	32.18	111.69	-	317.66	
Entwickelte Kraft (0.5)	Istaroxime	8	194.99	86.189	215.39	127.77	100.94	-	347.56	
	Strophanthidin	6	156.92	53.984	166.80	73.31	89.67	-	237.48	
Entwickelte Kraft (1)	Istaroxime	3	93.64	25.016	105.51	45.62	64.9	-	110.52	
	Strophanthidin	3	102.71	26.595	98.88	52.77	78.24	-	131.01	
Atrium	Entwickelte Kraft (Lmax)	Istaroxime	13	100	0	100	0	100	-	100
		Strophanthidin	8	100	0	100	0	100	-	100
	Entwickelte Kraft (0.01)	Istaroxime	13	98.00	9.478	100	11.61	83.93	-	115.13
		Strophanthidin	8	99.19	2.289	100	0.00	93.53	-	100.00
	Entwickelte Kraft (0.03)	Istaroxime	13	112.45	33.107	101.52	32.70	70.22	-	193.61
		Strophanthidin	8	143.76	52.633	133.30	68.36	95.38	-	250.23
	Entwickelte Kraft (0.1)	Istaroxime	13	180.97	98.258	142.94	70.16	102.05	-	467.00
		Strophanthidin	8	201.94	100.605	184.99	163.21	95.05	-	356.90
Entwickelte Kraft (0.3)	Istaroxime	8	266.18	149.243	258.42	196.47	54.85	-	530.35	
	Strophanthidin	7	153.03	122.643	116.57	81.46	51.82	-	417.83	
Entwickelte Kraft (0.5)	Istaroxime	6	189.95	67.013	174.62	106.01	100.13	-	273.39	
	Strophanthidin	7	109.73	108.556	72.63	80.39	36.73	-	346.74	
Entwickelte Kraft (1)	Istaroxime	5	98.14	34.857	99.02	49.26	51.02	-	135.35	
	Strophanthidin	5	93.68	109.706	52.34	26.92	19.28	-	287.33	

Diastolische Kraft [mN/mm²]

Gewebe	Parameter/Konz. [$\mu\text{mol/l}$]	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	Diastolische Kraft (Lmax)	Istaroxime	9	1.31	0.845	1.22	0.81	0.08	2.80
		Strophanthidin	9	2.24	3.060	0.59	2.09	0.05	7.72
	Diastolische Kraft (0.01)	Istaroxime	9	1.24	0.801	1.22	1.10	0.08	2.50
		Strophanthidin	9	1.89	2.416	0.59	2.09	0.05	6.63
	Diastolische Kraft (0.03)	Istaroxime	9	1.24	0.797	1.22	1.21	0.08	2.40
		Strophanthidin	9	1.77	2.193	0.59	2.09	0.05	6.05
	Diastolische Kraft (0.1)	Istaroxime	9	1.28	0.968	1.22	1.81	0.08	2.56
		Strophanthidin	9	1.68	2.143	0.59	2.09	0.05	6.48
Diastolische Kraft (0.3)	Istaroxime	9	3.42	2.896	4.11	3.60	0.16	8.74	
	Strophanthidin	8	3.25	3.277	1.98	3.80	0.38	10.04	
Diastolische Kraft (0.5)	Istaroxime	7	9.09	8.340	6.41	15.12	0.39	21.45	
	Strophanthidin	8	6.66	6.251	5.05	9.31	0.47	16.89	
Diastolische Kraft (1)	Istaroxime	4	8.40	5.996	8.74	7.54	0.73	15.38	
	Strophanthidin	5	14.59	12.654	8.65	17.52	3.64	32.78	
Fallot'sche Tetralogie	Diastolische Kraft (Lmax)	Istaroxime	11	6.39	6.914	2.87	12.35	0.72	19.19
		Strophanthidin	8	4.68	3.888	3.22	3.11	1.80	13.43
	Diastolische Kraft (0.01)	Istaroxime	11	5.44	6.557	2.12	12.67	0.47	18.65
		Strophanthidin	8	4.08	2.786	3.22	2.62	1.80	10.25
	Diastolische Kraft (0.03)	Istaroxime	11	5.31	6.975	1.98	10.68	0.08	18.3
		Strophanthidin	8	3.83	2.256	3.22	2.72	1.8	8.46
	Diastolische Kraft (0.1)	Istaroxime	11	4.51	5.893	1.68	9.20	0.03	17.35
		Strophanthidin	8	3.77	2.359	3.22	2.76	1.78	8.76
Diastolische Kraft (0.3)	Istaroxime	10	6.57	11.625	2.18	2.57	0.70	38.49	
	Strophanthidin	8	3.87	2.283	3.35	2.77	1.96	8.66	
Diastolische Kraft (0.5)	Istaroxime	8	6.67	6.395	2.95	9.91	0.95	17.59	
	Strophanthidin	6	4.54	1.959	4.31	1.31	2.77	8.28	
Diastolische Kraft (1)	Istaroxime	3	7.49	7.412	4.55	13.92	2.00	15.93	
	Strophanthidin	3	6.24	1.304	6.54	2.56	4.81	7.37	
Atrium	Diastolische Kraft (Lmax)	Istaroxime	13	4.31	9.202	1.26	2.27	0.21	34.51
		Strophanthidin	8	4.85	5.731	2.45	6.85	0.33	16.59
	Diastolische Kraft (0.01)	Istaroxime	13	3.51	6.986	1.22	2.06	0.05	26.23
		Strophanthidin	8	4.30	5.519	2.42	4.99	0.04	16.59
	Diastolische Kraft (0.03)	Istaroxime	13	3.15	6.193	1.22	1.93	0.05	23.18
		Strophanthidin	8	4.28	5.656	2.25	5.35	0.02	16.59
	Diastolische Kraft (0.1)	Istaroxime	13	2.98	5.689	1.54	1.79	0.05	21.32
		Strophanthidin	8	4.70	5.938	2.23	7.59	0.12	15.13
Diastolische Kraft (0.3)	Istaroxime	8	5.35	7.180	2.62	4.35	0.82	22.07	
	Strophanthidin	7	6.47	7.132	4.22	10.70	0.51	20.08	
Diastolische Kraft (0.5)	Istaroxime	6	7.48	10.692	2.75	4.62	1.79	29.00	
	Strophanthidin	7	7.92	7.129	6.51	10.01	0.70	21.29	
Diastolische Kraft (1)	Istaroxime	5	6.57	4.770	4.84	5.81	2.37	13.83	
	Strophanthidin	5	9.63	8.943	5.29	9.51	1.67	23.46	

RT 50% [% von Lmax]

