

Diplomarbeit

**Functional effects of HDAC inhibition on human
atrial myocardium**

eingereicht von

Andreas Krumphuber

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für Kardiologie

unter der Anleitung von

Univ. FA PD. DDr. Markus Wallner

&

Assoz. Prof. PD. DDr. Peter P. Rainer

Graz, am 13.05.2022

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, am 13.05.2022

Andreas Krumhuber eh

Danksagung

Um diese Diplomarbeit zu verfassen, war ich klarerweise auf die Betreuung und Unterstützung mehrerer Personen angewiesen. Allen voran möchte ich mich hiermit bei meinem Erstbetreuer, PD. DDr. Markus Wallner, bedanken, der mich bei Bedarf zu nahezu jeder Tages- und Wochenzeit fachlich und darüber hinaus auch menschlich herausragend unterstützte. Sein bedingungsloser Einsatz, sowie seine immense fachliche Expertise und Freude an der Wissenschaft sind für mich bewundernswert. Mit dieser Art und Weise ermöglichte er mir einen möglichst reibungslosen Einstieg in die wissenschaftliche Arbeit der Grundlagenforschung und er konnte meine intrinsische Motivation noch zusätzlich befeuern. Ein weiteres Dankeschön gilt meinem Zweitbetreuer Assoz. Prof. PD. DDr. Peter P. Rainer, sowie DDr. Ewald Kolesnik, an welche ich mich jederzeit bei Fragen wenden konnte. Darüber hinaus schulde ich auch der gesamten Abteilung für Herzchirurgie großen Dank für die gute Zusammenarbeit. Besonders hervorheben möchte ich an dieser Stelle Ao. Univ.-Prof. Dr. Ameli Yates und Ao. Univ.-Prof. Dr. Heinrich Mächler, MA MSc, die stets bemüht waren, eine möglichst reibungslose Zusammenarbeit zu ermöglichen und ohne deren Unterstützung die Akquirierung der Gewebeproben unmöglich gewesen wäre.

Mein Dank gebührt auch der gesamten Abteilung der Kardiologie, sowie Herrn Univ.-Prof. Dr. Andreas Zirlik, welcher als Abteilungsleiter die Forschung erst ermöglichte.

Ein großes Dankeschön auch an all jene, die diese Arbeit Korrektur gelesen haben. Abschließend möchte ich mich noch bei allen Personen, die mir nahe stehen, bedanken. Mein größter Dank gebührt meiner Familie, ohne deren Unterstützung das Studium nicht in dieser Form möglich gewesen wäre.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	i
Danksagung	ii
Inhaltsverzeichnis	iii
Abkürzungsverzeichnis	v
Abbildungsverzeichnis	vii
Tabellenverzeichnis	viii
Zusammenfassung	ix
Abstract	xi
1 Einleitung	1
1.1 Herzinsuffizienz	1
1.1.1 Definition der Herzinsuffizienz	1
1.1.2 Epidemiologie	2
1.1.3 Ätiologie	3
1.1.4 Pathophysiologie	4
1.1.5 Prognose & pharmakologische Therapiemöglichkeiten	7
1.2 Histon-Deacetylasen (HDAC) und ihre Inhibition	17
1.2.1 Grundlagen	17
1.2.2 HDAC	17
1.2.3 Entwicklung & aktuelle Einsatzgebiete	18
1.2.4 HDAC-Inhibition im Bereich der Kardiologie	18
1.3 Fragestellung	21
2 Material und Methoden	22
2.1 Humanes atriales Gewebe	22
2.1.1 Tyrodelösung	22
2.1.2 Transport	23
2.1.3 Präparation	24
2.2 Messmethode	25
2.2.1 Verwendete Geräte	25
2.2.2 Aufbau der Messanlage	26
2.2.3 Versuchsvorbereitung	27
2.2.4 Versuchsprotokoll	28
2.2.5 Verwendete Substanzen	29
2.3 Auswertung	31
2.3.1 Qualitätskriterien	31
2.3.2 Statistische Methoden	31
3 Ergebnisse	32
3.1 Demographische Daten	32
3.2 Funktionelle Effekte im humanen atrialen Myokard	34
3.2.1 Diastolic Force	34
3.2.2 Systolic Force	35
3.2.3 Developed Force	37
3.2.4 dP/dt_{max}	38
3.2.5 dP/dt_{min}	40
3.2.6 Time to Peak	42
3.2.7 Trise	43
3.2.8 RT 50%	45
3.2.9 Tau	46
4 Diskussion	48
4.1 Effekte von Givinostat im atrialem Myokard	49

4.2	Effekte von IRBM-D im Atrium.....	50
4.3	Effekte von Rodin-A im Atrium	51
4.4	Limitationen	52
5	Konklusion.....	53
6	Literaturverzeichnis	54
7	Anhang.....	63
7.1	Givinostat 100nM Messwerte	63
7.2	IRBM-D 100nM Messwerte	65
7.3	Rodin-A 2µM Messwerte	67
7.4	DMSO 10µM (Kontrolle) Messwerte.....	69

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-converting-enzyme
ACS	Akutes Koronarsyndrom
ADH	Antidiuretisches Hormon
AKE	Aortenklappenersatz
ARB	Angiotensin Rezeptor Blocker
ARNI	Angiotensin Rezeptor Neprilysin Inhibitoren
AT ₁	Angiotensin II Rezeptor Subtyp 1
ATP	Adenosintriphosphat
BDM	2,3 Butandione-Monoxime
BL	Baseline
BMI	Body-Mass-Index
CABG	Coronar-Arterieller-Bypass-Graft
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
COPD	Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
CoREST	Co-repressor of Repressor Element1 Silencing Transcription Factor
DAD	Delayed afterdepolarization
DM-2	Diabetes Mellitus Typ 2
DMSO	Dimethylsulfoxid
dP/dt _{min}	Maximale diastolische Kraftänderung
dP/dt _{max}	Maximale systolische Kraftänderung
DPP-4-Hemmer	Dipeptidylpeptidase-4-Hemmer
EAD	Early afterdepolarization
eGFR	Estimated glomerular filtration rate
ESC	European Society of Cardiology
G _s	Guaninnukleotid-bindendes Protein
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
HAT	Histon-Acetyltransferasen
HDAC	Histon-Deacetylasen
HDACi	Histon-Deacetylasen-Inhibitor
HFmrEF	Heart failure with mildly reduced ejection fraction
HFpEF	Heart failure with preserved ejection fraction

HFrecEF	Heart failure with recovered ejection fraction
HFrefEF	Heart failure with reduced ejection fraction
HI	Herzinsuffizienz
Hz	Hertz
I _f -Blocker	Funny-Channel-Blocker
KHK	Koronare Herzkrankheit
l	Liter
Lmax	Vordehnung bei der maximalen isometrischen Kraft
LVEF	Linksventrikuläre Auswurfleistung
mm ²	Quadratmillimeter
mN	Millinewton
MEF2	Moyocyte enhancer factor 2
mmol	Millimol
MRA	Mineralocorticoidrezeptor-Antagonist
ms	Millisekunden
mTOR	Mechanistic target of rapamycin
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NO	Stickstoffmonoxid
ns	Nicht signifikant
NT-proBNP	N-terminal pro B-type natriuretic peptide
PDE-5-Hemmer	Phosphodiesterase-5-Hemmer
PK-A	Proteinkinase A
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RCT	Randomisiert kontrollierte Studie
RT 50%	50%-ige Relaxationszeit
SAHA	Suberoylanilide hydroxamic acid
SGLT2	Sodium-glucose cotransporter 2
Trise	Zeit von 50% Kontraktion bis Kontraktionsmaximum
TTP	Time to Peak
ZNS	Zentralnervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: "parts of the Muscle tester" aus Manual Muscle tester ORG, SI Heidelberg	25
Abbildung 2: Aktueller Aufbau einer der vier Messanlagen	26
Abbildung 3: SI TM2 Tissue Mount Holder von www.wpiinc.com/si-tm2-tissue-mount-holder	27
Abbildung 4: Herzhohrgewebe im Präparationsbecken mit 10-fach Vergrößerung.	27
Abbildung 5: Labchartaufzeichnung einzelner Kontraktionen	28
Abbildung 6: Labchartaufzeichnung in der Übersicht	29
Abbildung 7: Diastolic Force im Zeitverlauf	35
Abbildung 8: Systolic Force im Zeitverlauf.....	36
Abbildung 9: Developed Force im Zeitverlauf.....	38
Abbildung 10: dP/dt_{max} im Zeitverlauf	39
Abbildung 11: dP/dt_{min} im Zeitverlauf.....	41
Abbildung 12: Time to Peak im Zeitverlauf	43
Abbildung 13: Trise im Zeitverlauf	44
Abbildung 14: RT 50% im Zeitverlauf	45
Abbildung 15: Tau im Zeitverlauf.....	47

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung der verwendeten Lösungen	23
Tabelle 2: Demographische Daten	33
Tabelle 3: Messwerte Givinostat 100 nM Diastolic Force	63
Tabelle 4: Messwerte Givinostat 100 nM Developed Force	63
Tabelle 5: Messwerte Givinostat 100 nM Time to Peak.....	63
Tabelle 6: Messwerte Givinostat 100 nM Systolic Force	63
Tabelle 7: Messwerte Givinostat 100 nM dP/dt_{max}	63
Tabelle 8: Messwerte Givinostat 100 nM dP/dt_{min}	64
Tabelle 9: Messwerte Givinostat 100 nM Trise.....	64
Tabelle 10: Messwerte Givinostat 100 nM RT 50%.....	64
Tabelle 11: Messwerte Givinostat 100 nM Tau	64
Tabelle 12: Messwerte IRBM-D 100 nM Diastolic Force	65
Tabelle 13: Messwerte IRBM-D 100 nM Developed Force.....	65
Tabelle 14: Messwerte IRBM-D 100 nM Time to Peak.....	65
Tabelle 15: Messwerte IRBM-D 100 nM Systolic Force	65
Tabelle 16: Messwerte IRBM-D 100 nM dP/dt_{max}	65
Tabelle 17: Messwerte IRBM-D 100 nM dP/dt_{min}	65
Tabelle 18: Messwerte IRBM-D 100 nM Trise.....	66
Tabelle 19: Messwerte IRBM-D 100 nM RT 50%	66
Tabelle 20: Messwerte IRBM-D 100 nM Tau.....	66
Tabelle 21: Messwerte Rodin-A 2 μ M Diastolic Force	67
Tabelle 22: Messwerte Rodin-A 2 μ M Developed Force	67
Tabelle 23: Messwerte Rodin-A 2 μ M Time to Peak	67
Tabelle 24: Messwerte Rodin-A 2 μ M Systolic Force	67
Tabelle 25: Messwerte Rodin-A 2 μ M dP/dt_{max}	67
Tabelle 26: Messwerte Rodin-A 2 μ M dP/dt_{min}	68
Tabelle 27: Messwerte Rodin-A 2 μ M Trise.....	68
Tabelle 28: Messwerte Rodin-A 2 μ M RT 50%.....	68
Tabelle 29: Messwerte Rodin-A 2 μ M Tau	68
Tabelle 30: Messwerte DMSO 10 μ M Diastolic Force	69
Tabelle 31: Messwerte DMSO 10 μ M Developed Force	69
Tabelle 32: Messwerte DMSO 10 μ M Time to Peak.....	69
Tabelle 33: Messwerte DMSO 10 μ M Systolic Force	69
Tabelle 34: Messwerte DMSO 10 μ M dP/dt_{max}	69
Tabelle 35: Messwerte DMSO 10 μ M dP/dt_{min}	70
Tabelle 36: Messwerte DMSO 10 μ M Trise.....	70
Tabelle 37: Messwerte DMSO 10 μ M RT 50%.....	70
Tabelle 38: Messwerte DMSO 10 μ M Tau	70

Zusammenfassung

Einleitung: Die Herzinsuffizienz stellt aufgrund ihrer Prävalenz, Morbidität und Mortalität eine massive Herausforderung für Patient*innen und das Gesundheitssystem dar. Trotz erheblicher Fortschritte in den letzten Jahrzehnten werden neue prognoseverbessernde Therapien dringend benötigt. Histon-Deacetylasen (HDACs) sind Enzyme, welche Acetylgruppen von verschiedenen Proteinen entfernen und dadurch eine wichtige Rolle in der Genexpression und post-translationalen Modifikation innehaben. Aktuell sind Histon-Deacetylasen-Inhibitoren (HDACi) nur zu spezifischen Tumortherapien zugelassen. Die Inhibition von gewissen HDAC-Isoformen konnte in präklinischen Studien kardioprotektive Effekte zeigen. Bei einer nicht-selektiven HDAC-Inhibition können jedoch schwerwiegende Nebenwirkungen auftreten, woraus sich die Notwendigkeit einer selektiven HDAC-Inhibition ergibt. Da die Effekte von HDAC-Inhibition auf das humane atriale Myokard noch nicht bekannt sind, besteht das Ziel dieser Arbeit darin, die funktionellen Effekte von HDACi auf dieses zu untersuchen.

Methode: Trabekel aus humanem atrialem Myokard wurden isoliert, mit Tyrode-Lösung umspült, an Haken befestigt, elektrisch stimuliert und bis auf eine optimale Länge gedehnt. Nach Erreichen eines Steady-States wurden die Trabekel jeweils mit einem der drei verschiedenen HDACi (zwei Klasse I-selektive HDACi: IRBM-D, Rodin-A und ein pan-HDACi: Givinostat) bzw. einer Kontrollsubstanz für zwei Stunden inkubiert. Ab der Zugabe der jeweiligen Substanz wurden 15-minütig diverse funktionelle Messwerte erhoben, welche unter anderem die Kontraktilität und Relaxation beschreiben. Anschließend wurden diese ausgewertet und statistisch analysiert.

Ergebnisse: Obwohl keine statistisch signifikanten Unterschiede gezeigt werden konnten, gab es dennoch einen eindeutigen Trend, dass eine HDAC-Inhibition im humanen Gewebe zu einem verminderten Run-Down-Effekt der Developed Force nach zwei Stunden führt (Givinostat 100nM: $82,1\% \pm 18,1\%$, ns; IRBM-D 100nM: $87,9\% \pm 7,7\%$, ns; Rodin-A 2 μ M: $106,7\% \pm 23,6\%$, ns; DMSO 10 μ M: $70,7\% \pm 5,4\%$, $p=0,0008$). Demnach konnten insbesondere durch eine selektive HDAC-Inhibition Tendenzen zu einer positiven Inotropie und Lusitropie aufgezeigt werden.

Konklusion: HDAC-Inhibition konnte bereits vielversprechende Ergebnisse in anderen präklinischen kardiovaskulären Studien zeigen. Obwohl keine signifikanten

Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen und der Kontrollgruppe nachgewiesen werden konnten, so wurden erstmalig Tendenzen hinsichtlich einer positiv inotropen und lusitropen Wirkung durch selektive HDAC-Inhibition in humanem Gewebe beobachtet. Weitere Untersuchungen von HDAC-Inhibition an humanen kardialen Zellen sind jedoch erforderlich. Insbesondere Untersuchungen der zugrundeliegenden Mechanismen und des Sicherheitsprofils im menschlichen Herzen werden unbedingt benötigt.

Abstract

Background: Heart failure represents a major challenge for patients and healthcare providers due to its high prevalence, morbidity and mortality. Although recent advances have improved prognosis, new treatment options are an unmet clinical need. Histone deacetylases (HDAC) are enzymes that remove acetyl groups from various proteins and therefore, play a crucial role in the regulation of gene expression and posttranslational modification. Moreover, histone deacetylases inhibitors (HDACi) are small molecules, which are approved for treating specific cancer entities. HDACi showed antiproliferative and cardioprotective effects in preclinical studies. However, non-selective HDAC-inhibition can cause severe adverse effects, limiting its use in clinical practice. To avoid adverse effects and to define which HDAC-isoforms control cardiac function, future studies must be performed. As functional effects of HDACi on human atrial myocardium have not yet been reported, the aim of this thesis was to assess these effects.

Methods: Trabeculae were isolated from human atrial appendages, mounted on hooks, perfused with Tyrode solution, electrically stimulated and stretched until optimal length was reached. After reaching a steady-state, the trabeculae were incubated for two hours with three different HDACi (two selective class I HDACi: IRBM-D, Rodin-A and one pan-HDACi: Givinostat) or respectively control. After the titration of the respective substance, functional measurements (developed force and twitch kinetics) were recorded and analyzed every 15 minutes. Afterwards statistical analyses were performed.

Results: HDACi attenuated the physiological run-down of developed force over 2 hours (Givinostat 100nM: $82,1\% \pm 18,1\%$, ns; IRBM-D 100nM: $87,9\% \pm 7,7\%$, ns; Rodin-A 2 μ M: $106,7\% \pm 23,6\%$, ns; DMSO 10 μ M: $70,7\% \pm 5,4\%$, $p=0,0008$). Selective HDACi in particular, increased contractility and lusitropy.