Gewebe	Parameter/Konz. [$\mu\text{mol/l}$]	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	RT50% (Lmax)	Istaroxime	9	100	0	100	0	100	100
		Strophanthidin	9	100	0	100	0	100	100
	RT50% (0.01)	Istaroxime	9	100.66	3.990	100.58	5.82	95.35	107.32
		Strophanthidin	9	99.34	5.908	97.71	6.83	92.00	108.33
	RT50% (0.03)	Istaroxime	9	104.07	6.061	105.04	6.49	94.77	114.62
		Strophanthidin	9	99.65	7.532	98.47	9.38	90.24	114.84
	RT50% (0.1)	Istaroxime	9	111.21	9.648	109.30	5.98	103.08	134.93
		Strophanthidin	9	102.14	7.592	101.71	12.00	89.02	111.72
	RT50% (0.3)	Istaroxime	9	116.07	7.429	116.81	6.27	104.29	129.45
		Strophanthidin	8	111.64	6.928	111.92	7.73	100.61	123.43
	RT50% (0.5)	Istaroxime	7	111.76	11.126	113.22	15.93	98.26	131.71
		Strophanthidin	8	109.65	7.191	110.19	5.67	97.58	122.86
	RT50% (1)	Istaroxime	4	100.75	5.839	98.93	6.82	95.91	109.24
		Strophanthidin	5	103.76	14.355	108.26	11.41	80.42	117.14
Fallot'sche Tetralogie	RT50% (Lmax)	Istaroxime	11	100	0	100	0	100	100
		Strophanthidin	8	100	0	100	0	100	100
	RT50% (0.01)	Istaroxime	11	99.53	6.647	99.20	10.62	90.48	111.30
		Strophanthidin	8	98.19	5.045	99.11	7.11	90.40	105.30
	RT50% (0.03)	Istaroxime	11	98.67	6.114	98.18	8.29	90.40	108.70
		Strophanthidin	8	99.05	12.289	99.04	13.26	82.48	122.73
	RT50% (0.1)	Istaroxime	11	88.95	31.479	93.89	12.88	6.85	135.24
		Strophanthidin	8	97.60	11.701	97.65	8.14	77.37	118.94
	RT50% (0.3)	Istaroxime	10	92.68	26.885	92.10	38.17	48.63	139.13
		Strophanthidin	8	87.40	12.617	89.29	18.58	66.42	104.17
RT50% (0.5)	Istaroxime	8	99.12	29.621	88.41	32.68	73.33	162.67	
	Strophanthidin	6	76.63	11.841	75.67	16.69	62.72	94.70	
RT50% (1)	Istaroxime	3	156.46	142.795	75.56	248.85	72.48	321.33	
	Strophanthidin	3	72.38	9.219	75.00	17.87	62.13	80.00	
Atrium	RT50% (Lmax)	Istaroxime	13	100	0	100	0	100	100
		Strophanthidin	8	100	0	100	0	100	100
	RT50% (0.01)	Istaroxime	13	133.53	95.429	109.21	15.97	54.62	444.00
		Strophanthidin	8	102.85	8.612	103.43	14.05	90.36	114.10
	RT50% (0.03)	Istaroxime	13	124.86	73.316	108.97	10.82	73.85	365.33
		Strophanthidin	8	99.77	9.477	97.96	15.25	87.95	113.47
	RT50% (0.1)	Istaroxime	12	96.66	20.814	107.42	29.09	56.15	114.86
		Strophanthidin	8	106.32	12.681	108.16	18.35	85.90	122.67
RT50% (0.3)	Istaroxime	8	95.16	18.557	97.05	21.75	62.60	121.05	
	Strophanthidin	7	102.7	15.079	102.67	15.80	78.21	126.76	
RT50% (0.5)	Istaroxime	6	188.44	187.605	126.62	16.58	64.23	568.00	
	Strophanthidin	7	110.47	18.473	105.33	18.31	85.90	144.19	
RT50% (1)	Istaroxime	5	298.84	177.41	222.22	132.14	158.11	596.00	
	Strophanthidin	5	156.33	86.015	122.67	12.01	103.85	309.30	

Dosiswirkungskurve: Maximal entwickelte Kraft [% von Lmax]

Gewebe	Parameter	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	Max. entwickelte Kraft	Istaroxime	9	211.44	106.950	161.36	155.44	117.35	434.13
		Strophanthidin	9	197.67	87.367	179.40	33.79	119.50	417.42
	Diastolische Kraft [mN/mm ²] bei Fmax	Istaroxime	9	2.72	2.073	1.85	2.83	0.16	5.93
		Strophanthidin	9	2.94	3.234	1.68	3.15	0.06	10.04
	RT50% [% von Lmax] bei Fmax	Istaroxime	9	116.31	8.832	114.88	6.27	104.29	134.93
		Strophanthidin	9	110.77	8.219	112.60	5.14	95.83	123.43
Fallot'sche Tetralogie	Max. entwickelte Kraft	Istaroxime	11	283.01	86.234	243.74	153.76	148.07	413.12
		Strophanthidin	8	186.10	59.028	178.37	27.84	111.69	317.66
	Diastolische Kraft [mN/mm ²] bei Fmax	Istaroxime	11	5.34	5.591	2.95	9.36	0.70	17.35
		Strophanthidin	8	3.94	2.219	3.22	2.38	1.96	8.66
	RT50% [% von Lmax] bei Fmax	Istaroxime	11	96.51	20.935	97.20	35.53	69.33	135.24
		Strophanthidin	8	88.19	10.565	86.98	17.47	75.15	104.17
Atrium	Max. entwickelte Kraft	Istaroxime	13	228.48	123.608	192.63	133.85	102.05	530.35
		Strophanthidin	8	220.68	106.590	206.46	146.41	107.48	417.83
	Diastolische Kraft [mN/mm ²] bei Fmax	Istaroxime	13	3.34	5.820	1.79	2.51	0.05	22.07
		Strophanthidin	8	4.19	5.124	2.57	5.19	0.12	15.13
	RT50% [% von Lmax] bei Fmax	Istaroxime	12	135.67	137.704	106.62	27.38	56.15	568.00
		Strophanthidin	8	102.50	14.519	105.56	20.80	78.21	122.67

Kraft-Frequenzbeziehung: entwickelte Kraft [% von Lmax] ohne Istaroxime/Strophanthidin

Gewebe	Parameter/Frequenz	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	Entwickelte Kraft (0.5 Hz)	Istaroxime	7	100	0	100	0.00	100	100
		Strophanthidin	7	100	0	100	0.00	100	100
	Entwickelte Kraft (1 Hz)	Istaroxime	7	107.92	29.252	102.93	55.91	70.63	148.48
		Strophanthidin	7	104.29	10.581	106.73	13.92	84.23	116.5
	Entwickelte Kraft (1.5Hz)	Istaroxime	7	104.59	48.827	84.65	59.83	54.2	199.25
		Strophanthidin	7	99.53	28.115	91.95	50.34	57.97	138.28
	Entwickelte Kraft (2 Hz)	Istaroxime	7	88.62	48.855	67.96	49.92	44.28	188.7
		Strophanthidin	7	87.41	38.436	80.73	74.12	40.81	147.76
	Entwickelte Kraft (2.5 Hz)	Istaroxime	7	66.99	42.171	51.85	51.95	25.92	150.56
		Strophanthidin	7	69.32	37.067	62.25	63.44	27.37	132.98
	Entwickelte Kraft (3 Hz)	Istaroxime	7	45.72	37.894	41758	39.87	14.43	124.54
		Strophanthidin	7	47.70	30.58	37.4	40.53	19.29	108
Atrium	Entwickelte Kraft (0.5 Hz)	Istaroxime	19	100	0	100	0.00	100	100
		Strophanthidin	17	100	0	100	0.00	100	100
	Entwickelte Kraft (1 Hz)	Istaroxime	19	138.93	35.738	144.67	68.84	87.35	210.02
		Strophanthidin	17	132.89	28.249	129.72	37.28	93.65	201.07
	Entwickelte Kraft (1.5Hz)	Istaroxime	19	147.36	64.213	138.77	72.39	66.44	315.37
		Strophanthidin	17	157.83	60.994	148.58	36.20	53.35	306.72
	Entwickelte Kraft (2 Hz)	Istaroxime	19	126.62	74.140	107.3	76.11	40.57	330.57
		Strophanthidin	17	161.62	75.237	152.09	64.92	59.79	323.68
	Entwickelte Kraft (2.5 Hz)	Istaroxime	19	116.81	74.353	95.39	87.96	21.36	343.18
		Strophanthidin	17	145.19	87.690	112.38	40.23	57.25	381.66
	Entwickelte Kraft (3 Hz)	Istaroxime	19	95.61	70.722	91.64	69.39	17.19	325.91
		Strophanthidin	17	125.05	104.863	98.97	42.26	35.6	461.25

Kraft-Frequenzbeziehung: diastolische Kraft [mN/mm²] ohne Istaroxime/Strophanthidin

Gewebe	Parameter/Frequenz	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	-	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	Diastolische Kraft (0.5 Hz)	Istaroxime	7	4.22	2.704	4.56	4.93	0.97	-	8.38
		Strophanthidin	7	5.09	7.117	0.88	13.16	0.19	-	17.07
	Diastolische Kraft (1 Hz)	Istaroxime	7	4.74	4.569	4.23	5.63	0.94	-	13.96
		Strophanthidin	7	4.89	7.224	0.83	12.88	0.01	-	17.45
	Diastolische Kraft (1.5Hz)	Istaroxime	7	6.6	6.639	6.25	9.22	0	-	19.23
		Strophanthidin	7	6.19	8.679	1.96	11.66	0.25	-	23.42
	Diastolische Kraft (2 Hz)	Istaroxime	7	9.93	8.841	8.23	17.63	0.52	-	23.93
		Strophanthidin	7	7.94	10.219	3.87	11.93	0.46	-	29.06
	Diastolische Kraft (2.5 Hz)	Istaroxime	7	14.67	10.635	13.41	23.35	2.91	-	30.09
		Strophanthidin	7	9.85	11.239	6.95	12.84	1.15	-	32.88
	Diastolische Kraft (3 Hz)	Istaroxime	7	21.32	12.128	21.26	25.47	7.73	-	37.84
		Strophanthidin	7	11.81	10.63	9.68	15.02	2.28	-	31.74
Atrium	Diastolische Kraft (0.5 Hz)	Istaroxime	19	3.55	4.154	2.87	3.15	0.16	-	18.73
		Strophanthidin	17	2.43	2.047	1.78	3.06	0.49	-	6.42
	Diastolische Kraft (1 Hz)	Istaroxime	19	3.26	4.08	2.58	2.76	0.12	-	18.01
		Strophanthidin	17	2.17	1.822	1.58	2.80	0.22	-	6.03
	Diastolische Kraft (1.5Hz)	Istaroxime	19	3.31	4.289	2.23	3.16	0.11	-	17.71
		Strophanthidin	17	2.22	1.982	1.68	2.27	0.35	-	6.47
	Diastolische Kraft (2 Hz)	Istaroxime	19	3.5	4.714	2.07	3.48	0.11	-	17.91
		Strophanthidin	17	2.7	2.915	1.51	2.51	0.35	-	9.81
	Diastolische Kraft (2.5 Hz)	Istaroxime	19	3.67	5.21	1.85	3.31	0.08	-	18.88
		Strophanthidin	17	3.06	3.662	1.45	2.57	0.3	-	11.79
	Diastolische Kraft (3 Hz)	Istaroxime	19	4.14	5.66	2.09	3.20	0.03	-	20.64
		Strophanthidin	17	3.78	4.611	1.41	6.40	0.03	-	13.19

Kraft-Frequenzbeziehung: RT50% [% von Lmax] ohne Istaroxime/Strophanthidin

Gewebe	Parameter/Frequenz	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	-	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	RT50% (0.5 Hz)	Istaroxime	7	100	0	100	0.00	100	-	100
		Strophanthidin	7	100	0	100	0.00	100	-	100
	RT50% (1 Hz)	Istaroxime	7	91.80	4.262	92.86	5.61	87.14	-	99.28
		Strophanthidin	7	88.77	8.411	87.86	16.70	77.02	-	100
	RT50% (1.5Hz)	Istaroxime	7	68.99	18.997	74.29	22.14	31.82	-	88.49
		Strophanthidin	7	71.53	20.253	69.72	32.32	37.89	-	99.25
	RT50% (2 Hz)	Istaroxime	7	79.62	7.800	82.35	13.39	67.14	-	88.49
		Strophanthidin	7	76.95	11.430	78.71	19.43	56.85	-	88.72
	RT50% (2.5 Hz)	Istaroxime	7	72.43	9.131	73.86	14.32	55.71	-	82.27
		Strophanthidin	7	64.40	29.193	75	30.35	2.82	-	85.71
	RT50% (3 Hz)	Istaroxime	7	57.69	7.138	58.44	5.46	42.38	-	63.31
		Strophanthidin	7	58.01	7.680	57.69	10.77	43.95	-	66.92
Atrium	RT50% (0.5 Hz)	Istaroxime	19	100	0	100	0.00	100	-	100
		Strophanthidin	17	100	0	100	0.00	100	-	100
	RT50% (1 Hz)	Istaroxime	19	103.92	9.292	102.3	16.96	92.68	-	124.32
		Strophanthidin	17	101.69	7.839	100	6.78	90.57	-	122.73
	RT50% (1.5Hz)	Istaroxime	19	104.46	16.287	105.48	17.96	69.44	-	144.74
		Strophanthidin	17	105.26	9.715	106.52	9.23	87.74	-	127.59
	RT50% (2 Hz)	Istaroxime	19	103.41	31.750	94.81	38.08	64.81	-	197.3
		Strophanthidin	17	103.02	18.689	100	16.37	81.13	-	160
	RT50% (2.5 Hz)	Istaroxime	19	93.31	28.935	82.72	44.38	54.88	-	155.17
		Strophanthidin	17	98.23	33.948	97.83	26.34	25.47	-	170.77
	RT50% (3 Hz)	Istaroxime	19	90.32	23.263	86.67	32.82	58.33	-	148.28
		Strophanthidin	17	91.28	19.605	87.5	12.92	69.57	-	144.87

Kraft-Frequenzbeziehung: Maximal entwickelte Kraft [% von Lmax]

Gewebe	Parameter/FFR	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	-	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	Max. entwickelte Kraft	Istaroxime	7	123.66	37.671	102.93	48.48	100.00	-	199.25
		Strophanthidin	7	116.36	17.428	113.10	30.43	100.00	-	147.76
	Diastolische Kraft [mN/mm ²] bei Fmax	Istaroxime	7	4.01	2.825	4.23	5.41	0.94	-	8.38
		Strophanthidin	7	4.80	7.008	0.88	12.40	0.01	-	17.07
	RT50% [% von Lmax] bei Fmax	Istaroxime	7	91.96	9.436	92.86	11.76	74.29	-	100.00
		Strophanthidin	7	86.28	10.959	79.58	22.98	75.71	-	100.00
Atrium	Max. entwickelte Kraft	Istaroxime	19	170.44	57.663	155.96	49.72	100.00	-	343.18
		Strophanthidin	17	183.85	91.411	153.14	50.63	112.38	-	461.25
	Diastolische Kraft [mN/mm ²] bei Fmax	Istaroxime	19	2.99	4.023	1.87	2.96	0.03	-	17.71
		Strophanthidin	17	2.51	2.724	1.51	2.70	0.03	-	9.92
	RT50% [% von Lmax] bei Fmax	Istaroxime	19	97.70	17.925	98.09	21.07	54.88	-	126.97
		Strophanthidin	17	101.48	9.504	103.95	12.58	82.22	-	115.15

Kraft-Frequenzbeziehung: entwickelte Kraft [% von Lmax] nach Inkubation mit 0.1µmol/l

Gewebe	Parameter/Frequenz	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	-	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	Entwickelte Kraft (0.5 Hz)	Istaroxime	7	100	0	100	0.00	100	-	100
		Strophanthidin	7	100	0	100	0.00	100	-	100
	Entwickelte Kraft (1 Hz)	Istaroxime	7	138.21	30.470	132.53	25.41	106.76	-	201.06
		Strophanthidin	7	133.31	13.107	128.20	24.95	117.61	-	148.39
	Entwickelte Kraft (1.5Hz)	Istaroxime	7	162.40	78.336	139.80	61.09	92.01	-	327.16
		Strophanthidin	7	159.98	56.259	122.26	97.01	112.48	-	250.78
	Entwickelte Kraft (2 Hz)	Istaroxime	7	157.23	98.944	125.23	67.80	81.08	-	371.49
		Strophanthidin	7	162.26	79.861	118.54	148.88	81.69	-	286.65
	Entwickelte Kraft (2.5 Hz)	Istaroxime	7	131.61	91.663	94.24	79.36	62.73	-	326.62
		Strophanthidin	7	136.69	88.937	97.17	185.30	63.76	-	273.55
	Entwickelte Kraft (3 Hz)	Istaroxime	7	85.15	82.547	50.11	62.70	35.43	-	264.64
		Strophanthidin	7	84.15	71.027	62.22	74.07	32.33	-	233.97
Atrium	Entwickelte Kraft (0.5 Hz)	Istaroxime	19	100	0	100	0.00	100	-	100
		Strophanthidin	17	100	0	100	0.00	100	-	100
	Entwickelte Kraft (1 Hz)	Istaroxime	19	112.13	34.416	101.65	38.17	54.63	-	175.18
		Strophanthidin	17	118.58	30.702	107.44	53.16	68.88	-	162.50
	Entwickelte Kraft (1.5Hz)	Istaroxime	19	126.12	78.538	110.37	58.37	21.45	-	378.72
		Strophanthidin	17	126.82	60.279	97.04	83.63	49.66	-	236.83
	Entwickelte Kraft (2 Hz)	Istaroxime	19	120.82	91.821	102.12	88.75	291.29	-	397.70
		Strophanthidin	17	124.05	64.361	97.25	81.25	50.88	-	277.51
	Entwickelte Kraft (2.5 Hz)	Istaroxime	19	114.57	101.120	93.26	102.30	318.68	-	424.28
		Strophanthidin	17	108.88	56.148	104.71	94.45	41.87	-	226.56
	Entwickelte Kraft (3 Hz)	Istaroxime	19	88.22	94.772	56.81	113.04	310.79	-	326.52
		Strophanthidin	17	87.39	54.371	72.22	58.19	19.17	-	194.94