Conclusion: HDAC-Inhibition revealed promising results in preclinical cardiovascular studies. This study showed positive inotropic and lusitropic effects on human atrial myocardium. Therefore, HDACi holds promise as therapeutic strategy for patients with heart failure. Further studies are warranted to assess the efficacy and safety of HDACi in clinical settings.

1 Einleitung

1.1 Herzinsuffizienz

1.1.1 Definition der Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz (HI) ist als klinisches Syndrom definiert, welches mit typischen Symptomen beziehungsweise (bzw.) Zeichen einhergeht und durch strukturelle oder funktionelle kardiale Abnormitäten gekennzeichnet ist. Diese Abnormitäten führen zu einer reduzierten kardialen Auswurfleistung und/oder einem erhöhten intrakardialen Druck in Ruhe oder bei Belastung (1). Typische Symptome sind Dyspnoe (unter anderem paroxysmale nächtliche Dyspnoe), Orthopnoe, reduzierte Belastbarkeit, Fatigue, Gewichtszunahme und geschwollene Knöchel im Sinne von bilateralen Knöchelödemen (2). Typisch auftretende klinische Zeichen sind ein erhöhter Jugularvenendruck, hepatojugulärer Reflux, das Auftreten eines dritten Herztons und eine Verlagerung des Herzspitzenstoßes nach lateral (1, 2). Die Herzinsuffizienz wird meist in drei Gruppen eingeteilt: heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF), heart failure with mildly reduced ejection fraction (HFmrEF) und heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF). Die Unterteilung erfolgt, vereinfacht dargestellt, anhand der linksventrikulären Auswurfleistung (LVEF). Liegt die LVEF bei 40% oder darunter, so wird von einer HFrEF gesprochen, liegt sie bei 50% oder darüber so erfolgt die Diagnose HFpEF, im Bereich von 41-49% handelt es sich um die Entität der HFmrEF. Zusätzlich wird in manchen Leitlinien eine weitere Entität beschrieben. Hierbei handelt es sich um die heart failure with preserved ejection fraction, improved (HFpEF improved) oder auch heart failure with recovered ejection fraction (HFrecEF). Dieser Gruppe zugehörig sind jene Patient*innen, welche bei Diagnosestellung der Gruppe der HFrEF zugehörig waren und im weiteren Verlauf eine $EF \geq 40\%$ haben (3). Die Unterteilung ist insofern bedeutend, da den jeweiligen Formen der Herzinsuffizienz unterschiedliche Ätiologien, Demographien, Komorbiditäten und Therapieerfolge zugrunde liegen (1).

1.1.2 Epidemiologie

Den Schätzungen einer Studie (4) zufolge, lebten im Jahre 2010 weltweit 37,7 Millionen Menschen mit Herzinsuffizienz, wobei ungefähr die Hälfte aller Patient*innen mit Herzinsuffizienz in die Terminologie der HFpEF fallen (5). Darüber hinaus beträgt das lebenslange Risiko, im Alter von 40 Jahren an einer „chronischen“ Herzinsuffizienz zu erkranken, etwa 20% (6). Die Prävalenz in der westlichen Welt, über alle Altersgruppen, liegt bei rund 1-2% und die Inzidenz wird mit 5-10 pro 1000 Personenjahre angegeben. Wobei aufgrund von Fehldiagnosen bzw. nicht gestellten Diagnosen die Prävalenz noch höher liegen könnte. Die tatsächliche Prävalenz wird auf etwa 4% geschätzt (7, 8). Auf der einen Seite erkranken unter 50-jährige kaum an Herzinsuffizienz, auf der anderen Seite steigt die Inzidenz und Prävalenz stark mit zunehmendem Alter an. In der Altersgruppe der über 70-Jährigen liegt die Prävalenz bereits bei über 10% (7, 9, 10). Während die Inzidenz der Herzinsuffizienz in den letzten Jahren leicht abnahm bzw. ein Plateau erreicht hat, steigt die Prävalenz weiterhin an. Aufgrund von Zusammenhängen mit der sozioökonomischen Herkunft der Patient*innen ist anzunehmen, dass ein Teil der Fälle potentiell mit Präventionsmaßnahmen verhindert werden kann (11). Obwohl sich die Prognose einzelner kardiovaskulärer Erkrankungen verbessert hat (wie zum Beispiel: des akuten Koronarsyndrom (ACS), der arteriellen Hypertension, von Herzklappenerkrankungen und von angeborenen Herzfehlern), steigt die Prävalenz der Herzinsuffizienz weiter an. Wie lässt sich dieses Phänomen, welches als Herzinsuffizienz Paradoxon bekannt ist, nun erklären? Hierfür gibt es drei mögliche Erklärungsversuche: zuerst wird versucht, dieses Paradoxon damit zu begründen, dass, obwohl die Mortalität bei jeder dieser Erkrankungen gesenkt werden konnte, die Patient*innen jedoch nach der jeweiligen Intervention nicht als geheilt gelten, angeborene Herzfehler ausgenommen. Als Beispiel, welches diese Theorie bestärkt, kann die koronare Herzerkrankung (KHK) dienen. Während die Frühmortalität der KHK nach akutem Myokardinfarkt im letzten halben Jahrhundert um 75% gesenkt werden konnte (12), besteht nach stattgehabter Intervention nach wie vor die KHK und das erhöhte Risiko für einen ischämischen myokardialen Schaden, sowie eine mögliche Herzinsuffizienz. Die zweite Erklärung könnte sein, dass es im Alter zu einem vermehrten Absterben von Myozyten kommt und dies zu einer erhöhten Rate an

Komorbiditäten führt. Der abschließende Erklärungsversuch begründet sich darin, dass es aufgrund der verbesserten Prognose der Herzinsuffizienz auch zu einer erhöhten Prävalenz kommt. Unabhängig von der möglichen Ursache ist festzuhalten, dass die Herzinsuffizienz aufgrund des demographischen Wandels eine erhebliche Herausforderung für sowohl Gesundheitssysteme in Industriestaaten als auch in Entwicklungsländern darstellt (13).

1.1.3 Ätiologie

Grundsätzlich bestehen viele unterschiedliche Ursachen die zu einer Herzinsuffizienz führen können. Je nach Entwicklungsstatus der jeweiligen Region variieren diese außerdem. Nichtsdestotrotz ist die häufigste Ursache für Herzinsuffizienz eine zugrundeliegende ischämische Herzerkrankung. Weitere häufige Ursachen sind unter anderem: Klappenvitien (rheumatisch und nicht-rheumatisch), hypertensive Herzerkrankungen, Kardiomyopathien, infektiöse Erkrankungen und eine zugrundeliegende chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) (1, 14, 15). Als Hauptrisikofaktoren für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz gelten: das Alter, das männliche Geschlecht, arterielle Hypertension, linksventrikuläre Hypertrophie, Myokardinfarkte, Herzklappenerkrankungen, Übergewicht und Diabetes Mellitus. Des Weiteren sind, aufgrund der engen Vergesellschaftung zur Atherosklerose, auch deren Risikofaktoren bedeutend (16). Interessanterweise wurde in Studien gezeigt (17), dass Übergewicht mit einer geringeren Gesamtmortalität, sowie einer geringen Mortalität durch eine sich verschlechternde Herzinsuffizienz vergesellschaftet ist. Dies wird auch als Übergewichts-Paradoxon bezeichnet. Vermutungen deuten darauf hin, dass übergewichtige Patient*innen im jüngeren Alter diagnostiziert werden, oder dass ein erhöhter Body-Mass-Index (BMI) aufgrund des erhöhten Energiebedarfs bei Herzinsuffizienz protektiv wirken könnte. Die mögliche zugrundeliegende Pathophysiologie ist hingegen unbekannt (17). Anzumerken ist in diesem Zusammenhang, dass der BMI alleine für die Komplexität der Darstellung des Ernährungszustandes und der körperlichen Zusammensetzung nicht ausreichend ist. Der BMI sollte nur gemeinsam mit anderen Parametern (Muskelmasse, Fettanteil, Hüftumfang, etc.) verwendet werden, um eine suffiziente Aussage über den Ernährungszustand und die körperliche Fitness treffen zu können, welche ebenso die Mortalität beeinflussen könnte (1, 18).

1.1.4 Pathophysiologie

Die Herzinsuffizienz wird pathophysiologisch definiert als eine strukturelle oder funktionelle Abnormität des Herzens, welche zu erhöhten intrakardialen Füllungsdrücken führt und/oder die den kardialen Auswurf reduziert (1). Die linksventrikuläre Funktion hängt weitgehend von drei Faktoren ab: Vorlast, myokardiale Kontraktilität und Nachlast. Bei der Entwicklung der Herzinsuffizienz kommt es zu zahlreichen komplexen Kompensationsmechanismen, welche die Funktion des Herzens beeinflussen. Die wichtigsten Kompensationsmechanismen sind die Regulation der Kontraktionskraft, die Aktivierung des neurohumoralen Systems und strukturelle Veränderungen im Sinne einer kardialen Remodellierung. Diese Kompensationsmechanismen können eine entstehende Herzinsuffizienz anfangs kompensieren, jedoch im weiteren Verlauf auch zu einer Progression dieser führen (19).

1.1.4.1 Regulation der myokardialen Kontraktionskraft

Es spielen überwiegend drei Mechanismen für die Regulation der Kontraktionskraft am Herzen eine Rolle: der Frank-Starling Mechanismus, der Bowditch-Effekt und die adrenerge Aktivierung. Der Frank-Starling Mechanismus ist einer der wichtigsten physiologischen Mechanismen in der Kardiologie. Die beiden Physiologen Otto Frank und Ernest Starling konnten bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts zeigen, dass sich die Kontraktilität mit steigender Vorlast erhöht (positive Kraft-Längen-Beziehung). Auf Ebene eines Kardiomyozyten besteht ein direkter Zusammenhang zwischen Sarkomerlänge und der myofilamentären Kalziumempfindlichkeit. Dies bedeutet, dass ein Kardiomyozyt bei gegebener Kalziumkonzentration mehr Kraft entwickelt, wenn die Sarkomerlänge erhöht wird. Der Frank-Starling Mechanismus spielt nicht nur in der Physiologie per se, sondern auch in der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz eine bedeutende Rolle (20). Der zweite wichtige Mechanismus ist der sogenannte Bowditch-Effekt, welcher bereits im Jahre 1871 an einem Froschherz beschrieben wurde. Der Bowditch-Effekt spielt für die durchgeführten Versuche aufgrund der konstanten Frequenz keine Rolle, soll aber der Vollständigkeit halber dennoch kurz erwähnt werden. Dieser Effekt beschreibt das Phänomen, dass bei steigender Stimulationsfrequenz auch die vom Myokard entwickelte Kraft ansteigt, welches auch als Kraft-Frequenz-Beziehung oder als Treppe-Phänomen beschrieben wird (21). Erklärt werden kann dieser

Effekt durch einen erhöhten Kalziumeinstrom und die damit einhergehende Erhöhung des intrazellulären Kalzium (22). Jedoch ist dieser Effekt vorrangig im nicht insuffizienten Myokard zu finden, im insuffizienten Myokard ist dieser Effekt stark verringert oder gar nicht vorhanden (23). Abschließend ist die Rolle des adrenergen Systems zu berücksichtigen. Das kardiale adrenerge System reguliert prinzipiell die Kontraktilität von Schlag zu Schlag. Dies ist wichtig, um in akuten Stresssituationen eine schnelle Adaption an die geänderten Bedürfnisse zu ermöglichen. Bei der chronischen Herzinsuffizienz kommt es jedoch zu einer dauerhaften Stimulation des adrenergen Systems, welche das Myokard schädigt. Es liegen sowohl α -Rezeptoren als auch β -Rezeptoren am menschlichen Herzen vor, wobei den β -Rezeptoren die höhere Bedeutung in der Regulation der Kontraktionskraft zuzuschreiben ist. β -adrenerge Rezeptoren werden prinzipiell in drei Subgruppen unterteilt: β_1 -, β_2 - und β_3 -Rezeptoren. Die Regulation der Kontraktionskraft erfolgt vor allem über β_1 - und β_2 -Rezeptoren, diese sind mit dem stimulierend wirkenden Guaninnukleotid-bindenden Protein (G_s) gekoppelt, über welches die Adenylylcyclase aktiviert wird. Die Funktion der Adenylylcyclase besteht in der Katalyse der Spaltung von Adenosintriphosphat (ATP) zu zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP). Zyklisches Adenosinmonophosphat ist ein „second messenger“, welcher nachfolgend an die regulatorische Untereinheit der Proteinkinase A (PK-A) bindet. Die Proteinkinase A wiederum phosphoryliert L-Typ Kalzium Kanäle, Phospholamban und modulierende Proteine, welche die Kontraktilität beeinflussen, wie zum Beispiel Troponin I (TnI). Der Effekt dieser Phosphorylierung besteht darin, dass es zu einer Erhöhung des intrazellulären Kalziums kommt, einer vermehrten Kontraktilität und einer schnelleren Relaxation (positive Inotropie und Lusitropie). Im Gegensatz zu den zuvor erwähnten β -Rezeptoren weisen β_3 -Rezeptoren keine positiv inotropen Effekte am Herzen auf. Veränderungen im adrenergen System, wie die Veränderung der Rezeptordichte oder die Internalisierung von β -Rezeptoren haben eine bedeutende Rolle in der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz inne (24).

1.1.4.2 Strukturelle Veränderungen

Im Verlauf der Herzinsuffizienz kommt es zu einer sogenannten kardialen Remodellierung. Diese Remodellierung beschreibt die auftretenden strukturellen und funktionellen Veränderungen des Herzens, welche als physiologische Reaktion auf chronisch erhöhte myokardiale Arbeit, als Adaption auf eine reduzierte Kontraktilität oder als Antwort auf eine veränderte Gewebszusammensetzung im Myokard gesehen werden. Darüber hinaus findet diese Remodellierung nicht nur im mikroskopischen, sondern auch im makroskopischen Bereich statt. Die makroskopischen Adaptionen liegen vor allem in einer ventrikulären Hypertrophie, sowie einer ventrikulären Dilatation vor, welche von einer Reorganisation der Kardiomyozyten, erhöhten Wandspannung und einer beeinträchtigten subendokardialen Perfusion ausgehen. Es gibt zahlreiche Faktoren, welche diese Remodellierung beeinflussen, wie zum Beispiel die Aktivierung des neurohumoralen Systems (siehe Kapitel 1.1.4.3), der Blutdruck, bzw. die hämodynamischen Veränderungen im Herzen. In diesem Zusammenhang treten zahlreiche zelluläre und subzelluläre Mechanismen in Erscheinung: Es kommt unter anderem zur Hypertrophie von Kardiomyozyten, zur Apoptose und Nekrose von Kardiomyozyten, zur Proliferation von Fibroblasten, einer Ansammlung von proinflammatorischen Mediatoren sowie zu einer interstitiellen Fibrose (19, 25).

1.1.4.3 Neurohumorale Aktivierung

Die neurohumorale Aktivierung als Kompensationsmechanismus und als Progressionsfaktor, spielt eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz. Grundsätzlich bezieht sich die neurohumorale Aktivierung auf die Begriffe der Aktivierung des sympathoadrenergen Systems und der Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS). Zuständig für die Aktivierung dieser Systeme sind, unter anderem, Barorezeptoren. Diese befinden sich in der Gefäßwand des Sinus Caroticus und im Aortenbogen. Barorezeptoren senden inhibitorische Signale ins zentrale Nervensystem (ZNS), welche eine Hemmung des Sympathikus bewirken und darüber hinaus das Herzzeitvolumen und den peripheren Widerstand regeln. Aufgrund des verminderten effektiven Blutvolumens bei Herzinsuffizienz kommt es zu einer Verminderung dieser inhibitorischen Signale (26). Zusätzlich tritt bei Patient*innen mit Herzinsuffizienz eine erhöhte Chemosensitivität gegenüber Hypoxie und Hyperkapnie auf (27). Die

grundlegenden Effekte der Aktivierung des sympathoadrenergen Systems am Herzen wurden bereits in Kapitel 1.1.4.1 (Regulation der myokardialen Kontraktionskraft) erläutert. Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass ein erhöhter Sympathikustonus über eine periphere Vasokonstriktion zu einem erniedrigten renalen Blutfluss und damit einhergehend zu einer Freisetzung von Renin durch den juxtaglomerulären Apparat führt. Weitere Faktoren, welche zur Freisetzung von Renin führen, sind eine erniedrigte Natriumkonzentration im proximalen Teil des distalen Tubulus, sowie die Aktivierung von β_1 -adrenergen Rezeptoren. Um die Aktivierung des RAAS zu verstehen, ist zu bedenken, dass das in der Niere freigesetzte Renin zu einer Konvertierung von Angiotensinogen, welches in der Leber gebildet wird, zu Angiotensin I führt. Weiters spaltet das Angiotensin-converting-enzyme (ACE) Angiotensin I zu Angiotensin II. Angiotensin II führt vor allem über die Bindung an Angiotensin II Rezeptoren vom Subtyp 1 (AT_1) zur Freisetzung von Aldosteron durch die Nebenniere. Allgemein gilt, dass die Aktivierung des RAAS durch Angiotensin II zu einer Natrium-Retention im proximalen Tubulus und über eine Stimulation des Durstzentrums zu einer Freisetzung des antidiuretischen Hormons (ADH) führt, welches die Wasserausscheidung hemmt. Aldosteron hingegen bewirkt, vereinfacht ausgedrückt, eine erhöhte Natrium-Resorption im distalen Tubulus und dem Sammelrohr bei einer erhöhten Ausscheidung von Kalium. All diese Faktoren führen kurzfristig zu einer Kompensation der Herzinsuffizienz, langfristig treiben sie jedoch die Progression der Herzinsuffizienz durch die chronische Volumenüberladung weiter voran (26).