Kraft-Frequenzbeziehung: diastolische Kraft [mN/mm²] nach Inkubation mit 0.1µmol/l

Gewebe	Parameter/Frequenz	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min	-	Max
nicht insuffizienter Ventrikel	Diastolische Kraft (0.5 Hz)	Istaroxime	7	3.07	3.233	2.79	4.63	0.06	-	9.01
		Strophanthidin	7	3.80	5.144	0.44	10.99	0.09	-	11.10
	Diastolische Kraft (1 Hz)	Istaroxime	7	3.76	4.116	2.79	7.44	0.03	-	10.60
		Strophanthidin	7	3.68	5.142	0.39	10.78	0.10	-	11.23
	Diastolische Kraft (1.5Hz)	Istaroxime	7	6.90	6.257	4.60	12.81	0.76	-	17.07
		Strophanthidin	7	4.93	6.042	0.72	10.90	0.07	-	14.66
	Diastolische Kraft (2 Hz)	Istaroxime	7	11.33	7.019	9.35	10.24	1.90	-	23.23
		Strophanthidin	7	6.67	6.797	2.76	11.35	0.76	-	17.39
	Diastolische Kraft (2.5 Hz)	Istaroxime	7	16.28	8.454	17.72	9.85	4.20	-	30.21
		Strophanthidin	7	9.13	8.636	5.17	12.91	1.25	-	24.44
	Diastolische Kraft (3 Hz)	Istaroxime	7	26.18	11.420	28.73	22.38	8.16	-	39.75
		Strophanthidin	7	12.27	10.578	8.40	14.54	2.40	-	31.74
Atrium	Diastolische Kraft (0.5 Hz)	Istaroxime	19	1.99	3.890	0.44	1.30	0.01	-	15.72
		Strophanthidin	17	1.33	1.573	0.44	0.98	0.02	-	4.94
	Diastolische Kraft (1 Hz)	Istaroxime	19	2.21	4.305	0.29	1.36	0.02	-	15.47
		Strophanthidin	17	1.39	1.509	0.53	1.37	0.03	-	4.18
	Diastolische Kraft (1.5Hz)	Istaroxime	19	2.65	5.010	0.64	1.34	0.02	-	15.67
		Strophanthidin	17	1.46	1.770	0.42	2.72	0.12	-	5.65
	Diastolische Kraft (2 Hz)	Istaroxime	19	3.39	5.813	0.68	2.97	0.03	-	18.36
		Strophanthidin	17	1.88	2.630	0.36	3.22	0.01	-	7.22
	Diastolische Kraft (2.5 Hz)	Istaroxime	19	4.37	6.828	1.18	4.72	0.01	-	23.88
		Strophanthidin	17	2.80	3.906	0.35	4.85	0.02	-	11.67
	Diastolische Kraft (3 Hz)	Istaroxime	19	6.09	7.861	3.04	9.67	0.02	-	29.80
		Strophanthidin	17	3.90	5.302	0.61	8.44	0.03	-	14.17

Kraft-Frequenzbeziehung: RT50% [% von Lmax] nach Inkubation mit 0.1µmol/l

Gewebe	Parameter/Frequenz	Gruppe	n	Mean	SD	Median	IQR	Min - Max
nicht insuffizienter Ventrikel	RT50% (0.5 Hz)	Istaroxime	7	100	0	100	0.00	100 - 100
		Strophanthidin	7	100	0	100	0.00	100 - 100
	RT50% (1 Hz)	Istaroxime	7	89.70	8.966	93.98	7.83	70.71 - 95.80
		Strophanthidin	7	90.46	7.200	89.78	8.74	79.80 - 102.23
	RT50% (1.5Hz)	Istaroxime	7	70.57	18.673	75.19	24.72	35.34 - 88.81
		Strophanthidin	7	71.05	21.046	76.69	41.61	39.78 - 96.03
	RT50% (2 Hz)	Istaroxime	7	75.52	9.619	77.06	18.31	62.50 - 87.41
		Strophanthidin	7	77.06	11.973	75.59	12.76	61.62 - 100.00
	RT50% (2.5 Hz)	Istaroxime	7	71.90	11.998	73.53	16.38	52.16 - 86.71
		Strophanthidin	7	67.19	24.469	70.55	24.54	19.69 - 98.41
	RT50% (3 Hz)	Istaroxime	7	57.65	8.482	61.33	11.54	41.38 - 65.03
		Strophanthidin	7	60.55	10.054	61.42	15.65	44.44 - 74.60
Atrium	RT50% (0.5 Hz)	Istaroxime	19	100	0	100	0.00	100 - 100
		Strophanthidin	17	100	0	100	0.00	100 - 100
	RT50% (1 Hz)	Istaroxime	17	101.63	17.558	102.63	15.07	51.46 - 131.96
		Strophanthidin	16	103.39	9.147	104.96	8.88	81.82 - 117.65
	RT50% (1.5Hz)	Istaroxime	17	105.50	30.280	97.47	29.21	73.79 - 195.70
		Strophanthidin	16	102.45	25.083	98.14	16.79	76.86 - 188.16
	RT50% (2 Hz)	Istaroxime	17	112.06	41.657	97.47	37.21	67.59 - 209.68
		Strophanthidin	16	103.19	29.462	98.63	21.06	75.58 - 205.26
	RT50% (2.5 Hz)	Istaroxime	17	106.99	41.973	100.00	70.58	40.98 - 185.57
		Strophanthidin	16	96.92	24.402	95.70	25.43	59.72 - 163.16
	RT50% (3 Hz)	Istaroxime	17	108.41	36.453	104.85	37.14	62.41 - 201.03
		Strophanthidin	16	93.80	19.688	92.43	29.53	64.46 - 134.21

Übersicht: entwickelte Kraft [% von Lmax] im nicht insuffizienten Ventrikel

Nicht insuffizienter Ventrikel	Statistik	Lmax	0.01 µmol/l	0.03 µmol/l	0.1 µmol/l	0.3 µmol/l	0.5 µmol/l	1 µmol/l
Istaroxime	Valid n	4	4	4	4	4	4	4
	Mean	100.00	97.68	97.33	118.90	149.54	141.34	82.69
	SD	0.000	4.638	4.086	19.987	21.635	24.669	18.272
	Median	100.0	100.0	99.0	119.2	158.6	147.8	91.7
	IQR	0.00	4.64	4.55	27.32	24.88	37.92	18.48
	Min	100.0	90.7	91.2	94.4	117.4	108.5	55.3
	Max	100.0	100.0	100.0	142.9	163.7	161.4	92.1
Strophanthidin	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	100.00	93.04	92.34	113.52	164.34	158.83	83.14
	SD	0.000	10.725	7.765	15.562	25.497	46.746	42.002
	Median	100.0	99.6	91.9	105.9	176.0	149.2	73.0
	IQR	0.00	9.82	9.35	8.13	11.22	43.56	55.46
	Min	100.0	75.4	81.0	102.3	119.5	98.8	42.7
	Max	100.0	100.0	100.0	140.4	179.4	222.7	144.2
Istaroxime	Valid n	7	7	7	7	7	7	7
	Mean	100.00	98.67	96.36	119.84	186.51	111.28	
	SD	0.000	3.506	3.957	15.255	110.424	41.567	
	Median	100.0	100.0	97.6	117.9	156.8	108.5	
	IQR	0.00	0.00	7.97	18.69	27.95	92.04	
	Min	100.0	90.7	90.2	94.4	117.4	66.8	
	Max	100.0	100.0	100.0	142.9	434.1	161.4	
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	96.84	95.76	122.92	196.22	143.64	
	SD	0.000	10.086	10.405	23.789	91.811	70.019	
	Median	100.0	100.0	95.5	117.2	177.5	144.6	
	IQR	0.00	5.09	11.12	25.33	21.41	104.54	
	Min	100.0	75.4	81.0	102.3	119.5	23.7	
	Max	100.0	109.5	115.3	173.4	417.4	233.0	
Istaroxime	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	100.00	99.48	100.31	144.95	201.11		
	SD	0.000	3.621	14.873	61.476	101.985		
	Median	100.0	100.0	97.6	122.2	160.3		
	IQR	0.00	0.00	7.97	26.81	73.75		
	Min	100.0	90.7	89.8	94.4	117.4		
	Max	100.0	104.6	138.5	299.8	434.1		
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	96.84	95.76	122.92	196.22		
	SD	0.000	10.086	10.405	23.789	91.811		
	Median	100.0	100.0	95.5	117.2	177.5		
	IQR	0.00	5.09	11.12	25.33	21.41		
	Min	100.0	75.4	81.0	102.3	119.5		
	Max	100.0	109.5	115.3	173.4	417.4		
Istaroxime	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	100.00	99.48	100.31	144.95			
	SD	0.000	3.621	14.873	61.476			
	Median	100.0	100.0	97.6	122.2			
	IQR	0.00	0.00	7.97	26.81			
	Min	100.0	90.7	89.8	94.4			
	Max	100.0	104.6	138.5	299.8			
Strophanthidin	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	100.00	97.19	96.02	125.59			
	SD	0.000	9.494	9.764	23.642			
	Median	100.0	100.0	98.1	120.8			
	IQR	0.00	0.36	10.23	34.45			
	Min	100.0	75.4	81.0	102.3			
	Max	100.0	109.5	115.3	173.4			

Übersicht: entwickelte Kraft [% von Lmax] im ToF Ventrikel

Fallot'sche Tetralogie	Statistik	Lmax	0.01 µmol/l	0.03 µmol/l	0.1 µmol/l	0.3 µmol/l	0.5 µmol/l	1 µmol/l
Istaroxime	Valid n	3	3	3	3	3	3	3
	Mean	100.00	105.17	109.17	133.67	190.90	191.46	93.64
	SD	0.000	9.590	7.727	6.037	52.615	74.393	25.016
	Median	100.0	100.1	107.4	134.9	192.8	224.4	105.5
	IQR	0.00	17.09	15.14	11.88	105.18	137.45	45.62
	Min	100.0	99.1	102.5	127.1	137.4	106.3	64.9
	Max	100.0	116.2	117.6	139.0	242.6	243.7	110.5
Strophanthidin	Valid n	3	3	3	3	3	3	3
	Mean	100.00	96.14	99.60	134.83	183.24	170.22	102.71
	SD	0.000	5.569	9.221	18.811	10.628	9.977	26.595
	Median	100.0	98.7	101.1	129.0	181.9	174.8	98.9
	IQR	0.00	10.24	18.26	36.25	21.13	18.28	52.77
	Min	100.0	89.8	89.7	119.6	173.3	158.8	78.2
	Max	100.0	100.0	108.0	155.9	194.5	177.1	131.0
Istaroxime	Valid n	8	8	8	8	8	8	
	Mean	100.00	94.06	93.99	136.57	240.07	194.99	
	SD	0.000	12.488	15.920	23.075	92.377	86.189	
	Median	100.0	95.5	96.3	131.0	226.6	215.4	
	IQR	0.00	16.84	25.58	31.14	155.52	127.77	
	Min	100.0	78.8	73.1	110.7	121.1	100.9	
	Max	100.0	116.2	117.6	176.5	374.9	347.6	
Strophanthidin	Valid n	6	6	6	6	6	6	
	Mean	100.00	96.87	105.84	144.61	199.45	156.92	
	SD	0.000	4.017	15.681	16.488	60.353	53.984	
	Median	100.0	98.5	103.0	151.0	183.3	166.8	
	IQR	0.00	5.45	11.68	26.84	21.13	73.31	
	Min	100.0	89.8	89.7	119.6	144.6	89.7	
	Max	100.0	100.0	135.0	161.1	317.7	237.5	
Istaroxime	Valid n	10	10	10	10	10		
	Mean	100.00	93.80	101.45	161.55	209.04		
	SD	0.000	11.355	22.518	91.096	106.828		
	Median	100.0	95.1	101.4	131.0	201.7		
	IQR	0.00	13.02	29.93	50.25	168.76		
	Min	100.0	78.8	73.1	109.8	37.7		
	Max	100.0	116.2	148.1	413.1	374.9		
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8		
	Mean	100.00	94.17	102.68	142.36	184.82		
	SD	0.000	7.071	15.288	20.786	59.831		
	Median	100.0	96.4	101.8	151.0	177.6		
	IQR	0.00	7.99	13.44	34.16	32.18		
	Min	100.0	79.2	84.1	107.8	111.7		
	Max	100.0	100.0	135.0	163.4	317.7		
Istaroxime	Valid n	11	11	11	11			
	Mean	100.00	94.36	106.13	181.96			
	SD	0.000	10.933	26.411	109.777			
	Median	100.0	98.5	102.5	134.9			
	IQR	0.00	13.02	33.08	62.87			
	Min	100.0	78.8	73.1	109.8			
	Max	100.0	116.2	153.0	413.1			
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8			
	Mean	100.00	94.17	102.68	142.36			
	SD	0.000	7.071	15.288	20.786			
	Median	100.0	96.4	101.8	151.0			
	IQR	0.00	7.99	13.44	34.16			
	Min	100.0	79.2	84.1	107.8			
	Max	100.0	100.0	135.0	163.4			

Übersicht: entwickelte Kraft [% von Lmax] im Atrium

Atrium	Statistik	Lmax	0.01 µmol/l	0.03 µmol/l	0.1 µmol/l	0.3 µmol/l	0.5 µmol/l	1 µmol/l
Istaroxime	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	100.00	100.23	121.39	144.11	235.94	196.85	98.14
	SD	0.000	8.627	43.562	28.553	82.489	72.501	34.857
	Median	100.0	100.0	101.5	130.6	252.4	192.6	99.0
	IQR	0.00	0.00	28.75	12.96	73.03	104.85	49.26
	Min	100.0	88.4	83.1	123.4	125.9	100.1	51.0
	Max	100.0	112.8	193.6	193.6	345.6	273.4	135.4
Strophanthidin	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	100.00	98.71	147.28	230.10	184.50	137.71	93.68
	SD	0.000	2.895	61.800	112.949	134.070	119.358	109.706
	Median	100.0	100.0	132.4	234.6	145.9	88.3	52.3
	IQR	0.00	0.00	51.75	199.28	45.29	50.57	26.92
	Min	100.0	93.5	99.1	107.5	80.4	57.7	19.3
	Max	100.0	100.0	250.2	356.9	417.8	346.7	287.3
Istaroxime	Valid n	6	6	6	6	6	6	
	Mean	100.00	98.09	122.53	166.00	257.38	189.95	
	SD	0.000	9.329	39.063	59.389	90.557	67.013	
	Median	100.0	100.0	114.9	136.8	258.4	174.6	
	IQR	0.00	11.61	28.75	63.63	154.23	106.01	
	Min	100.0	87.4	83.1	123.4	125.9	100.1	
	Max	100.0	112.8	193.6	275.4	364.6	273.4	
Strophanthidin	Valid n	7	7	7	7	7	7	
	Mean	100.00	99.08	145.12	198.09	153.03	109.73	
	SD	0.000	2.447	56.699	108.027	122.643	108.556	
	Median	100.0	100.0	132.4	141.1	116.6	72.6	
	IQR	0.00	0.00	84.96	217.90	81.46	80.39	
	Min	100.0	93.5	95.4	95.1	51.8	36.7	
	Max	100.0	100.0	250.2	356.9	417.8	346.7	
Istaroxime	Valid n	8	8	8	8	8		
	Mean	100.00	98.57	120.34	208.68	266.18		
	SD	0.000	7.933	34.126	116.680	149.243		
	Median	100.0	100.0	114.8	168.3	258.4		
	IQR	0.00	5.80	28.73	110.66	196.47		
	Min	100.0	87.4	83.1	123.4	54.9		
	Max	100.0	112.8	193.6	467.0	530.4		
Strophanthidin	Valid n	7	7	7	7	7		
	Mean	100.00	99.08	145.12	198.09	153.03		
	SD	0.000	2.447	56.699	108.027	122.643		
	Median	100.0	100.0	132.4	141.1	116.6		
	IQR	0.00	0.00	84.96	217.90	81.46		
	Min	100.0	93.5	95.4	95.1	51.8		
	Max	100.0	100.0	250.2	356.9	417.8		
Istaroxime	Valid n	13	13	13	13			
	Mean	100.00	98.00	112.45	180.97			
	SD	0.000	9.478	33.107	98.258			
	Median	100.0	100.0	101.5	142.9			
	IQR	0.00	11.61	32.70	70.16			
	Min	100.0	83.9	70.2	102.1			
	Max	100.0	115.1	193.6	467.0			
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8			
	Mean	100.00	99.19	143.76	201.94			
	SD	0.000	2.289	52.633	100.605			
	Median	100.0	100.0	133.3	185.0			
	IQR	0.00	0.00	68.36	163.21			
	Min	100.0	93.5	95.4	95.1			
	Max	100.0	100.0	250.2	356.9			