1.1.5 Prognose & pharmakologische Therapiemöglichkeiten

Die Prognose der Herzinsuffizienz ist erheblich schlecht: Das 5-Jahres-Überleben liegt unter 40%. Dies trifft, mit geringfügigen Unterschieden, sowohl auf die Diagnose der HFrEF als auch auf die Diagnose der HFpEF zu (5). Für Patient*innen mit HI liegen hohe Mortalitätsraten vor. Für Patient*innen mit chronischer HI liegt die 1-Jahres-Mortalität bei 7,2% und 31,9% der Patient*innen wurden innerhalb eines Jahres hospitalisiert. In Anbetracht derselben Parameter für Patient*innen, welche aufgrund einer akuten HI hospitalisiert wurden, so steigen diese auf 17,4% und 43,9% an (28). Angesichts der 5-Jahres-Mortalität von Patient*innen über 65 Jahren, welche aufgrund einer HI hospitalisiert wurden, werden Werte von bis zu

75%, unabhängig von der Ejektionsfraktion, erreicht. Während das mediane Überleben der Allgemeinbevölkerung in den United States of America (USA) der Altersgruppe von 65 bis 69 Jahre bei 18,7 Jahren liegt, so liegt das mediane Überleben bei Individuen der gleichen Alterskohorte, welche aufgrund einer HI hospitalisiert wurden, bei weniger als 4 Jahren. Diese Zahlen unterstreichen die Aussage, dass eine Verbesserung der Herzinsuffizienztherapie dringend benötigt wird (29). Aufgrund der Unterschiede in den Therapien, sowie deren Effizienz, werden die HFrEF; die HFmrEF und die HFpEF in den folgenden Kapiteln gesondert betrachtet.

1.1.5.1 Therapie der HFrEF

Nach Diagnosestellung der HFrEF, welche durch das Vorliegen einer typischen HI Symptomatik, sowie einer vorliegenden LVEF $\leq 40\%$, erfolgt, soll eine Therapie gestartet werden. Die Ziele der Herzinsuffizienztherapie bestehen darin, die Symptome zu verbessern, die Lebensqualität zu erhöhen, Hospitalisierungen zu vermeiden und die Sterblichkeit zu verringern. Nun sollen die aktuell von der ESC (European Society of Cardiology) empfohlenen pharmakologischen Therapiemöglichkeiten aufgezeigt werden (1):

Die Modulation des RAAS und des sympathischen Nervensystem mit Angiotensin-converting-enzyme-Hemmer (ACE-Hemmer)/Angiotensin Rezeptor Blocker(ARBs) oder Angiotensin Rezeptor Neprilysin Inhibitoren (ARNI), β -Blocker und Mineralocorticoidrezeptor-Antagonist (MRA) konnte das Überleben verbessern, eine Reduktion der Hospitalisierungen durch HI bewirken, sowie eine Reduktion der Symptomatik erzielen. Eine Quadruple-Therapie mit ACE-Hemmer/ARB/ARNI, β -Blocker und MRA wird somit als Basistherapie für jeden empfohlen, ausgenommen es liegen Kontraindikationen vor oder die Medikation wird nicht vertragen. Die Basistherapie wurde, im Vergleich zur ESC-Leitlinie von 2016 (30), um die Gabe eines Natrium-glucose cotransporter 2-Inhibitoren (SGLT2-Inhibitoren), erweitert, unabhängig davon, ob eine Diabeteserkrankung vorliegt oder nicht (1).

ACE-Hemmer und Angiotensin Rezeptor Blocker (ARB)

Die Therapie mit einem ACE-Hemmer ist somit Teil der leitliniengerechten Basisbehandlung und prinzipiell sollte diese jede/r PatientIn mit Symptomen erhalten. Es konnte in mehreren klinischen Studien eine Reduktion der

Hospitalisierungen, der Mortalität, sowie eine Verbesserung der Symptome durch ACE-Hemmer gezeigt werden (31, 32). Die Dosierung sollte in der maximal tolerierbaren Dosis erfolgen, da diese einen Benefit gegenüber einer geringeren Dosierung zeigen konnte (33). Wenn die Therapie mit ACE-Hemmer oder ARNI nicht vertragen wird, sollte eine Gabe eines ARB als Alternative erwogen werden (1). In der CHARM-Alternative-Studie (34) konnte auch für ARB eine Reduktion der kardiovaskulären Sterblichkeit beschrieben werden.

Angiotensin Rezeptor Neprilysin Inhibitoren (ARNI).

Eine vergleichsweise neue Medikamentengruppe sind die sogenannten ARNI. Diese Medikamentengruppe setzt sich aus den Wirkstoffen Sacubitril (Neprilysin-Inhibitor) und Valsartan (ARB) zusammen. Sie wirken daher ebenso inhibierend am RAAS über eine AT₁-Blockade und darüber hinaus hemmen sie Neprilysin, welches das zentrale Enzym für den Abbau von Natriuretischen Peptiden (NP) ist. Zusätzlich hemmt es auch den Abbau von Bradykinin. Dadurch kommt es zu einem Anstieg der aktiven Metaboliten von NP, welchen über mehrere Mechanismen eine kardioprotektive Wirkung zugeschrieben wird (35). In der PARADIGM-HF(36) Studie wurde eine Überlegenheit hinsichtlich Mortalität und Hospitalisierungsrate gegenüber Enalapril für Patient*innen mit HFrEF gezeigt. Zusätzlich konnten die PIONEER-HF(37) und die TRANSITION(38)-Studien die Sicherheit und Effizienz der ARNI-Therapie auch für Patient*innen nach einer akut dekompensierten HI zeigen. Insbesondere konnte auch die Sicherheit in ACE-Hemmer-naiven Patient*innen aufgezeigt werden. Darüber hinaus ist die PROVE-HF(39)-Studie zu berücksichtigen, in welcher ein Zusammenhang zwischen dem Verhalten der NP, der Symptome und der kardialen Funktion festgestellt werden konnte. Es wird empfohlen, dass Patient*innen mit ACE-Hemmer-Therapie auf eine Therapie mit ARNI umgestellt werden, um die Mortalität und die Hospitalisierungen durch HI zu reduzieren. Die Patient*innen sollten einen adäquaten Blutdruck und eine estimated glomerular filtration rate (eGFR) von ≥ 30 mL/min/1.73 m² haben (1).

β -Blocker

β-Blocker sind ein weiterer Eckpfeiler der Basistherapie der HI. β-Blocker wirken vor allem über eine Blockade von β₁-Rezeptoren. Dies führt zu einer Hemmung der sympathoadrenergen Überaktivität in HI-Patient*innen. Es wird davon

ausgegangen, dass dies vorteilhaft für das myokardiale Energiegleichgewicht und die linksventrikuläre Funktion ist (40). Eine Therapie mit β -Blockern sollte auch hier bei allen Patient*innen erfolgen, welche diese tolerieren bzw. wenn keine Kontraindikationen vorliegen. β -Blocker verbessern die Symptomatik (41) und zahlreiche Studien konnten eine Prognoseverbesserung durch β -Blocker zeigen. Sowohl die Mortalität als auch die Anzahl der Hospitalisierungen konnten signifikant gesenkt werden (40, 42, 43). Eine große Meta-Analyse konnte zeigen, dass die Gesamtmortalität bei Patient*innen mit Sinusrhythmus signifikant gesenkt werden konnte, bei Vorhofflimmern führte dies jedoch zu keiner Senkung der Gesamtmortalität. Jedoch wurde auch in der Gruppe mit Vorhofflimmern keine Risikoerhöhung festgestellt (44), weshalb nichtsdestotrotz der Einsatz von β -Blockern unabhängig vom vorliegenden Rhythmus empfohlen wird. Es soll mit einer niedrigen Dosierung begonnen werden, und diese sollte kontinuierlich bis zur maximal tolerierbaren Dosis aufdosiert werden (1).

Mineralocorticoidrezeptor Antagonisten (MRA)

MRA wirken über die Blockade von Mineralocorticoidrezeptoren, an welche Aldosteron bindet. Durch diese Blockade wird eine Hemmung des RAAS bewirkt. In mehreren randomisiert kontrollierten Studien (RCT) konnte die Überlegenheit von MRA gegenüber der Placebogruppe hinsichtlich Überleben, Hospitalisierungen und auch hinsichtlich der Symptomatik gezeigt werden (45, 46). MRA gehören in der HFrEF-Therapie ebenfalls zur Basistherapie. Es wird grundsätzlich der Einsatz zusätzlich zu der bereits erwähnten Pharmakotherapie empfohlen. Bei hohen Kaliumwerten im Serum und bei einer eingeschränkten Nierenfunktion sollte die Gabe von MRA jedoch mit besonderer Vorsicht erfolgen (1).

Sodium-glucose cotransporter 2-Inhibitoren (SGLT2-Inhibitoren)

SGLT2-Inhibitoren wurden ursprünglich als antihyperglykämische Medikamente für den Einsatz bei DM-II, entwickelt. Es konnten jedoch zahlreiche weitere Effekte unabhängig von der Senkung des Blutzuckers gezeigt werden. Die Inhibierung des SGLT2 führt u.a. zu einer Glucosurie, Natriuresis, Gewichtsverlust und einer Blutdrucksenkung. Durch die Hemmung der Natriumreabsorption kommt mehr Natrium zur Macula densa. Dies führt zu einer Dilatation der afferenten Arteriole, zu reduzierten intraglomerulären Drücken und zu einer verminderten Hyperfiltration.

Auch wenn die Inhibition des SGLT2 zu zahlreichen Effekten führt, welche das kardiovaskuläre Risiko senken (Blutzuckersenkung, Reduktion des Körpergewichts, Reduktion des Blutdruckes, etc.), ist es unwahrscheinlich, dass diese Effekte allein für die Reduktion der kardiovaskulären Mortalität verantwortlich sind. Zusätzlich wird ein positiver Einfluss auf die Entzündungsreaktion, die Fibrose, den myokardialen Metabolismus und die vaskuläre Funktion beschrieben. Jedoch bleiben die genauen Hintergründe, wie die Inhibition des SGLT2 zu einer verbesserten Prognose führt, unbekannt. Als Nebenwirkungen sind Genital- und Harnwegsinfektionen zu nennen, welche hauptsächlich durch den Effekt der Glucosurie erklärt werden können. Zusätzlich kann der Einsatz von SGLT2-Inhibitoren zu einer euglykämischen diabetischen Ketoazidose führen. Weitere mögliche Nebenwirkungen sind u.a. Hypoglykämie, Volumenmangel und akutes Nierenversagen (47, 48). Die DAPA-HF-Studie (49) konnte zeigen, dass die zusätzliche Gabe von Dapagliflozin zur HI-Basistherapie zu einer Reduktion von Hospitalisierungen, kardiovaskulärer Mortalität und sogar der Gesamtmortalität führte. Außerdem führte Dapagliflozin zu einer Verbesserung der Lebensqualität und einer Verbesserung der HI induzierten Symptomatik. Die EMPEROR-Reduced-Studie (50) konnte eine Verbesserung des kombinierten primären Endpunktes von kardiovaskulärer Mortalität und Hospitalisierung durch HI durch die Gabe von Empagliflozin, zusätzlich zu einer adäquaten pharmakologischen Herzinsuffizienztherapie bestehend aus Diuretika, ACE-Hemmer/ARB/ARNI, β -Blocker und MRA, zeigen. Auch die Symptomatik wurde im Vergleich zur Basistherapie der HI verbessert. Jedoch konnte die EMPEROR-reduced-Studie keine Reduktion der kardiovaskulären Mortalität per se zeigen. Eine Meta-Analyse deutet jedoch auf keine Heterogenität zwischen den Studien und suggeriert, dass beide Wirkstoffe sowohl die Gesamt- als auch die kardiovaskuläre Mortalität für HFrEF Patient*innen senken und zusätzlich nephroprotektive Effekte haben (51). Die Besonderheit dieser Studien lag in der Tatsache, dass diese Effekte erstmals auch für Patient*innen ohne Diabetes Mellitus Typ 2 (DM-2) beschrieben werden konnte. Die Ergebnisse waren demnach unabhängig von den HbA1c-Werten der Patient*innen. Aufgrund der vorliegenden Daten wird die Gabe von SGLT2-Inhibitoren, unabhängig vom Diabetesstatus, im Rahmen der Quadruple-Basistherapie empfohlen. Für den Einsatz in der HI-Therapie zugelassen sind aktuell Dapagliflozin und Empagliflozin (1).

Diuretika

Eine Diuretikatherapie wird empfohlen, um die Symptome und Zeichen der HI zu verbessern. Diuretika erzielen ihre symptomverbessernde Wirkung, indem sie zu einer vermehrten Flüssigkeitsausscheidung führen und so einer Hypervolämie entgegenwirken. Die bevorzugt verwendeten Diuretika sind Schleifendiuretika, jedoch kann bei Diuretikaresistenz auch ein Thiaziddiuretikum zum Therapieschema hinzugefügt werden (47). Auch wenn eine Klasse 1 Empfehlung in den aktuellen Leitlinien vorliegt, muss bedacht werden, dass es nach wie vor keine robusten RCT in Bezug auf die Morbidität und Mortalität gibt (1, 52). Jedoch suggeriert eine Meta-Analyse eine Verbesserung der Leistungsfähigkeit, sowie eine Reduktion von HI Dekompensationen und der Mortalität (53).

I_f-Blocker

Funny-channel Blocker (I_f-Blocker) sind ebenso Teil der HI Therapie. Vor allem der Wirkstoff Ivabradine ist hier vorrangig zu nennen. Ivabradine wirkt über eine Hemmung sogenannter Funny-Channels, welche sich in den Myozyten im sinoatrialen Knoten befinden. Funny-Channels haben eine wichtige Rolle in der Schrittmacherfunktion dieser Myozyten inne. Die Hemmung dieser Kanäle führt zu einer Hemmung des Funny-channel Stroms und somit zu einer Verlangsamung der Schrittmacheraktivität des Herzens (54). Diesen Effekt der Herzratenverlangsamung wird in der Therapie der HI angewandt. Die Grundvoraussetzung für eine Therapie mit Ivabradine ist das Vorliegen eines Sinusrhythmus, da sonst keine Wirkung zu erwarten ist. Die SHIFT-Studie (55) konnte zeigen, dass bei Patient*innen, welche trotz leitlinienbasierter Therapie symptomatisch waren und eine Herzfrequenz über 70 Schläge pro Minute hatten, von einer Therapie mit Ivabradine profitierten. Diese große RCT konnte eine Verbesserung im primären Endpunkt (kardiovaskulärer Tod oder Hospitalisierung wegen HI-Verschlechterung) zeigen. Die ESC-Leitlinien empfehlen daher eine Therapie mit Ivabradine bei persistierender Symptomatik und einer reduzierten LVEF ($\leq 35\%$) nach Therapie mit ACE-Hemmer/ARNI, β -Blocker, SGLT2-Inhibitor und MRA, wenn ein Sinusrhythmus vorliegt und die Herzfrequenz in Ruhe mehr als 70 Schläge pro Minute beträgt. Bei Unverträglichkeit eines β -Blocker kann eine Therapie mit Ivabradine, bei den oberhalb beschriebenen Grundvoraussetzungen, als Alternative angedacht werden (1).

Soluble guanylate cyclase receptor stimulator

Vericiguat ist ein neuer oral löslicher Guanylatcyclase-Stimulator. Die Stimulation des cyclischen Guanosinmonophosphat (cGMP) erfolgt direkt durch eine Stickstoffmonoxid (NO) unabhängige Bindung. Weiters sensibilisiert Vericiguat die lösliche Guanylatcyclase gegenüber dem endogenen NO (56). Die VICTORIA-Studie (57) zeigte, dass der kombinierte Endpunkt der Hospitalisierungen und des kardiovaskulären Todes bei Patient*innen mit HFrEF und erst kürzlich dekompensierter HI in der Verum-Gruppe signifikant niedriger war, als in der Placebo-Gruppe. Jedoch war die kardiovaskuläre Mortalität allein nicht signifikant niedriger in der Vericiguat-Gruppe und es kam zu einem vermehrten Auftreten von symptomatischen Hypotensionen. Anzumerken ist die relativ kurze Beobachtung von, im Median, nur 10,8 Monaten. Trotz Erreichen des primären Endpunktes sind weitere Studien nötig, um die Effekte über einen längeren Zeitraum zu untersuchen und zu zeigen, ob der Einsatz von Vericiguat auch per se zu einer Reduktion des kardiovaskulären Todes führt, oder ob dieser Effekt zum größten Teil von der Reduktion der Hospitalisierungen bestimmt wird. Zusätzlich gilt es auch, die Effekte von Vericiguat bei Patient*innen zu untersuchen, welche nicht rezent dekompensiert sind (57). Nichtsdestotrotz kann der Einsatz von Vericiguat bei Patient*innen im NYHA Stadium II-IV, welche trotz Basistherapie eine Verschlechterung ihrer HI erleben, erwogen werden (1).

Hydralazine und Isosorbide Dinitrat

Isosorbide Dinitrat ist ein NO-Donor und erhöht so das verfügbare NO. Hydralazine ist ein Antioxidans und soll dem erhöhten oxidativen Stress entgegenwirken. Studien legen nahe, dass HI Patient*innen einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt sind und eine verminderte Bioverfügbarkeit von NO haben. Diese zwei Mechanismen sollen zu einer pathologischem kardialen Remodellierung beitragen. Interessanterweise legen Studien nahe, dass bei sich selbstbezeichneten schwarzen Patient*innen diese Mechanismen besonders ausgeprägt sind. Eine Studie konnte einen Überlebensvorteil, sowie eine erniedrigte Hospitalisierungsrate bei sich selbstbezeichneten schwarzen Patient*innen zeigen (58). Davon ausgehend resultiert die Empfehlung der ESC, dass der zusätzliche Einsatz von Hydralazine und Isosorbide Dinitrat bei sich selbstbezeichneten schwarzen HFrEF Patient*innen unter speziellen Bedingungen empfohlen wird (1).

Digoxin

Der Einsatz von Digoxin wird kontrovers diskutiert, es gibt nur wenige RCT und teilweise Studien, welche eine Erhöhung der Mortalität bei Patient*innen mit Vorhofflimmern zeigten. Jedoch konnte Digoxin in einem RCT bei Patient*innen mit SR eine Reduktion der Hospitalisierungen bewirken. Digoxin sollte aufgrund des engen therapeutischen Fensters und bei speziellen Gruppen nur sehr bedacht eingesetzt werden. Laut ESC kann der Einsatz jedoch bei symptomatischer HI bei Basistherapie und vorhandenem SR erwägt werden (1, 59, 60).

Cardiac myosin activator

Kardiale Myosin Aktivatoren sind eine neue Gruppe von Medikamenten, welche die myokardiale Funktion durch eine direkte Wirkung an den kardialen Sarkomeren verbessern sollen. Omecamtiv mercabil ist ein Wirkstoff aus dieser Gruppe und bindet selektiv an das kardiale Myosin, erhöht infolgedessen die Anzahl der Myosinköpfechen, welche an das Aktinfilament binden können und verbessert so die kardiale Kontraktilität (61). Die COSMIC-HF-Studie (62) konnte zeigen, dass der Einsatz von Omecamtiv mercabil zu einer Verminderung der Herzfrequenz, des N-Terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP), des endsystolischen Durchmessers, des enddiastolischen Durchmessers und zu einer Verbesserung der linksventrikulären Funktion führte. Diese Veränderungen werden mit einer reduzierten Mortalität in Verbindung gebracht (63). Die GALACTIC-HF-Studie (61) zeigte in einem RCT, dass Omecamtiv mercabil zu einer Verringerung des kombinierten primären Endpunktes (erster HI-Vorfall oder kardiovaskulärer Tod) führen konnte. Zu keinem Unterschied kam es jedoch in Bezug auf die kardiovaskuläre Mortalität alleine. Omecamtiv mercabil besitzt aktuell noch keine Zulassung für den Einsatz in der HI-Therapie, jedoch kann es, laut ESC, in Zukunft zusätzlich zur Standardtherapie in Erwägung gezogen werden (1).

Unabhängig von der pharmakologischen Basistherapie empfiehlt die ESC unter anderem den Einsatz von implantable cardioverter defibrilator (ICD) und cardiac resynchronization therapy (CRT) unter bestimmten Bedingungen. Zusätzlich ist bei speziellen Komorbiditäten eine spezifische Therapie dieser vorgesehen. Hierfür soll

jedoch auf die entsprechende Leitlinie verwiesen werden, da dies nicht zwingend mit dieser Arbeit in Zusammenhang steht (1).

1.1.5.2 Therapie der HFmrEF

Die Therapie der HFmrEF basiert ausschließlich auf schwachen Empfehlungen, da es keine Daten aus randomisierten, kontrollierten Studien für diese Entität gibt. Zum Teil können retrospektive Subgruppenanalysen von RCTs, in denen Patient*innen mit einer LVEF zwischen 41% und 49% miteingeschlossen waren, ausgewertet werden. Diese konnten durchaus Reduktionen hinsichtlich der Mortalität und der Hospitalisierungen zeigen. Der Einsatz von Diuretika zur Symptomlinderung wird empfohlen. Erwogen werden kann der Einsatz von ACE-Hemmern, ARB, BETA-Blocker, MRA und ARNI (1).

1.1.5.3 Therapie der HFpEF

Die Diagnose der HFpEF bleibt nach wie vor herausfordernd, die ESC empfiehlt jedoch einen vereinfachten Ansatz, damit die Diagnose der HFpEF im klinischen Alltag breit gestellt werden kann. Die Diagnose sollte beinhalten: Symptome einer HI, eine LVEF $\geq 50\%$ und den objektiven Nachweis einer strukturellen oder funktionellen kardialen Veränderung, welche vereinbar mit einer linksventrikulären diastolischen Dysfunktion oder mit erhöhten linksventrikulären Füllungsdrücken (z.B. erhöhte natriuretischen Peptiden) ist. Beachtet werden sollte zusätzlich, dass bei Personen mit zuvor reduzierter EF die HFrEF-Therapie weitergeführt werden sollte, auch wenn die LVEF nicht mehr den diagnostischen Kriterien einer HFrEF entspricht, da es sonst zu einer myokardialen Remodellierung und in zirka 40% zu einer Verschlechterung der LVEF kommt (1, 64, 65). Zur Therapie der HFpEF gilt festzuhalten, dass die Therapieoptionen sehr begrenzt sind und Studien mit positiven Ergebnissen, trotz intensiver Forschung, Mangelware sind. Es wurden unter anderem Studien mit ACE-Hemmern, ARB, MRA, Digoxin und ARNI durchgeführt, welche allesamt keine Verbesserung der Prognose zeigen konnten. Daraus folgend ergeht, dass es aktuell keine ESC-Empfehlung für den Einsatz dieser Medikamente bei Patient*innen mit HFpEF gibt. Es wird lediglich der Einsatz von Diuretika bei Patient*innen mit Hypervolämie zur Verbesserung der Symptomatik empfohlen und die systematische, weiterführende Abklärung der zugrundeliegenden Ätiologie und der Komorbiditäten (1). Mittlerweile konnte die

EMPEROR-Preserved Studie zeigen, dass der Einsatz von Empagliflozin, im Vergleich zu Placebo, zu einer Risikoreduktion hinsichtlich des kombinierten Endpunktes (kardiovaskuläre Mortalität oder Hospitalisierung aufgrund eines HI Vorfalls) führt. Dieser Effekt war jedoch größtenteils auf die Reduktion der Hospitalisierungen zurückzuführen. Ergänzend sollte noch erwähnt werden, dass in der Subgruppenanalyse für Patient*innen mit einer LVEF $\geq 60\%$ kein signifikanter Unterschied zu sehen ist. Nichtsdestotrotz ist dies ein erster Hinweis auf eine Prognoseverbesserung von HFpEF-Patient*innen (66). Eine weitere größere Studie mit SGLT-2-Inhibitoren bei HFpEF-Patient*innen (DELIVER-Study: ClinicalTrials.gov identifier (NCT number): NCT03619213) wird derzeit durchgeführt und es bleibt abzuwarten, ob diese ebenfalls Hinweise einer Prognoseverbesserung liefert oder nicht.

1.2 Histon-Deacetylasen (HDAC) und ihre Inhibition

1.2.1 Grundlagen

In eukaryontischen Zellen werden Desoxyribonukleinsäuren (DNA) mit speziellen Proteinen zu Chromatin verpackt. Die grundlegende Untereinheit des Chromatins ist das Nukleosom, welches wiederum aus einem Oktamer aus vier Kernhistonen besteht. Die lokale Chromatinarchitektur spielt eine wichtige Rolle in der Genexpression und die Architektur wird entscheidend von posttranslationalen Veränderungen der Histone beeinflusst. Diese Modifikation kann durch Acetylierung, Phosphorylierung und Methylierung erfolgen. Histon-Acetylierung erfolgt an der ϵ -Aminogruppe von Lysin, diese Acetylierung wird durch die Balance von Histon-Acetyltransferasen (HAT) und Histon-Deacetylasen (HDAC) reguliert. Allgemein gilt, dass eine Hyperacetylierung mit einer vermehrten Genexpression und eine Hypoacetylierung mit einer verminderten Genexpression vergesellschaftet ist (67). HDACs besitzen auch außerhalb des Zellkerns Funktionen. Es konnte gezeigt werden, dass HDACs Proteine deacetylieren, welche in verschiedene zelluläre Prozesse involviert sind, also auch nicht Genom-beeinflussende Effekte haben (68).

1.2.2 HDAC

Es sind 18 HDAC Enzyme im Menschen bekannt, sie verwenden entweder Zink- oder Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD^+)-abhängige Mechanismen zur Deacetylierung der Acetyl-Lysin-Substrate. Zur Vollständigkeit soll erwähnt werden, dass HDAC in vier Klassen eingeteilt sind: Klasse I Rpd3-like Proteine (HDAC1, HDAC2, HDAC3 und HDAC8); Klasse II Hda1-like Proteine, wobei die Klasse II weiter in Klasse IIa (HDAC4, HDAC5, HDAC7 und HDAC9) und Klasse IIb (HDAC6 und HDAC10) unterteilt wird; Klasse III Sir2-like Proteine (SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 und SIRT7); und das Klasse IV Protein (HDAC11) (69). Aufgrund der verwendeten Substanzen (siehe 2.2.5) wird hier größtenteils auf die Klasse I und Klasse II HDAC-Isoformen genauer eingegangen. Klasse I und Klasse IIb HDAC führen zu einer Katalyse und Entfernung der Acetylgruppe von Lysinresten sowohl bei Histonproteinen als auch bei einer Vielzahl von anderen Proteinen. Histon Deacetylierung induziert die Kondensation von Chromatin, was wiederum zu einer Unterdrückung der Transkription führt. Klasse IIa HDAC haben

nicht die Fähigkeit, Histonreste mittels einer Veränderung in der katalytischen Domäne zu deacetylieren. Klasse IIa HDAC unterdrücken die Transkription mittels einer Rekrutierung von epigenetischen Regulatoren und Transkriptioninhibitoren an den DNA-Promoter Regionen (69).

1.2.3 Entwicklung & aktuelle Einsatzgebiete

Im Jahre 1969 wurde erstmals eine Enzymaktivität entdeckt, welche die Entfernung von Acetylgruppen von Histonen beschreibt (70). Es dauerte bis 1996, bis das erste HDAC Enzym isoliert und geklont wurde (71). Seitdem hat es sich zu einem vielversprechenden Forschungsgebiet weiterentwickelt, an dem bis heute intensiv geforscht wird (72). Aktuell sind HDACi (Histon-Deacetylasen-Inhibitoren) nur zur Therapie des kutanen T-Zell Lymphom, peripherem T-Zell Lymphom und Multiplen Myelom zugelassen. Jedoch wird der Einsatz von HDACi auch in zahlreichen weiteren Gebieten der Medizin untersucht. Unter anderem wird die Anwendung bei neurologischen Erkrankungen, kardialen Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen, sowie bei infektiösen Erkrankungen untersucht (73).

1.2.4 HDAC-Inhibition im Bereich der Kardiologie

Die Erforschung von HDAC-Inhibition bei kardiovaskulären Erkrankungen befindet sich nach wie vor größtenteils in der präklinischen Phase und klinische Studien sind Mangelware. Im Herz sind HDACs mit zahlreichen Prozessen assoziiert, u.a. Hypertrophie, Fibrose, Veränderung der Kontraktilität und mit Veränderungen des Energiestoffwechsel (74). Klasse IIa HDACs führen zu einer Suppression von myocyte enhancer factor 2 (MEF2) und wirken der Entwicklung kardialer Hypertrophie entgegen. HDACs der Klasse IIb, insbesondere HDAC6, wiederum gelten als Regulatoren der kardialen Kontraktilität und der Proteinaggregation. Studien deuten darauf hin, dass die HDAC6 Aktivität in mehreren Hypertrophie-Modellen erhöht war. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass eine selektive HDAC6-Inhibition zu einem Erhalt der systolischen Kraft führt (75, 76). Weiters konnte für HDAC-Inhibition der Klasse I zahlreiche positive Effekte, wie eine Verbesserung systemischer und pulmonal arterieller Hypertonie, ein positiver Einfluss auf die kardiale Remodellierung, sowie eine Reduktion der ischämischen Reperfusionverletzung nachgewiesen werden. Jedoch konnte in Tiermodellen auch gezeigt werden, dass eine HDAC-Inhibition der Klasse I Arrhythmien

begünstigen kann und darüber hinaus auch zu einem Kalzifizieren der Gefäße und zu einer Atherosklerose führen kann (77). Klasse I HDACs gelten generell als begünstigend für die Entstehung einer kardialen Hypertrophie. Die Inhibierung dieser HDACs führte zu einer Verminderung der Hypertrophie nach pathologischen Stimuli wie β -adrenerger Rezeptorstimulation, Angiotensin II-Infusion und Drucküberladung (69). Des Weiteren wirkt eine HDAC-Inhibition der Klasse I auch der kardialen Fibrose entgegen. Vermutet wird, dass dies über eine Verminderung der Transdifferenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten geschieht, welche durch eine reduzierte Expression von α -smooth-muscle-actin, Kollagen und Fibronektin erklärt wird (77). Jedoch konnte eine Studie am Rattenmodell unter der Verwendung von ITF2357 (Givinostat) zeigen, dass HDAC-Inhibierung auch unabhängig von den Effekten der Blutdrucksenkung, den Effekten auf die kardiale Hypertrophie und kardiale Fibrose zu einer Verbesserung der diastolischen Funktion geführt hat. Givinostat ist ein potenter Zink-abhängiger Inhibitor der HDAC-Klassen I und II. Es wird vermutet, dass eine Steigerung der myofibrillären Relaxation für diese Effekte ursächlich war. Aufgrund dieser Effekte sowie der Reduktion der Inflammation und den positiven Effekten auf die Angiogenese wird vermutet, dass Givinostat auch im humanen Gewebe positive Effekte auf kardiale Zellen bewirken könnte (78, 79). Givinostat wurde auch bereits in mehreren klinischen Studien untersucht, u.a. für neoplastische Erkrankungen, sowie für die Duchenne Muskeldystrophie (80-82). Aktuell ist Givinostat in klinischer Entwicklung für die Therapie der Polycythämia Vera. Generell wurde Givinostat in zahlreichen Studien gut vertragen und es zeigten sich keine großen Sicherheitsbedenken bei Patient*innen mit Polycythämia Vera. Die am häufigsten aufgetretenen Nebenwirkungen waren gastrointestinale Beschwerden und Thrombozytopenien. Diese waren jedoch meist mild bis moderat. Weiters steht eine QT-Verlängerung als potentielle Nebenwirkung im Zusammenhang mit HDACi, welche jedoch kontrovers diskutiert wird. Klinische Studien mit Givinostat im Bereich der kardiovaskulären Erkrankungen sind jedoch noch Mangelware (80, 83). Weiters konnten auch in einem HFpEF-Großtiermodell zahlreiche positive Effekte von suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), einem pan-HDACi, auf die kardiopulmonale Funktion und Struktur beschrieben werden. Es konnte gezeigt werden, dass HDAC-Inhibition die linksventrikuläre Hypertrophie umkehren konnte, die linksatriale Vergrößerung nahm ab, die linksventrikuläre systolische und

diastolische Funktion verbesserte sich und die linksventrikulären Füllungsdrücke normalisierten sich. Es wurde eine Verbesserung der Relaxation durch eine Verbesserung der myofibrillären Relaxation, unabhängig von den antihypertrophen Effekten, gezeigt. In dieser Studie konnten keine bekannten Nebenwirkungen von HDACi beobachtet werden, die Autoren begründen dies mit einer niedrigeren verwendeten Dosierung (84). Im Menschen konnten zum Teil schwerwiegende Nebenwirkungen beim Einsatz von SAHA beobachtet werden, wie z.B. Knochenmarksdepression, Leuko- und Thrombozytopenie aber auch gastrointestinale Symptome (85). Diese Nebenwirkungen könnten darauf hindeuten, dass eine Isoform-selektive-HDAC-Inhibition nötig ist, um die Nebenwirkungen so gering wie möglich zu halten, bei gleichzeitig bestmöglicher Wirkung (69). Eine Studie mit ITF6190 (Rodin-A) konnte zeigen, dass Rodin-A selektiv die HDAC Klasse I Isoformen HDAC1 und HDAC2 inhibiert. Dies erfolgt über eine Hemmung der HDAC-CoREST(co-repressor of Repressor Element1 Silencing Transcription Factor)-Komplex-Aktivität. Darüber hinaus wurde die Sicherheit hinsichtlich hämatologischer Toxizität getestet und in-vitro gezeigt, dass diese Isoform-selektive HDAC-Inhibition zu einer Steigerung der hämatologischen Sicherheit geführt hat. Ein verbessertes Sicherheitsprofil im Menschen wird dahingehend vermutet (86).