Übersicht: diastolische Kraft [mN/mm^2] im nicht insuffizienten Ventrikel

Nicht insuffizienter Ventrikel	Statistik	Lmax	0.01 $\mu\text{mol/l}$	0.03 $\mu\text{mol/l}$	0.1 $\mu\text{mol/l}$	0.3 $\mu\text{mol/l}$	0.5 $\mu\text{mol/l}$	1 $\mu\text{mol/l}$
Istaroxime	Valid n	4	4	4	4	4	4	4
	Mean	1.28	1.20	1.18	1.22	1.71	2.79	8.40
	SD	1.131	0.997	0.954	1.022	1.689	2.568	5.996
	Median	1.12	1.12	1.12	1.12	1.28	2.19	8.74
	IQR	1.46	1.31	1.26	1.34	2.10	3.35	7.54
	Min	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.4	0.7
	Max	2.8	2.5	2.4	2.6	4.1	6.4	15.4
Strophanthidin	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	3.85	3.22	3.00	2.84	3.63	5.42	14.59
	SD	3.375	2.582	2.300	2.310	3.789	5.877	12.654
	Median	2.30	2.30	2.30	2.30	2.38	2.74	8.65
	IQR	5.56	3.48	3.00	1.76	2.20	5.69	17.52
	Min	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	3.6
	Max	7.7	6.6	6.1	6.5	10.0	14.8	32.8
Istaroxime	Valid n	7	7	7	7	7	7	7
	Mean	1.12	1.03	1.03	1.08	2.47	9.09	
	SD	0.870	0.788	0.781	1.019	2.260	8.340	
	Median	1.02	1.02	1.02	1.02	1.40	6.41	
	IQR	0.96	0.96	1.13	2.21	3.93	15.12	
	Min	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.4	
	Max	2.8	2.5	2.4	2.6	5.9	21.5	
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	2.51	2.12	1.98	1.88	3.25	6.66	
	SD	3.152	2.476	2.241	2.196	3.277	6.251	
	Median	1.12	1.12	1.12	1.12	1.98	5.05	
	IQR	4.46	3.42	3.18	2.56	3.80	9.31	
	Min	0.1	0.1	0.1	0.1	0.4	0.5	
	Max	7.7	6.6	6.1	6.5	10.0	16.9	
Istaroxime	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	1.31	1.24	1.24	1.28	3.42		
	SD	0.845	0.801	0.797	0.968	2.896		
	Median	1.22	1.22	1.22	1.22	4.11		
	IQR	0.81	1.10	1.21	1.81	3.60		
	Min	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2		
	Max	2.8	2.5	2.4	2.6	8.7		
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	2.51	2.12	1.98	1.88	3.25		
	SD	3.152	2.476	2.241	2.196	3.277		
	Median	1.12	1.12	1.12	1.12	1.98		
	IQR	4.46	3.42	3.18	2.56	3.80		
	Min	0.1	0.1	0.1	0.1	0.4		
	Max	7.7	6.6	6.1	6.5	10.0		
Istaroxime	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	1.31	1.24	1.24	1.28			
	SD	0.845	0.801	0.797	0.968			
	Median	1.22	1.22	1.22	1.22			
	IQR	0.81	1.10	1.21	1.81			
	Min	0.1	0.1	0.1	0.1			
	Max	2.8	2.5	2.4	2.6			
Strophanthidin	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	2.24	1.89	1.77	1.68			
	SD	3.060	2.416	2.193	2.143			
	Median	0.59	0.59	0.59	0.59			
	IQR	2.09	2.09	2.09	2.09			
	Min	0.1	0.1	0.1	0.1			
	Max	7.7	6.6	6.1	6.5			

Übersicht: diastolische Kraft [mN/mm²] im ToF Ventrikel

Fallot'sche Tetralogie	Statistik	Lmax	0.01 µmol/l	0.03 µmol/l	0.1 µmol/l	0.3 µmol/l	0.5 µmol/l	1 µmol/l
Istaroxime	Valid n	3	3	3	3	3	3	3
	Mean	2.75	1.93	1.51	1.53	2.68	5.99	7.49
	SD	1.351	1.512	1.774	1.545	1.562	7.073	7.412
	Median	2.87	1.11	0.94	0.89	3.30	2.95	4.55
	IQR	2.69	2.67	3.41	2.88	2.93	13.13	13.92
	Min	1.3	1.0	0.1	0.4	0.9	1.0	2.0
	Max	4.0	3.7	3.5	3.3	3.8	14.1	15.9
Strophanthidin	Valid n	3	3	3	3	3	3	3
	Mean	2.61	2.61	2.61	2.61	2.74	3.45	6.24
	SD	1.217	1.217	1.217	1.217	1.223	0.886	1.304
	Median	2.02	2.02	2.02	2.02	2.08	3.15	6.54
	IQR	2.21	2.21	2.21	2.21	2.16	1.69	2.56
	Min	1.8	1.8	1.8	1.8	2.0	2.8	4.8
	Max	4.0	4.0	4.0	4.0	4.2	4.5	7.4
Istaroxime	Valid n	8	8	8	8	8	8	
	Mean	2.48	1.73	1.41	1.25	2.00	6.67	
	SD	1.331	1.134	1.198	1.043	1.120	6.395	
	Median	2.59	1.28	1.12	0.93	1.79	2.95	
	IQR	2.16	1.65	1.86	1.27	1.80	9.91	
	Min	0.7	0.5	0.1	0.0	0.7	1.0	
	Max	4.4	3.7	3.5	3.3	3.8	17.6	
Strophanthidin	Valid n	6	6	6	6	6	6	
	Mean	3.54	3.33	3.32	3.27	3.39	4.54	
	SD	1.880	1.430	1.421	1.312	1.305	1.959	
	Median	3.22	3.22	3.22	3.22	3.35	4.31	
	IQR	1.99	1.99	1.99	1.99	2.07	1.31	
	Min	1.8	1.8	1.8	1.8	2.0	2.8	
	Max	7.0	5.7	5.7	5.3	5.5	8.3	
Istaroxime	Valid n	10	10	10	10	10		
	Mean	5.66	4.61	4.08	3.73	6.57		
	SD	6.827	6.280	5.973	5.585	11.625		
	Median	2.80	1.79	1.63	1.32	2.18		
	IQR	3.11	2.67	2.91	2.55	2.57		
	Min	0.7	0.5	0.1	0.0	0.7		
	Max	19.2	18.7	18.3	17.4	38.5		
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8		
	Mean	4.68	4.08	3.83	3.77	3.87		
	SD	3.888	2.786	2.256	2.359	2.283		
	Median	3.22	3.22	3.22	3.22	3.35		
	IQR	3.11	2.62	2.72	2.76	2.77		
	Min	1.8	1.8	1.8	1.8	2.0		
	Max	13.4	10.3	8.5	8.8	8.7		
Istaroxime	Valid n	11	11	11	11			
	Mean	6.39	5.44	5.31	4.51			
	SD	6.914	6.557	6.975	5.893			
	Median	2.87	2.12	1.98	1.68			
	IQR	12.35	12.67	10.68	9.20			
	Min	0.7	0.5	0.1	0.0			
	Max	19.2	18.7	18.3	17.4			
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8			
	Mean	4.68	4.08	3.83	3.77			
	SD	3.888	2.786	2.256	2.359			
	Median	3.22	3.22	3.22	3.22			
	IQR	3.11	2.62	2.72	2.76			
	Min	1.8	1.8	1.8	1.8			
	Max	13.4	10.3	8.5	8.8			

Übersicht: diastolische Kraft [mN/mm²] im Atrium

Atrium	Statistik	Lmax	0.01 μmol/l	0.03 μmol/l	0.1 μmol/l	0.3 μmol/l	0.5 μmol/l	1 μmol/l
Istaroxime	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	1.80	1.54	1.34	1.21	1.81	3.17	6.57
	SD	1.569	1.249	1.039	0.938	0.851	1.971	4.770
	Median	1.22	1.22	1.22	1.54	1.55	2.51	4.84
	IQR	2.23	1.99	1.76	1.53	0.75	1.00	5.81
	Min	0.2	0.2	0.1	0.2	0.8	1.8	2.4
	Max	3.9	3.1	2.4	2.3	3.1	6.6	13.8
Strophanthidin	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	4.85	4.49	4.31	4.03	5.78	7.21	9.63
	SD	6.918	6.974	7.026	6.309	8.138	8.298	8.943
	Median	1.21	1.21	1.21	1.46	2.15	3.23	5.29
	IQR	5.16	3.98	3.61	2.57	3.15	5.02	9.51
	Min	0.3	0.0	0.0	0.1	0.5	0.7	1.7
	Max	16.6	16.6	16.6	15.1	20.1	21.3	23.5
Istaroxime	Valid n	6	6	6	6	6	6	6
	Mean	7.25	5.65	4.98	4.56	5.19	7.48	7.48
	SD	13.427	10.141	8.964	8.254	8.307	10.692	10.692
	Median	2.08	1.91	1.79	1.66	1.87	2.75	2.75
	IQR	3.21	2.48	1.82	2.04	1.62	4.62	4.62
	Min	0.2	0.2	0.1	0.2	0.8	1.8	1.8
	Max	34.5	26.2	23.2	21.3	22.1	29.0	29.0
Strophanthidin	Valid n	7	7	7	7	7	7	7
	Mean	5.38	4.75	4.73	5.24	6.47	7.92	7.92
	SD	5.978	5.802	5.956	6.199	7.132	7.129	7.129
	Median	3.70	3.64	3.30	3.00	4.22	6.51	6.51
	IQR	9.24	6.85	8.21	12.62	10.70	10.01	10.01
	Min	0.3	0.0	0.0	0.1	0.5	0.7	0.7
	Max	16.6	16.6	16.6	15.1	20.1	21.3	21.3
Istaroxime	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	6.32	5.12	4.62	4.32	5.35	5.35	5.35
	SD	11.518	8.679	7.665	7.052	7.180	7.180	7.180
	Median	2.34	2.17	2.06	1.82	2.62	2.62	2.62
	IQR	3.65	3.28	2.96	2.91	4.35	4.35	4.35
	Min	0.2	0.2	0.1	0.2	0.8	0.8	0.8
	Max	34.5	26.2	23.2	21.3	22.1	22.1	22.1
Strophanthidin	Valid n	7	7	7	7	7	7	7
	Mean	5.38	4.75	4.73	5.24	6.47	6.47	6.47
	SD	5.978	5.802	5.956	6.199	7.132	7.132	7.132
	Median	3.70	3.64	3.30	3.00	4.22	4.22	4.22
	IQR	9.24	6.85	8.21	12.62	10.70	10.70	10.70
	Min	0.3	0.0	0.0	0.1	0.5	0.5	0.5
	Max	16.6	16.6	16.6	15.1	20.1	20.1	20.1
Istaroxime	Valid n	13	13	13	13	13	13	13
	Mean	4.31	3.51	3.15	2.98	2.98	2.98	2.98
	SD	9.202	6.986	6.193	5.689	5.689	5.689	5.689
	Median	1.26	1.22	1.22	1.54	1.54	1.54	1.54
	IQR	2.27	2.06	1.93	1.79	1.79	1.79	1.79
	Min	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	Max	34.5	26.2	23.2	21.3	21.3	21.3	21.3
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	4.85	4.30	4.28	4.70	4.70	4.70	4.70
	SD	5.731	5.519	5.656	5.938	5.938	5.938	5.938
	Median	2.45	2.42	2.25	2.23	2.23	2.23	2.23
	IQR	6.85	4.99	5.35	7.59	7.59	7.59	7.59
	Min	0.3	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
	Max	16.6	16.6	16.6	15.1	15.1	15.1	15.1

Übersicht: RT50% [% von Lmax] im nicht insuffizienten Ventrikel

Nicht insuffizienter Ventrikel	Statistik	Lmax	0.01 µmol/l	0.03 µmol/l	0.1 µmol/l	0.3 µmol/l	0.5 µmol/l	1 µmol/l
Istaroxime	Valid n	4	4	4	4	4	4	4
	Mean	100.00	100.37	107.29	110.32	113.20	109.78	100.75
	SD	0.000	2.388	5.671	4.376	8.301	6.946	5.839
	Median	100.0	100.3	106.7	111.2	112.8	111.0	98.9
	IQR	0.00	3.20	8.30	5.81	13.34	10.39	6.82
	Min	100.0	97.6	101.2	104.3	104.3	100.6	95.9
	Max	100.0	103.4	114.6	114.7	122.9	116.5	109.2
Strophanthidin	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	100.00	95.72	95.44	99.81	111.10	113.13	103.76
	SD	0.000	3.654	5.070	8.085	8.898	5.701	14.355
	Median	100.0	95.0	94.3	101.3	110.1	111.3	108.3
	IQR	0.00	0.76	3.15	5.65	10.32	1.59	11.41
	Min	100.0	92.0	90.2	89.0	100.6	107.9	80.4
	Max	100.0	101.8	103.7	111.0	123.4	122.9	117.1
Istaroxime	Valid n	7	7	7	7	7	7	7
	Mean	100.00	100.71	104.58	108.98	113.82	111.76	111.76
	SD	0.000	3.872	6.372	3.675	6.072	11.126	11.126
	Median	100.0	100.6	105.0	109.3	114.9	113.2	113.2
	IQR	0.00	5.82	7.43	5.98	8.09	15.93	15.93
	Min	100.0	95.4	94.8	104.3	104.3	98.3	98.3
	Max	100.0	107.3	114.6	114.7	122.9	131.7	131.7
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	98.22	99.01	102.93	111.64	109.65	109.65
	SD	0.000	5.187	7.787	7.713	6.928	7.191	7.191
	Median	100.0	96.5	97.3	103.2	111.9	110.2	110.2
	IQR	0.00	6.97	9.04	10.88	7.73	5.67	5.67
	Min	100.0	92.0	90.2	89.0	100.6	97.6	97.6
	Max	100.0	107.8	114.8	111.7	123.4	122.9	122.9
Istaroxime	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	100.00	100.66	104.07	111.21	116.07	116.07	116.07
	SD	0.000	3.990	6.061	9.648	7.429	7.429	7.429
	Median	100.0	100.6	105.0	109.3	116.8	116.8	116.8
	IQR	0.00	5.82	6.49	5.98	6.27	6.27	6.27
	Min	100.0	95.4	94.8	103.1	104.3	104.3	104.3
	Max	100.0	107.3	114.6	134.9	129.5	129.5	129.5
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	98.22	99.01	102.93	111.64	111.64	111.64
	SD	0.000	5.187	7.787	7.713	6.928	6.928	6.928
	Median	100.0	96.5	97.3	103.2	111.9	111.9	111.9
	IQR	0.00	6.97	9.04	10.88	7.73	7.73	7.73
	Min	100.0	92.0	90.2	89.0	100.6	100.6	100.6
	Max	100.0	107.8	114.8	111.7	123.4	123.4	123.4
Istaroxime	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	100.00	100.66	104.07	111.21	116.07	116.07	116.07
	SD	0.000	3.990	6.061	9.648	7.429	7.429	7.429
	Median	100.0	100.6	105.0	109.3	116.8	116.8	116.8
	IQR	0.00	5.82	6.49	5.98	6.27	6.27	6.27
	Min	100.0	95.4	94.8	103.1	104.3	104.3	104.3
	Max	100.0	107.3	114.6	134.9	129.5	129.5	129.5
Strophanthidin	Valid n	9	9	9	9	9	9	9
	Mean	100.00	99.34	99.65	102.14	111.64	111.64	111.64
	SD	0.000	5.908	7.532	7.592	7.592	7.592	7.592
	Median	100.0	97.7	98.5	101.7	111.64	111.64	111.64
	IQR	0.00	6.83	9.38	12.00	11.64	11.64	11.64
	Min	100.0	92.0	90.2	89.0	100.6	100.6	100.6
	Max	100.0	108.3	114.8	111.7	123.4	123.4	123.4