1.3 Fragestellung

Aufgrund der negativen Ergebnisse vieler klinischer Studien zur Therapie der Herzinsuffizienz, insbesondere der HFpEF, und der daraus resultierenden mangelnden Verbesserung des Überlebens bei HFpEF, werden neue Ansätze zur Therapie dieser Entität dringend benötigt. Der Einsatz von HDACi konnte bereits in einigen Tiermodellen vielversprechende Ergebnisse liefern. Jedoch sind Daten für die funktionellen Effekte von HDACi in humanem kardialem Gewebe nach wie vor Mangelware und der klinische Einsatz von pan-HDACi bei kardiovaskulären Erkrankungen gestaltet sich aufgrund deren Nebenwirkungsprofil als schwierig. Möglicherweise kann der Einsatz von Isoform-selektiven HDACi durch ein gezieltes Wirken einzelner Isoformen bei einem deutlich günstigeren Nebenwirkungsprofil ähnlich gute Ergebnisse liefern.

Es wurden in-vitro die funktionellen Effekte auf nicht-insuffizientes humanes atriales Gewebe sowohl von einem Klasse I und Klasse II HDACi, als auch von zwei verschiedenen Isoform-selektiven Klasse I HDACi im Vergleich zu einer Kontrollgruppe untersucht.

Als zu überprüfende Hypothesen wurden festgelegt:

- HDAC-Inhibition führt zu einer Verbesserung der Kontraktilität im humanen atrialen Myokard (Erhöhung von Developed Force, Systolic Force und von dP/dt_{max}).
- HDACi führt zu einer Verbesserung der Relaxation im humanen atrialen Myokard (Beschleunigung der Relaxation (RT50%), Steigerung von dP/dt_{min} und Senkung der Diastolic Force).

2 Material und Methoden

2.1 Humanes atriales Gewebe

Alle beschriebenen Experimente wurden an humanem atrialem Gewebe durchgeführt. Das Gewebe wurde ausnahmslos im Rahmen von herzchirurgischen Operationen (koronarer arterieller Bypassgraft (CABG) und Aortenklappenersatzoperationen (AKE) oder eine Kombination dieser beiden Operationen) an der klinischen Abteilung für Herzchirurgie, am Universitätsklinikum Graz entnommen. Alle Patient*innen, deren Gewebe für diese Experimente entnommen wurden, wurden im Vorhinein über die Entnahme zu Studienzwecken aufgeklärt und willigten ein. Bei diesen, bereits erwähnten, herzchirurgischen Eingriffen muss das Herz zum Stillstand gebracht werden, dies geschieht mittels Depolarisationsblock durch eine Kardioplegielösung. Um den restlichen Körper während der Operation weiterhin mit Blut zu versorgen, muss eine extrakorporale Oxygenierung erfolgen. Dies wird über den Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine ermöglicht, für welche die Kanülierung des rechten Atriums und infolgedessen das Absetzen des rechten auriculum cordis erfolgen muss. Dieses Gewebe wurde nachfolgend für die Experimente verwendet. Die Größe dieser Herzohren variierte von Patient*in zu Patient*in, jedoch waren diese im Durchschnitt ungefähr 2 cm x 2 cm x 1 cm groß. Es wurden insgesamt 20 Herzohren von ebenso vielen Patient*innen verwendet.

2.1.1 Tyrodelösung

Generell wurde eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung als Nährmedium zum Auswaschen und während des Versuchslaufs verwendet. Die genaue Zusammensetzung der Inhaltsstoffe ist in Tabelle 1 angeführt. Für den Transport und während der Präparation wurde dieser, auch als Tyrode bekannten Lösung, zusätzlich 2,3-Butandione-Monoxime (BDM) in einer Konzentration von 30 Millimol/Liter (mmol/l) beigemischt. Darüber hinaus wurde die Tyrode auf eine Temperatur von 4 °C gekühlt, weiters mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) präoxygeniert und damit auf einen physiologischen pH-Wert von 7,4 eingestellt. BDM ist eine Phosphatase und wirkt vollständig reversibel und konzentrationsabhängig als kardioplegisches Agens. Aufgrund dieser

Eigenschaften eignet sich BDM besonders gut für Experimente dieser Art. Dies erklärt sich dadurch, dass BDM Kontrakturen entgegenwirkt, indem es die Sensitivität der kontraktilen Proteine gegenüber Kalziumionen reduziert, weiters entfaltet es seine Wirkung über eine Reduktion von Querbrückeninteraktionen (87, 88).

Tyrode-Lösung			Tyrode-BDM-Lösung		
Feststoff	Masse	Konzentration	Feststoff	Masse	Konzentration
NaCl	7,422 g	127 mmol/l	NaCl	7,422 g	127 mmol/l
KCl	0,172 g	2,3 mmol/l	KCl	0,172 g	2,3 mmol/l
NaHCO ₃	2,100 g	25 mmol/l	NaHCO ₃	2,100 g	25 mmol/l
KH ₂ PO ₄	0,177 g	1,3 mmol/l	KH ₂ PO ₄	0,177 g	1,3 mmol/l
MgSO ₄ -7H ₂ O	0,148 g	0,6 mmol/l	MgSO ₄ -7H ₂ O	0,148 g	0,6 mmol/l
CaCl ₂ -2H ₂ O	0,029 g	0,2 mmol/l	CaCl ₂ -2H ₂ O	0,029 g	0,2 mmol/l
C ₆ H ₁₂ O ₆	2,018 g	11,2 mmol/l	C ₆ H ₁₂ O ₆	2,018 g	11,2 mmol/l
Altinsulin	-	5 I.E./l	BDM	3,000 g	30 mmol/l

Tabelle 1: Zusammensetzung der verwendeten Lösungen

2.1.2 Transport

Das Gewebe wurde direkt nach dem Absetzen im Operationssaal von einer sterilen Pinzette in einen mit Tyrode-BMD-Lösung gefüllten Becher gegeben. Direkt im Anschluss wurde das Gewebe ins Labor transportiert, der Transportvorgang nahm ungefähr 10 Minuten in Anspruch. Im Labor wurde das Gewebe sofort in eine Präparierschale, gefüllt mit präoxygenierter und gekühlter Tyrode-BDM-Lösung überführt.

2.1.3 Präparation

2.1.3.1 Verwendete Instrumente und Geräte

- Stereomikroskop: Olympus VMT, 10-fach Vergrößerung
- Transferpipette 5ml: Sarstedt
- Lichtquelle: Olympus Europe, Highlight 2100
- Einwegbecher 100ml: Greiner Bio-One
- Mikro Pinzette 0,2mm, 110mm: Braun Aesculap
- Mikro Federschere Gr. 105mm: Braun Aesculap
- Pipetten der Firma Eppendorf in diversen Größen

2.1.3.2 Durchführung

Nach Überführung des Gewebes in die Präparierschale wurde mit der Präparation begonnen. Zu Beginn wurde die Größe, die Morphologie, sowie die Anzahl der vermutlich verwertbaren Trabekel beurteilt und entschieden, ob ein Teil des Herzohres abgetrennt werden kann. In Abbildung 4 ist exemplarisch ein Herzohrgewebe mit Blick durch das Mikroskop zu sehen. War dies der Fall, so wurde in etwa ein Viertel des Präparats abgetrennt, in zehn gleich große Stücke zerteilt und für weitere Forschungszwecke verwendet. Anschließend wurde mit der eigentlichen Präparation begonnen, diese erfolgte unter stereomikroskopischer Durchsicht mit 10-fach Vergrößerung. Eine mikrochirurgische Federschere, sowie eine mikrochirurgische Pinzette wurden zur Präparation verwendet. Die Präparation der Trabekel sollte möglichst atraumatisch erfolgen, da jegliche Dehnung der Trabekel zu einer Schädigung dieser führen kann. Aus diesem Grund erfolgte die Präparation auch freischwimmend in der Tyrode-BDM-Lösung, weil eine Fixierung zusätzliche Dehnungskräfte auf die Trabekel bedeutet hätte. Unter diesem Umstand wurde versucht, möglichst unverzweigte, lange Trabekel aus dem Herzohr zu präparieren, vor allem die Präparation wandständiger Trabekel erwies sich hierbei als besonders erfolgsversprechend. Im Anschluss wurde der gerade freipräparierte Trabekel vorsichtig mit einer Transferpipette in einen Becher mit Tyrode-BDM-Lösung überführt. Auf diese Weise wurden, je nach Herzohrgröße, in etwa 4-8 Trabekel frei präpariert und überführt. Wurden mehr als 4 Trabekel freipräpariert, dienten diese als Ersatzmaterial, falls ein zuvor verwendeter Trabekel bereits nach dem Einspannen die Qualitätskriterien (siehe 2.3.1) erfüllen konnte.

2.2 Messmethode

2.2.1 Verwendete Geräte

- Stimulator: STIM7, SI Heidelberg
- Temperaturregeleinheit: JUMO ITRON 32
- Messanlage: Muscle Tester ORG, SI Heidelberg
 - Force transducer: SI-KG4, World Precision Instruments
 - Gewebehaken: SI-TM2 Tissue Mount Holder, World Precision Instruments
 - Stereomikroskop: Optech, 10-fach bis 30-fach Vergrößerung
- Verstärker: SI-BAM21-LC KG Optical Force Transducer Amplifier, SI Heidelberg
- Analog-Digital-Wandler: ADInstruments Powerlab 16/30
- PC mit Labchart 7 Pro

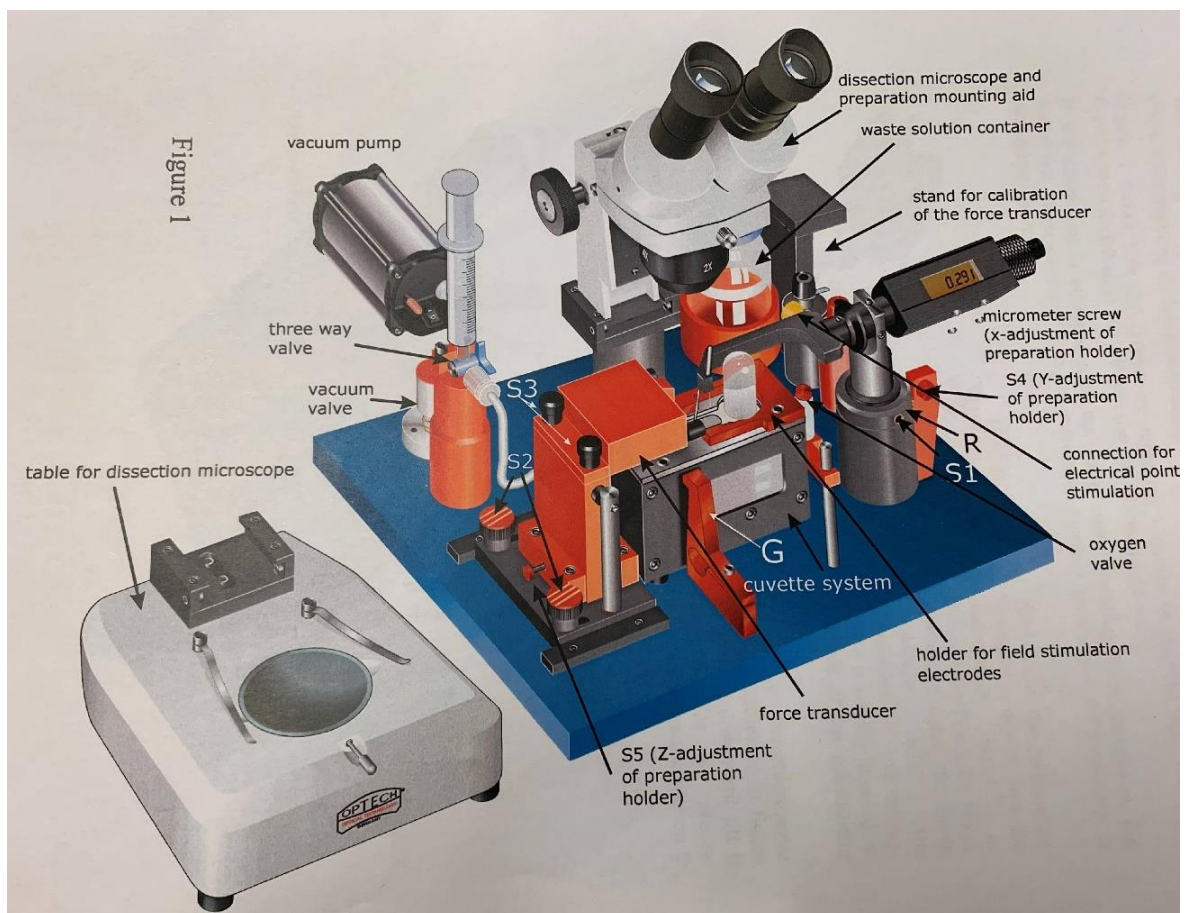


Abbildung 1: "parts of the Muscle tester" aus Manual Muscle tester ORG, SI Heidelberg

2.2.2 Aufbau der Messanlage

In Abbildung 1 ist der exakte Aufbau einer Anlage im Urzustand zu sehen und in Abbildung 2 ist der derzeitige reale Aufbau einer Anlage abgebildet. Es sind vier idente Anlagen vorhanden, an denen die Versuche parallel durchgeführt wurden. Das Zentrum des Aufbaus ist das Organbad mit den darin liegenden Haken. Das Organbad wird auf eine Temperatur von 36 °C geheizt und konstant auf dieser Temperatur gehalten, dies wird durch die Temperaturregeleinheit möglich gemacht. Darüber hinaus wird das Organbad über eine Carbogenzufuhr kontinuierlich während des Versuchs oxygeniert, diese kann für jedes Organbad über die in Abbildung 2 abgebildete Schraube (bezeichnet mit Sauerstoffregler) für jedes Organbad einzeln gesteuert werden. Die beiden Haken dienen zum Einspannen des Gewebes. Der linke Haken ist mit einem sogenannten Force Transducer verbunden und misst so analog die axial entwickelte Kraft. Diese wird mittels Powerlab digitalisiert, auf einen Computer übertragen und mit dem Programm Labchart aufgezeichnet. Der rechte Haken im Aufbau ist mit einer Mikrometerschraube verbunden, welche die Position der Haken zueinander steuert. Mit der Mikrometerschraube können die Trabekel so gedehnt werden. Das Stereomikroskop wird zum Einspannen der Trabekel und zur Begutachtung der Kontraktionen nach Anlegen der Spannung benötigt.

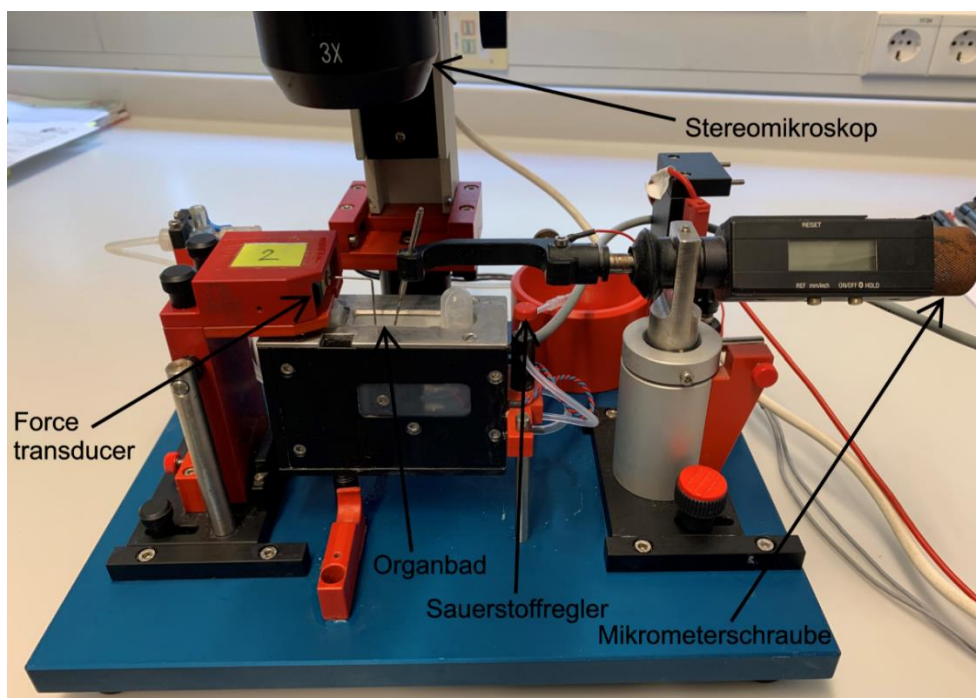


Abbildung 2: Aktueller Aufbau einer der vier Messanlagen

2.2.3 Versuchsvorbereitung

Nach der Präparation der Trabekel wurden diese einzeln ausgewaschen, indem sie für 5 Minuten in einen Einwegbecher gefüllt mit präoxygenierter, gekühlter Tyrode-Lösung überführt wurden. Es wurde jeder Trabekel jeweils drei Mal für 5 Minuten in Tyrode-Lösung ausgewaschen. Darauffolgend wurden die Trabekel vorsichtig auf den, ebenfalls mit Tyrode-Lösung benetzten, Gewebeklammern (siehe Abbildung 3) eingespannt. Die Sauerstoffzufuhr wurde nun mittels Sauerstoffregler eingestellt, um eine konstante Sauerstoffzufuhr während des ganzen Protokolls zu sichern. Es wurde fünf Minuten gewartet, um den Trabekeln eine Erholung vom mechanischen Stress zu ermöglichen. Als Nächstes wurde die Kalziumkonzentration von 0,2 mmol/l auf 1,2 mmol/l erhöht. Nun wurde mit der elektrischen Stimulation begonnen. Diese erfolgte mit Rechteckimpulsen mit einer Impulsdauer von fünf Millisekunden (ms) und einer Frequenz von 1 Hertz (Hz). Die Spannung wurde so lange erhöht, bis erste Kontraktionen des Trabekels sichtbar wurden und anschließend um weitere 20% erhöht (im Bereich von 5V bis maximal 8V), um suffiziente Stimulation während des gesamten Versuchsablauf zu gewährleisten. Daraufhin wurde nach weiteren fünf Minuten die Kalziumkonzentration von 1,2 mmol/l auf 2,5 mmol/l erhöht, diese Erhöhung zeigte den zu erwartenden positiv inotropen Effekt. Im weiteren Verlauf wurden die Trabekel in 50 μm Schritten gedehnt, bis die optimale Vordehnung (L_{max}) erreicht wurde, diese entspricht der Dehnung, bei der die maximale isometrische Kraft entwickelt wurde. In allen Experimenten wurde L_{max} als Ausgangswert (BL, Baseline) definiert. Nach dem Erreichen eines konstanten Grundzustandes wurde das Versuchsprotokoll gestartet.



Abbildung 3: SI TM2 Tissue Mount Holder von www.wpiinc.com/si-tm2-tissue-mount-holder



Abbildung 4: Herzohrgewebe im Präparationsbecken mit 10-fach Vergrößerung.

2.2.4 Versuchsprotokoll

Alle Experimente wurden als sogenannte Single-Shot-Experimente durchgeführt. Dies bedeutet, dass eine einmalige Zugabe einer Substanz erfolgte, um eine bestimmte Konzentration zu erreichen. Nach Zugabe der jeweiligen Substanz wurden die Trabekel zwei Stunden in dieser Substanz inkubiert und kontinuierlich die Schläge der Trabekel gemessen und digital aufgezeichnet. Nach Abschluss des Protokolls wurden die Trabekel in sogenannte Cryotubes von Eppendorf überführt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Abschließend wurden diese Cryotubes in einem Gefrierschrank bei einer Temperatur von $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Diese wurden für molekularbiologische Untersuchungen gesammelt. Zusätzlich wurde, wie in Kapitel 2.1.3 beschrieben, Herzohrgewebe für weitere Forschungszwecke abgetrennt. Dieses wurde jeweils für 6 Stunden mit verschiedenen Substanzen inkubiert. Anschließend wurde das Gewebe ebenso mit flüssigem Stickstoff schockgefroren und in einem Gefrierschrank bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert, um auch mit diesem zu einem späteren Zeitpunkt molekularbiologische Untersuchungen durchzuführen. Diese molekularbiologischen Untersuchungen sind jedoch nicht Gegenstand dieser Diplomarbeit.

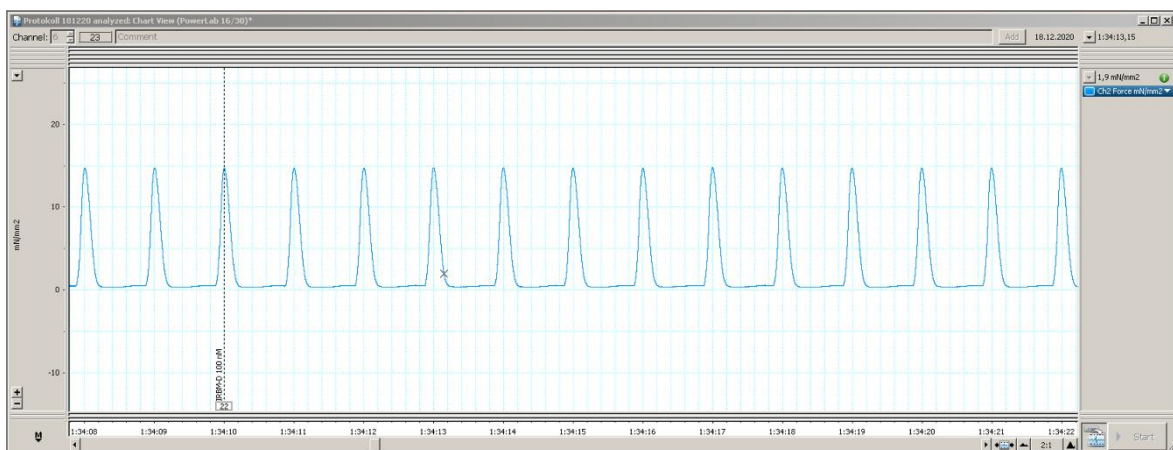


Abbildung 5: Labchartaufzeichnung einzelner Kontraktionen

Beispielhafte Darstellung der kontinuierlichen digitalen Aufzeichnung der einzelnen Schläge eines Muskelstreifens nach Zugabe der Intervention im Programm Labchart. Es handelt sich um das Muskelstreifenpräparat vom 18.12.2020 und stellt ein Versuchsexemplar der Interventionsgruppe: IRBM-D 100 nM dar.

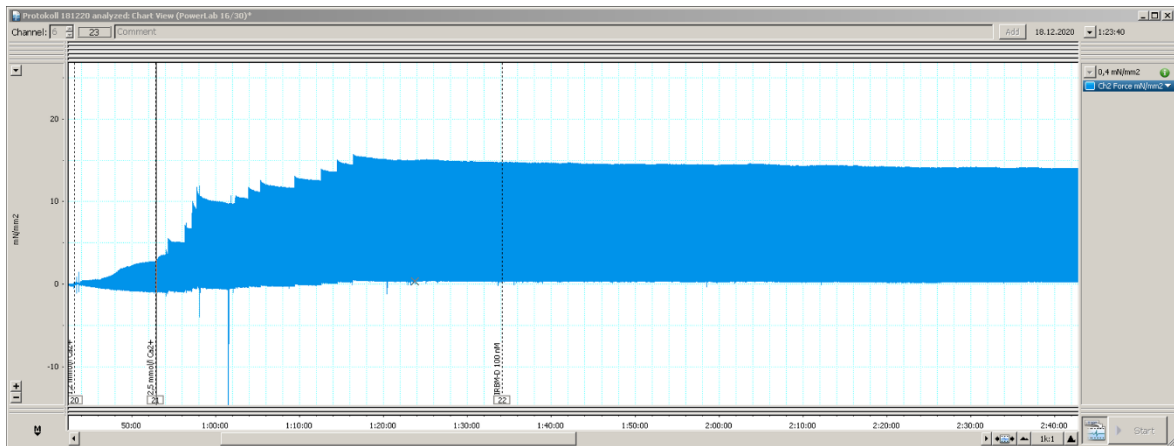


Abbildung 6: Labchartaufzeichnung in der Übersicht

Beispielhafte Übersichtsdarstellung in Labchart vom Beginn der ersten Kalziumerhöhung auf 1,2 mmol/l (1. Markierung), danach die zweite Kalziumerhöhung auf 2,5 mmol/l (2. Markierung), darauffolgend der Interventionsbeginn (3. Markierung) bis in etwa 60 Minuten nach Intervention. Zwischen 2. und 3. Markierung sind die einzelnen Dehnungsschritte deutlich zu erkennen. Es zeigt sich die positiv inotrope Wirkung der beiden Kalziumschritte, sowie die Steigerung der Kraft durch Erhöhung der Dehnung (Vorlast). Es handelt sich um das Muskelstreifenpräparat vom 18.12.2020 und stellt ein Versuchsexemplar der Interventionsgruppe: IRBM-D 100 nM dar.

2.2.5 Verwendete Substanzen

Wie in Kapitel 2.2.2 bereits beschrieben, erlaubt der Aufbau der Messanlage eine simultane Messung von vier Muskelstreifen. Es wurden drei verschiedene HDACi verwendet: ITF2357 (Givinostat), ITF4329 (IRBM D), ITF6190 (Rodin A). Die verwendeten HDACi lagen als Feststoff vor, wurden in DMSO gelöst und entsprechende Verdünnungen bei -80 °C gelagert. Aus den eingefrorenen Substanzproben wurden am Versuchstag die benötigten Verdünnungen erzeugt und dem Organbad die jeweilige Menge für die gewählte Konzentration hinzugefügt. Die verwendeten HDACi IRBM-D sowie Rodin-A wurden von Italfarmaco spA bezogen, während Givinostat von CHEMI S.p.A. zur Verfügung gestellt wurde. Als Kontrolle wurde die Substanz Dimethylsulfoxid (DMSO) verwendet.

2.2.5.1 ITF2357 – Givinostat

Givinostat ist ein oral bioverfügbarer, potenter Inhibitor der Zink-abhängigen HDAC Klassen I und II. Givinostat inhibiert diese HDAC Klassen durch die Komplexbildung der Zink-Ionen an der hydrophoben katalytischen Bindungsdomäne. Die Inhibitionskonstanten von Givinostat für HDACs reichen von 0,004 μM und 0,39 μM (80). Givinostat wurde einmalig zum Start des Versuchsprotokolls ins Organbad pipettiert und somit eine Konzentration von 100 nM im Organbad hergestellt.

2.2.5.2 ITF4329 – IRBM-D

IRBM D ist ein Isoform-selektiver-HDACi, dieser Wirkstoff inhibiert die Klasse I-Isoformen: HDAC1, HDAC2 und HDAC3. Zu den Effekten von IRBM-D gibt es bis dato nur sehr wenige Studien. Die Herzmuskelstreifen wurden bei einer Konzentration von 100 nM im Organbad inkubiert und stimuliert.

2.2.5.3 ITF6190 – Rodin-A

Rodin-A ist ebenfalls ein Isoform-selektiver-HDACi, dieser Wirkstoff inhibiert die Klasse I-Isoformen: HDAC1 und HDAC2. Die Effekte von Rodin-A im humanen Atrium sind noch weitgehend unbekannt. Die Effekte von Rodin-A wurden bei einer Konzentration von 2 μM untersucht, diese Konzentration wurde aufgrund des guten hämatologischen Sicherheitsprofils bei Konzentrationen $\leq 10 \mu\text{M}$ gewählt. Dies wurde in einem in-vitro Experiment gezeigt (86).

2.2.5.4 Kontrolle – Dimethylsulfoxid

Als Kontrollgruppe wurden Herzmuskelstreifen, welche mit DMSO bei einer Konzentration von 10 μM inkubiert wurden, verwendet. Da auch die anderen verwendeten Substanzen in DMSO gelöst wurden, so ist von keinem entscheidenden, durch DMSO ausgelösten, Effekt im Vergleich zu den Interventionsgruppen auszugehen.

2.3 Auswertung

Die Auswertung wurde mit dem Programm Labchart durchgeführt. Zu den gewählten Zeitpunkten wurden zirka 10 Schläge gemittelt und die Parameter: Developed Force, Systolic Force, Diastolic Force, dP/dt_{max} , dP/dt_{min} TTP, Tau, Trise und RT50% übertragen.

2.3.1 Qualitätskriterien

Es wurden nur jene Trabekel in die Auswertung aufgenommen, welche festgelegte Qualitätskriterien erfüllten. Diese Qualitätskriterien umfassten: die entwickelte isometrische Kraft und den Rhythmus. Trabekel, welche weniger als 5 mN/mm² Kraft entwickelten, welche einen Eigenschlagrhythmus entwickelten oder arrhythmisch wurden, wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen.

2.3.2 Statistische Methoden

Es wurde für alle vier Substanzgruppen eine sogenannte 2-Wege rmANOVA verwendet, um auf statistische Signifikanz zu überprüfen. Dies ist eine zweiseitige Varianzanalyse für wiederholte Messungen. Für die post-hoc Analyse wurde der Dunnett's multiple comparisons test verwendet. Es wurde überprüft, ob sich die Werte einer Substanzgruppe im Zeitverlauf änderten, indem der Ausgangswert (BL) mit den jeweiligen Zeitpunkten dieser Substanzgruppe verglichen wurde. Des Weiteren wurde auch überprüft, ob sich die drei verwendeten HDAC-Inhibitoren von der Kontrollgruppe zu den jeweiligen Zeitpunkten als Gruppe unterscheiden. Statistische Signifikanz wurde angenommen bei Werten von $p < 0,05$.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische Daten

Insgesamt wurden die Daten von 20 Patient*innen erhoben. Aufgrund der in Kapitel 2.3.1 beschriebenen Qualitätskriterien wurden jedoch nicht alle Versuche mit allen Substanzen in die Auswertung miteingeschlossen. Es wurden in die jeweiligen Versuchsgruppen nur jene Patient*innendaten aufgenommen, bei denen die entsprechenden Substanzen auch ausgewertet wurden. In der Givinostat-Gruppe wurden die Daten von neun Patient*innen erhoben, in der IRBM-D-Gruppe waren es die Daten von 13 Patient*innen. Die Rodin-A-Gruppe besteht aus den Daten von sieben Patient*innen und die Kontrollgruppe besteht aus den Daten von acht Patient*innen. Es wurden allgemeine Parameter wie: das Geschlecht, das Alter und der BMI erhoben. Zusätzlich wurde das Vorliegen eines Sinusrhythmus, sowie die sonographisch gemessene EF ausgewertet. Außerdem wurde das Kollektiv auf das Vorliegen von bestimmten, kardiovaskulär relevanten, Vorerkrankungen (arterieller Hypertonus, Diabetes Mellitus, Hyperlipidämie, Adipositas (BMI > 30 kg/m²) und der aktive Nikotinabusus) untersucht. Darüber hinaus wurde analysiert, welche kardiovaskulär relevante Medikation (ACE-Hemmer, ARB, , MRA, HMG-Coa-Reduktase-Hemmer (Statine), Metformin, GLP1-Agonist, ARNI, SGLT2-Hemmer und DPP4-Hemmer) vor dem operativen Eingriff von den Patient*innen dauerhaft eingenommen wurde. Ebenso wurde auch die Art des Eingriffes, bei welcher die Explantation des Herzohres durchgeführt wurde, dokumentiert. Hier wurde in drei Kategorien unterteilt: CABG, AKE oder eine Kombination von CABG und AKE. Alle genauen Daten können aus Tabelle 2 entnommen werden. Das Fehlen der Medikationen SGLT2-Hemmer und DPP-4-Hemmer ist darin begründet, dass es keine Patient*innen gab, welche diese Medikation präoperativ dauerhaft eingenommen haben. Die demographischen Daten für alle Versuchsgruppen sind relativ gleichmäßig verteilt.