Übersicht: RT50% [% von Lmax] im ToF Ventrikel

Fallot'sche Tetralogie	Statistik	Lmax	0.01 µmol/l	0.03 µmol/l	0.1 µmol/l	0.3 µmol/l	0.5 µmol/l	1 µmol/l
Istaroxime	Valid n	3	3	3	3	3	3	3
	Mean	100.00	101.44	96.71	87.52	84.51	107.82	156.46
	SD	0.000	6.114	5.260	16.610	13.527	47.745	142.795
	Median	100.0	99.3	94.7	93.9	88.9	85.2	75.6
	IQR	0.00	11.67	9.91	31.33	25.97	87.11	248.85
	Min	100.0	96.7	92.8	68.7	69.3	75.6	72.5
	Max	100.0	108.3	102.7	100.0	95.3	162.7	321.3
Strophanthidin	Valid n	3	3	3	3	3	3	3
	Mean	100.00	100.18	97.96	95.72	89.26	75.52	72.38
	SD	0.000	2.047	4.132	3.990	14.526	11.251	9.219
	Median	100.0	100.0	97.5	97.7	88.5	80.0	75.0
	IQR	0.00	4.08	8.22	7.21	29.02	21.12	17.87
	Min	100.0	98.2	94.1	91.1	75.2	62.7	62.1
	Max	100.0	102.3	102.3	98.3	104.2	83.9	80.0
Istaroxime	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	98.54	96.10	92.15	92.38	99.12	99.12
	SD	0.000	5.149	4.173	10.960	18.542	29.621	29.621
	Median	100.0	97.9	94.7	93.6	92.1	88.4	88.4
	IQR	0.00	6.90	5.99	9.90	27.68	32.68	32.68
	Min	100.0	93.2	90.4	68.7	69.3	73.3	73.3
	Max	100.0	108.3	102.7	104.9	123.2	162.7	162.7
Strophanthidin	Valid n	6	6	6	6	6	6	6
	Mean	100.00	99.73	99.95	96.46	85.91	76.63	76.63
	SD	0.000	4.494	13.193	13.450	14.528	11.841	11.841
	Median	100.0	100.3	99.0	96.5	84.9	75.7	75.7
	IQR	0.00	4.08	8.22	7.21	24.85	16.69	16.69
	Min	100.0	92.0	82.5	77.4	66.4	62.7	62.7
	Max	100.0	105.3	122.7	118.9	104.2	94.7	94.7
Istaroxime	Valid n	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	100.00	100.44	97.68	84.32	92.68	92.68	92.68
	SD	0.000	6.250	5.436	28.968	26.885	26.885	26.885
	Median	100.0	99.3	96.4	93.6	92.1	92.1	92.1
	IQR	0.00	10.40	6.58	12.01	38.17	38.17	38.17
	Min	100.0	93.2	90.4	6.9	48.6	48.6	48.6
	Max	100.0	111.3	108.7	104.9	139.1	139.1	139.1
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	98.19	99.05	97.60	87.40	87.40	87.40
	SD	0.000	5.045	12.289	11.701	12.617	12.617	12.617
	Median	100.0	99.1	99.0	97.7	89.3	89.3	89.3
	IQR	0.00	7.11	13.26	8.14	18.58	18.58	18.58
	Min	100.0	90.4	82.5	77.4	66.4	66.4	66.4
	Max	100.0	105.3	122.7	118.9	104.2	104.2	104.2
Istaroxime	Valid n	11	11	11	11	11	11	11
	Mean	100.00	99.53	98.67	88.95	88.95	88.95	88.95
	SD	0.000	6.647	6.114	31.479	31.479	31.479	31.479
	Median	100.0	99.2	98.2	93.9	93.9	93.9	93.9
	IQR	0.00	10.62	8.29	12.88	12.88	12.88	12.88
	Min	100.0	90.5	90.4	6.9	6.9	6.9	6.9
	Max	100.0	111.3	108.7	135.2	135.2	135.2	135.2
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	98.19	99.05	97.60	87.60	87.60	87.60
	SD	0.000	5.045	12.289	11.701	11.701	11.701	11.701
	Median	100.0	99.1	99.0	97.7	89.3	89.3	89.3
	IQR	0.00	7.11	13.26	8.14	18.58	18.58	18.58
	Min	100.0	90.4	82.5	77.4	66.4	66.4	66.4
	Max	100.0	105.3	122.7	118.9	118.9	118.9	118.9

Übersicht: RT50% [% von Lmax] im Atrium

Atrium	Statistik	Lmax	0.01 µmol/l	0.03 µmol/l	0.1 µmol/l	0.3 µmol/l	0.5 µmol/l	1 µmol/l
Istaroxime	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	100.00	183.63	163.29	104.18	105.73	213.28	298.84
	SD	0.000	146.470	113.032	16.000	10.970	198.410	177.410
	Median	100.0	109.5	114.9	110.5	101.3	130.3	222.2
	IQR	0.00	37.70	7.46	5.20	10.93	7.89	132.14
	Min	100.0	108.6	106.6	76.0	92.9	114.3	158.1
	Max	100.0	444.0	365.3	114.9	121.1	568.0	596.0
Strophanthidin	Valid n	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	100.00	101.73	98.90	104.28	101.54	111.23	156.33
	SD	0.000	9.465	9.791	15.833	18.187	21.740	86.015
	Median	100.0	104.0	98.6	107.0	97.6	105.3	122.7
	IQR	0.00	11.45	10.02	25.13	15.80	15.90	12.01
	Min	100.0	90.4	88.0	85.9	78.2	85.9	103.9
	Max	100.0	114.1	113.3	122.7	126.8	144.2	309.3
Istaroxime	Valid n	6	6	6	6	6	6	6
	Mean	100.00	173.08	151.25	97.25	98.54	188.44	188.44
	SD	0.000	133.532	105.312	22.201	20.156	187.605	187.605
	Median	100.0	114.9	113.0	108.8	101.3	126.6	126.6
	IQR	0.00	37.70	11.99	36.35	19.31	16.58	16.58
	Min	100.0	108.6	91.1	62.6	62.6	64.2	64.2
	Max	100.0	444.0	365.3	114.9	121.1	568.0	568.0
Strophanthidin	Valid n	7	7	7	7	7	7	7
	Mean	100.00	101.26	97.81	106.63	102.70	110.47	110.47
	SD	0.000	7.931	8.309	13.664	15.079	18.473	18.473
	Median	100.0	102.9	97.3	109.3	102.7	105.3	105.3
	IQR	0.00	11.45	10.02	25.35	15.80	18.31	18.31
	Min	100.0	90.4	88.0	85.9	78.2	85.9	85.9
	Max	100.0	114.1	113.3	122.7	126.8	144.2	144.2
Istaroxime	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	157.49	138.11	96.99	95.16	188.44	188.44
	SD	0.000	116.578	92.316	19.422	18.557	188.44	188.44
	Median	100.0	114.3	108.9	106.4	97.1	188.44	188.44
	IQR	0.00	24.73	18.03	30.00	21.75	188.44	188.44
	Min	100.0	102.2	91.1	62.6	62.6	188.44	188.44
	Max	100.0	444.0	365.3	114.9	121.1	188.44	188.44
Strophanthidin	Valid n	7	7	7	7	7	7	7
	Mean	100.00	101.26	97.81	106.63	102.70	110.47	110.47
	SD	0.000	7.931	8.309	13.664	15.079	18.473	18.473
	Median	100.0	102.9	97.3	109.3	102.7	105.3	105.3
	IQR	0.00	11.45	10.02	25.35	15.80	18.31	18.31
	Min	100.0	90.4	88.0	85.9	78.2	85.9	85.9
	Max	100.0	114.1	113.3	122.7	126.8	144.2	144.2
Istaroxime	Valid n	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	100.00	136.01	125.52	96.66	96.66	188.44	188.44
	SD	0.000	99.234	76.536	20.814	20.814	188.44	188.44
	Median	100.0	109.3	107.8	107.4	107.4	188.44	188.44
	IQR	0.00	17.03	15.59	29.09	29.09	188.44	188.44
	Min	100.0	54.6	73.9	56.2	56.2	188.44	188.44
	Max	100.0	444.0	365.3	114.9	114.9	188.44	188.44
Strophanthidin	Valid n	8	8	8	8	8	8	8
	Mean	100.00	102.85	99.77	106.32	106.32	110.47	110.47
	SD	0.000	8.612	9.477	12.681	12.681	18.473	18.473
	Median	100.0	103.4	98.0	108.2	108.2	105.3	105.3
	IQR	0.00	14.05	15.25	18.35	18.35	18.31	18.31
	Min	100.0	90.4	88.0	85.9	85.9	85.9	85.9
	Max	100.0	114.1	113.5	122.7	122.7	144.2	144.2