Parameter	Givinostat (n=9)	IRBM-D (n=13)	Rodin-A (n=7)	Kontrolle (n=8)
Alter - Jahre	67±11	66±10	61±10	67±8
Weiblich - No. (%)	1 (11%)	1 (8%)	2 (29%)	0 (0%)
BMI - kg/m ²	26,9±5,2	26,2±5,2	27,1±6,4	26,5±3,6
Sinusrhythmus - No (%)	8 (89%)	13 (100%)	7 (100%)	8 (100%)
Ejektionsfraktion ≥50% - No. (%)	8 (89%)	12 (92%)	7 (100%)	7 (88%)
Vorerkrankungen:				
Diabetes Mellitus - No. (%)	2 (22%)	4 (31%)	1 (14%)	2 (25%)
Aktiver Nikotinabusus - No. (%)	1 (11%)	2 (15%)	1 (14%)	2 (25%)
Arterieller Hypertonus - No. (%)	7 (78%)	10 (77%)	4 (57%)	6 (75%)
Adipositas (BMI > 30) - No. (%)	2 (22%)	4 (31%)	3 (43%)	2 (25%)
Hyperlipidämie - No. (%)	8 (89%)	11 (85%)	5 (71%)	8 (100%)
Medikamente:				
ACE-Hemmer - No. (%)	3 (33%)	5 (38%)	1 (14%)	6 (75%)
ARB - No. (%)	3 (33%)	4 (31%)	4 (57%)	1 (13%)
β-Blocker - No. (%)	5 (56%)	8 (62%)	3 (43%)	7 (88%)
MRA - No. (%)	1 (11%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Statin - No. (%)	9 (100%)	11 (85%)	5 (71%)	7 (88%)
Metformin - No. (%)	1 (11%)	3 (23%)	1 (14%)	2 (25%)
GLP1-Agonist - No. (%)	0 (0%)	1 (8%)	0 (0%)	1 (13%)
ARNI - No. (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (13%)
Art des Eingriffes:				
CABG - No. (%)	6 (67%)	8 (62%)	4 (57%)	5 (63%)
AKE - No. (%)	1 (11%)	3 (23%)	2 (29%)	1 (13%)
CABG + AKE - No. (%)	2 (22%)	2 (15%)	1 (14%)	2 (25%)

Tabelle 2: Demographische Daten

3.2 Funktionelle Effekte im humanen atrialen Myokard

Es wurden die funktionellen Effekte von HDACi im humanen atrialen Myokard untersucht und mit der Kontrollgruppe verglichen. Zusätzlich wurden alle Parameter im Zeitverlauf in Relation zu ihrem eigenen Ausgangswert (Baseline: 100%) ausgewertet. In den folgenden Kapiteln werden die einzelnen Parameter angeführt und die Ergebnisse präsentiert. In den Diagrammen wurden die Mittelwerte \pm Standard Error of the mean (SEM) verwendet. Statistische Signifikanzen wurden mit den unter den jeweiligen Diagrammen beschriebenen Symbolen gekennzeichnet.

3.2.1 Diastolic Force

Der Parameter Diastolic Force beschreibt die diastolische Kraft, welche an den Trabekeln herrscht, wenn diese nicht kontrahiert sind. Diese wird in mN/mm^2 angegeben. Nachdem die Muskelstreifen möglichst ohne Zug eingespannt wurden, wurde die Diastolic Force manuell auf null gesetzt (zero adjust). Nach den Dehnungsschritten bis zu L_{max} steigt die diastolische Kraft physiologischer Weise jedoch an, der Wert bei L_{max} wurde als Ausgangswert ($BL = 100\%$) verwendet. Wie in Abbildung 7 zu sehen ist, steigt die diastolische Kraft in der Givinostat 100 nM Versuchsgruppe an, während in der IRBM-D 100 nM, in der Rodin-A 2 μM und in der Kontrollgruppe die diastolische Kraft im Zeitverlauf abnimmt. Statistisch signifikant ist der Unterschied zwischen Givinostat und der Kontrollgruppe ab 75 Minuten $116,2\% \pm 7,2\%$ gegenüber $86,1\% \pm 8,6\%$ ($p=0,0351$). Diese Unterschiede konnten auch zu allen darauffolgenden Messzeitpunkten gezeigt werden (nach 90 Minuten: $116,6\% \pm 6,8\%$ vs. $84,3\% \pm 10,3\%$, $p=0,0216$; nach 105 Minuten: $115,5\% \pm 6,1\%$ vs. $80,4\% \pm 10,3\%$, $p=0,011$; nach 120 Minuten: $115,2\% \pm 6,5\%$ vs. $74,8\% \pm 10,5\%$, $p=0,0026$). IRBM-D Versuchsserie zeigte einen Abfall der diastolischen Kraft auf $77,4\% \pm 11,2\%$ (ns) nach 120 Minuten. Bei Rodin-A kam es zu einem Abfall der diastolischen Kraft auf $72,9\% \pm 14,1\%$ (ns) nach 120 Minuten, welcher jedoch ebenso keine statistisch signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte.

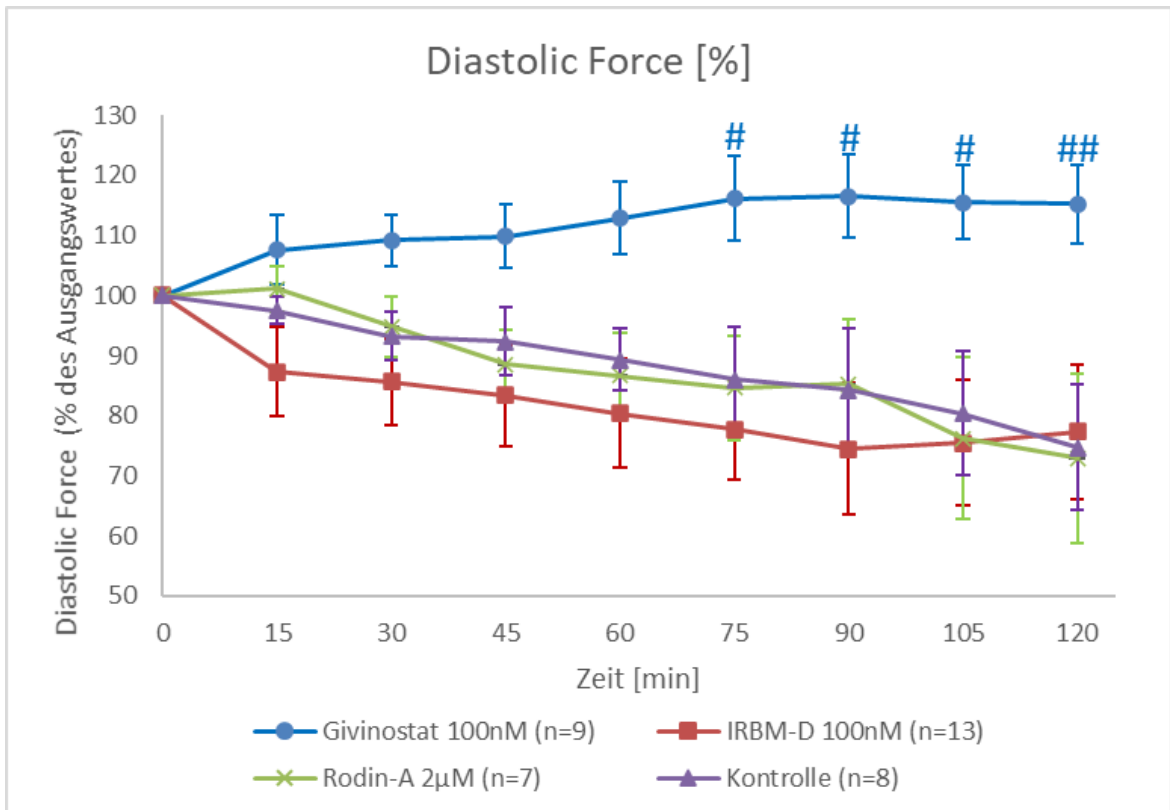


Abbildung 7: Diastolic Force im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM der Diastolic Force zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rmANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt. # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ zwischen Givinostat zum jeweiligen Zeitpunkt und der Kontrolle zum gleichen Zeitpunkt.

3.2.2 Systolic Force

Die Systolic Force, auch systolische Kraft, steht für die maximale Kraft, welche während der Kontraktion des Trabekels am Force Transducer herrscht, diese wird in mN/mm^2 angegeben. Wie in Abbildung 8 zu sehen, bleibt die systolische Kraft in der Givinostat 100 nM und der Rodin-A 2 μM Versuchsgruppe über den gesamten Zeitraum annähernd gleich. Die systolische Kraft in der Givinostat-Gruppe lag bei $91,2\% \pm 13,4\%$ (ns) nach 120 Minuten. Die Rodin-A-Versuchsabfolge erzielte durchschnittlich eine systolische Kraft von $96,2\% \pm 15,6\%$ (ns) nach 120 Minuten. In der IRBM-D 100 nM Versuchsreihe kam es bereits nach 60 Minuten zu einem statistisch signifikanten Abfall der systolischen Kraft auf $86,1\% \pm 5,0\%$ ($p = 0,0203$) im Vergleich zur systolischen Kraft beim Ausgangswert. Statistische Signifikanz erzielten auch die darauffolgenden Messzeitpunkte: $86,4\% \pm 5,5\%$ ($p = 0,0249$) bei 75 Minuten, $86,4\% \pm 6,3\%$ ($p = 0,0242$) bei 90 Minuten, $84,1\% \pm 6,6\%$ ($p = 0,0052$) bei 105 Minuten und $82,2\% \pm 6,7\%$ ($p = 0,0012$) bei 120 Minuten. Weiters kam es

auch in der Kontrollgruppe zu einem Abfall der systolischen Kraft mit Fortdauer des Messprotokolls. Zu einer statistisch signifikant geringeren systolischen Kraftentwicklung, im Vergleich zum Ausgangswert der Kontrollgruppe, kam es hier erstmals nach 75 Minuten $82,8\% \pm 3,4\%$ ($p = 0,0266$). Auch hier war die systolische Kraft in den nachfolgenden Messzeitpunkte statistisch signifikant vermindert in Gegenüberstellung mit dem Ausgangswert mit Werten von: $80,4\% \pm 4,5\%$ ($p = 0,0077$) nach 90 Minuten, $76,0\% \pm 4,8\%$ ($p = 0,0005$) nach 105 Minuten und $70,0\% \pm 5,3\%$ ($p < 0,0001$) nach 120 Minuten. Tendenziell kommt es in der Kontrollgruppe zu einem größeren Kraftverlust in der Systole im Vergleich zu den Versuchsreihen, vor allem zum Ende des Versuchsprotokolls und vor allem im Vergleich zu den Givinostat- und Rodin-A-Versuchsreihen. Diese Unterschiede waren im Gruppenvergleich jedoch nicht statistisch signifikant.

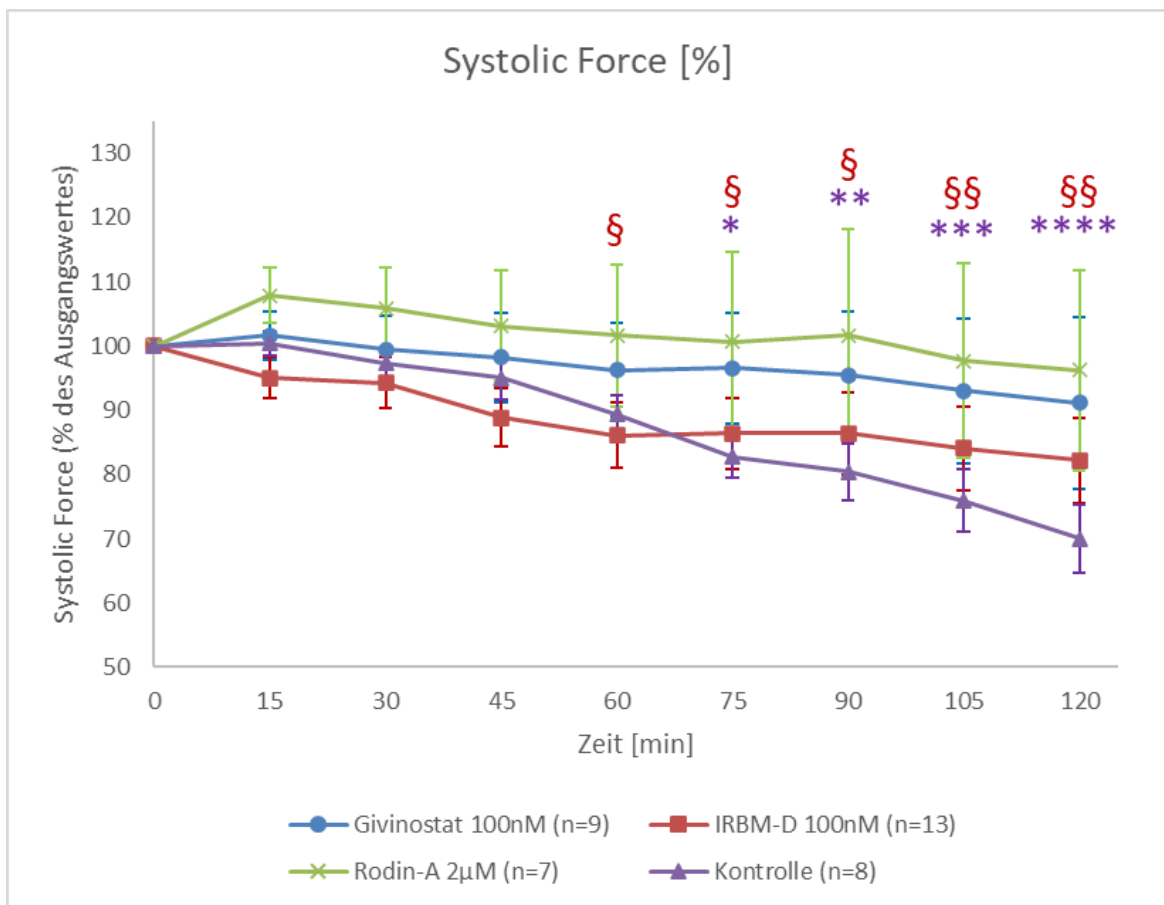


Abbildung 8: Systolic Force im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM der Systolic Force zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt. § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, §§§ $p < 0,001$, §§§§ $p < 0,0001$ zwischen IRBM-D 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und IRBM-D 100nM BL. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ zwischen Kontrolle zum jeweiligen Zeitpunkt und Kontrolle BL.

3.2.3 Developed Force

Die Developed Force, auch entwickelte Kraft genannt, beschreibt die Kraftdifferenz zwischen maximaler Entspannung und maximaler Kontraktion, der Wert wird in mN/mm^2 angegeben. Dieser Wert kann durch die Differenz der systolischen- und der diastolischen Kraft errechnet werden. Die entwickelte Kraft ist ein Maß für die Inotropie der Trabekel. Ein Anstieg der Developed Force zeigt also erhöhte Schlagkraft, und ein Abstieg eine Verminderung dieser an. Während es bei den drei Versuchsgruppen zu keiner statistisch signifikanten Veränderung über den Zeitverlauf kam, kam es bei der Kontrollgruppe nach 105 Minuten zu einem statistisch signifikanten Abfall der entwickelten Kraft im Vergleich zur entwickelten Kraft beim Ausgangswert $76,8\% \pm 5,3\%$ ($p = 0,0133$). Auch zum darauffolgenden Zeitpunkt (120 Minuten) wurde ein signifikanter Kraftabfall beobachtet $70,7\% \pm 5,4\%$ ($p = 0,0008$). In der Rodin-A Versuchsreihe betrug die entwickelte Kraft $106,7\% \pm 23,6\%$ (ns). Die entwickelte Kraft in der IRBM-D Serie betrug $87,9\% \pm 7,7\%$ (ns) und in der Givinostat-Serie betrug die entwickelte Kraft $82,1\% \pm 18,1\%$ (ns). In der Kontrollgruppe zeigt sich ein physiologischer Run-Down-Effekt. In den Interventionsgruppen zeigt sich ein Trend hinsichtlich eines Erhalts der entwickelten Kraft. Obwohl ein Trend klar ersichtlich ist, konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen gezeigt werden.

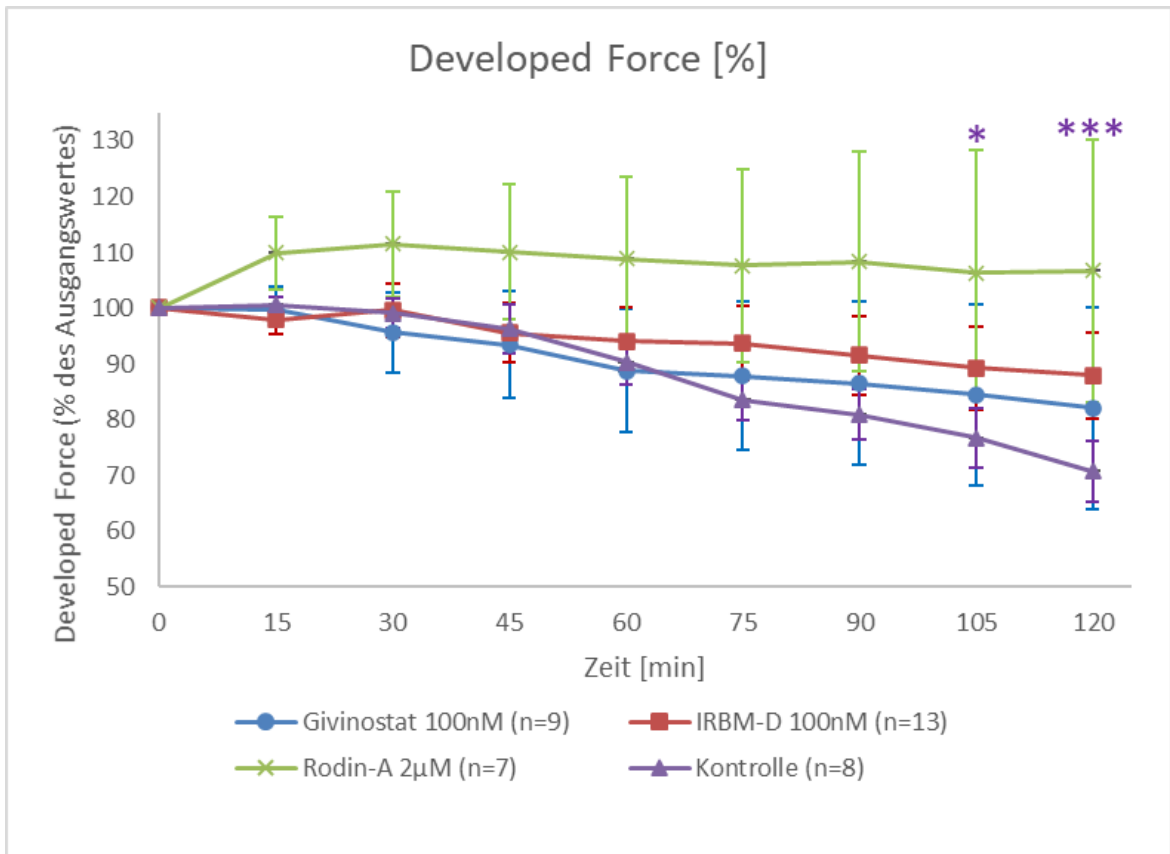


Abbildung 9: Developed Force im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM der Developed Force zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ zwischen Kontrolle zum jeweiligen Zeitpunkt und Kontrolle BL.

3.2.4 dP/dt_{max}

Der Parameter dP/dt_{max} beschreibt die maximale Kraftänderung während der Systole in $mN/mm^2/s$. dP/dt_{max} ist ein Parameter, welcher die Kontraktilität beschreibt, ein Anstieg ist ein Maß für eine Steigerung der Kontraktilität. Die Analyse dieses Parameters zeigte einen Abwärtstrend in den Gruppen: Givinstat, IRBM-D und der Kontrollgruppe. Die Kontrollreihe zeigte einen signifikanten Abfall nach 120 Minuten auf $70,8\% \pm 4,9\%$ ($p = 0,0092$). Weiters weist die IRBM-D 100 nM Gruppe eine Verminderung der maximalen Kraftanstiegsgeschwindigkeit auf $81,1\% \pm 7,2\%$ ($p = 0,0479$) auf. Ebenso kam es in der Givinstat 100 nM Versuchsreihe zum einem nicht signifikanten Abfall nach 120 Minuten auf $77,5\% \pm 21,9\%$ (ns). In der Rodin-A-Interventionsgruppe wiederum zeigte sich ein leichter Anstieg von dP/dt_{max} im Zeitverlauf. Nach 120 Minuten betrug die durchschnittliche dP/dt_{max} $112,0\% \pm 30,1\%$ (ns) und zeigte somit keine signifikante Veränderung. Statistisch signifikante

Unterschiede zwischen den Versuchsreihen und der Kontrollreihe konnten jedoch keine gezeigt werden.

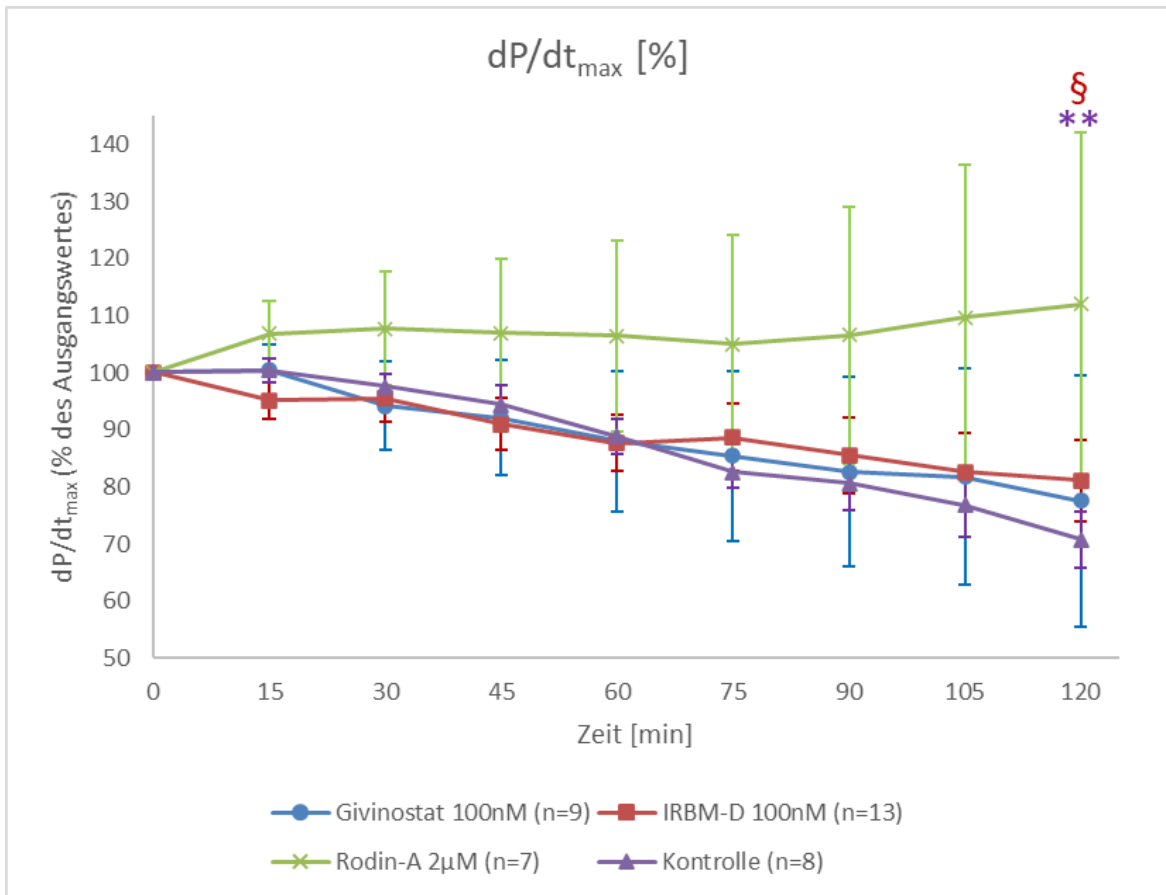


Abbildung 10: dP/dt_{max} im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM der dp/dt_{max} zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rmANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt. § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, §§§ $p < 0,001$, §§§§ $p < 0,0001$ zwischen IRBM-D 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und IRBM-D 100nM BL. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ zwischen Kontrolle zum jeweiligen Zeitpunkt und Kontrolle BL.

3.2.5 dP/dt_{\min}

dP/dt_{\min} beschreibt die maximale Kraftänderung während der Diastole und diese wird in $mN/mm^2/s$ angegeben. dP/dt_{\min} beschreibt die isovolumetrische Relaxation und ist damit ein Maß für die Lusitropie. Es zeigte sich vor allem in der Kontrollgruppe eine signifikante Abnahme der dP/dt_{\min} , aber auch die Versuchsreihen von Givinostat und IRBM-D zeigten nach 120 Minuten signifikante Verringerungen der dP/dt_{\min} in Relation zu ihren Ausgangswerten. Einzig Rodin-A zeigte keine signifikanten Änderungen im gesamten Protokoll. Eine signifikante Abnahme von dP/dt_{\min} bezogen auf den Ausgangswert erfolgte, in der Kontrollreihe, erstmals nach 75 Minuten auf $81,0\% \pm 3,8\%$ ($p = 0,0288$), nach 90 Minuten betrug die dP/dt_{\min} im Durchschnitt $77,0\% \pm 4,8\%$ ($p = 0,0041$), nach 105 Minuten lag diese bei $72,7\% \pm 5,5\%$ ($p = 0,0004$) und nach 120 Minuten betrug sie $67,0\% \pm 5,9\%$ ($p < 0,0001$). Es zeigte sich also durchgehende Abnahme der dP/dt_{\min} im Zeitverlauf. Auch in den Interventionsgruppen: Givinostat und IRBM-D kam es Abfällen der dP/dt_{\min} . Jedoch waren diese erst nach 120 Minuten signifikant verringert. Die durchschnittliche dP/dt_{\min} , betrug nach 120 Minuten $79,6\% \pm 14,7\%$ ($p = 0,0081$) in der Givinostat-Versuchsreihe. Bei IRBM-D trat die signifikante Abnahme der dP/dt_{\min} ebenso nach 120 Minuten auf und betrug $85,9\% \pm 6,9\%$ ($p = 0,0437$). Im Vergleich dazu kommt es bei Rodin-A zu Beginn zu einer nicht signifikanten, Zunahme der dp/dt_{\min} , welche sich im Verlauf wieder dem Ausgangswert annähert und die durchschnittliche dp/dt_{\min} betrug nach 120 Minuten $101,0\% \pm 20,3\%$ (ns). Es zeigt sich also eine Tendenz der Erhaltung der dp/dt_{\min} im Vergleich zur Kontrollgruppe, insbesondere Rodin-A zeigt hier die größten Unterschiede. All diese Veränderungen waren jedoch im Gruppenvergleich nicht signifikant.

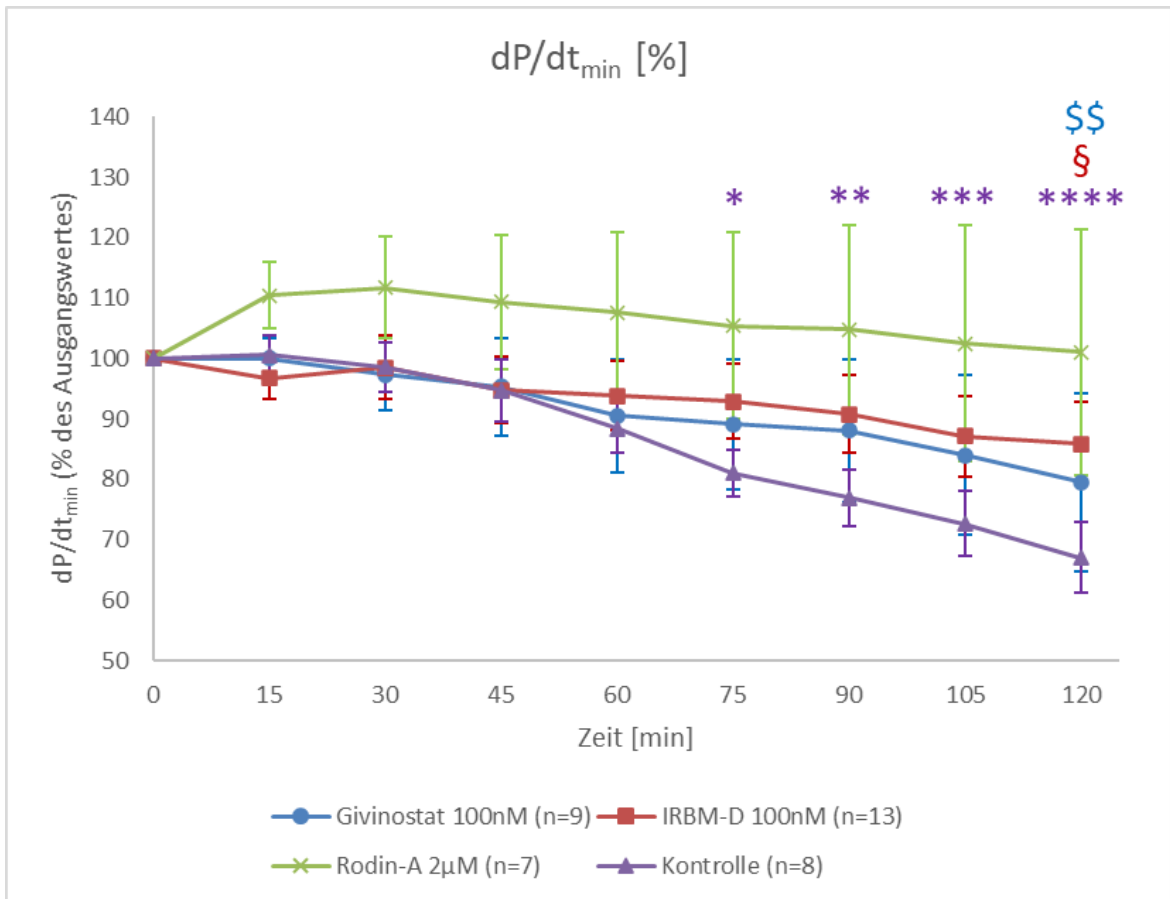


Abbildung 11: dP/dt_{\min} im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM der dP/dt_{\min} zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rmANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt. \$ $p < 0,05$, \$\$ $p < 0,01$, \$\$\$ $p < 0,001$, \$\$\$\$ $p < 0,0001$ zwischen Givinstat 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und Givinstat 100nM BL. § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, §§§ $p < 0,001$, §§§§ $p < 0,0001$ zwischen IRBM-D 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und IRBM-D 100nM BL. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ zwischen Kontrolle zum jeweiligen Zeitpunkt und Kontrolle BL.

3.2.6 Time to Peak

Die Time to Peak (TTP) beschreibt die Zeit in Millisekunden, die von Beginn der Kontraktion bis zur maximalen Kontraktion vergeht. Eine Abnahme der TTP beschreibt also eine kürzere Dauer der Kontraktion. Diese deutet auf eine schnellere Kontraktion und damit eine Steigerung der Kinetik. Während es innerhalb der Kontrollgruppe zu keinen signifikanten Veränderungen gekommen ist, zeigten hier die Interventionsgruppen einen signifikanten Anstieg an, zumindest zu einem Zeitpunkt. Vor allem in der Givinostat- und der IRBM-D Gruppe kam es hier zu signifikanten Anstiegen zu mehreren Zeitpunkten im Vergleich zu ihrem Ausgangswert. Erstmals signifikant war der Anstieg in der Givinostat-Gruppe nach 90 Minuten und die TTP war $113,3\% \pm 8,6\%$ ($p = 0,0448$). Nach 105 Minuten betrug diese $114,6\% \pm 7,5\%$ ($p = 0,0211$) und nach 120 Minuten war die TTP auf $119,8\% \pm 7,9\%$ ($p = 0,0006$) angestiegen. Ebenso kam es nach 90-minütiger Inkubation mit IRBM-D zu einem Anstieg der TTP auf $110,9\% \pm 6,5\%$ ($p = 0,0493$). Weiters war ein Anstieg auf $114,0\% \pm 7,7\%$ ($p = 0,0052$) nach 105 Minuten und ein Anstieg auf $115,9\% \pm 8,3\%$ ($p = 0,0007$) nach 120 Minuten zu beobachten. In der Rodin-A-Versuchsreihe kam es nach 105 Minuten zu einem statistisch signifikanten Anstieg der TTP auf $115,9\% \pm 8,0\%$ ($p = 0,0299$) im Vergleich zum Ausgangswert. Jedoch war die TTP nach 120 Minuten $117,9\% \pm 9,1\%$ (ns) nicht mehr signifikant erhöht. Die TTP der Kontrollgruppe zeigte sich relativ konstant im gesamten Messprotokoll und betrug nach 120 Minuten $97,7\% \pm 4,5\%$ (ns). Es zeigte sich ein tendenzieller Anstieg in allen Interventionsgruppen. Der Vergleich der Interventionsgruppen mit der Kontrollgruppe zeigte jedoch keine statistisch signifikanten Veränderungen.

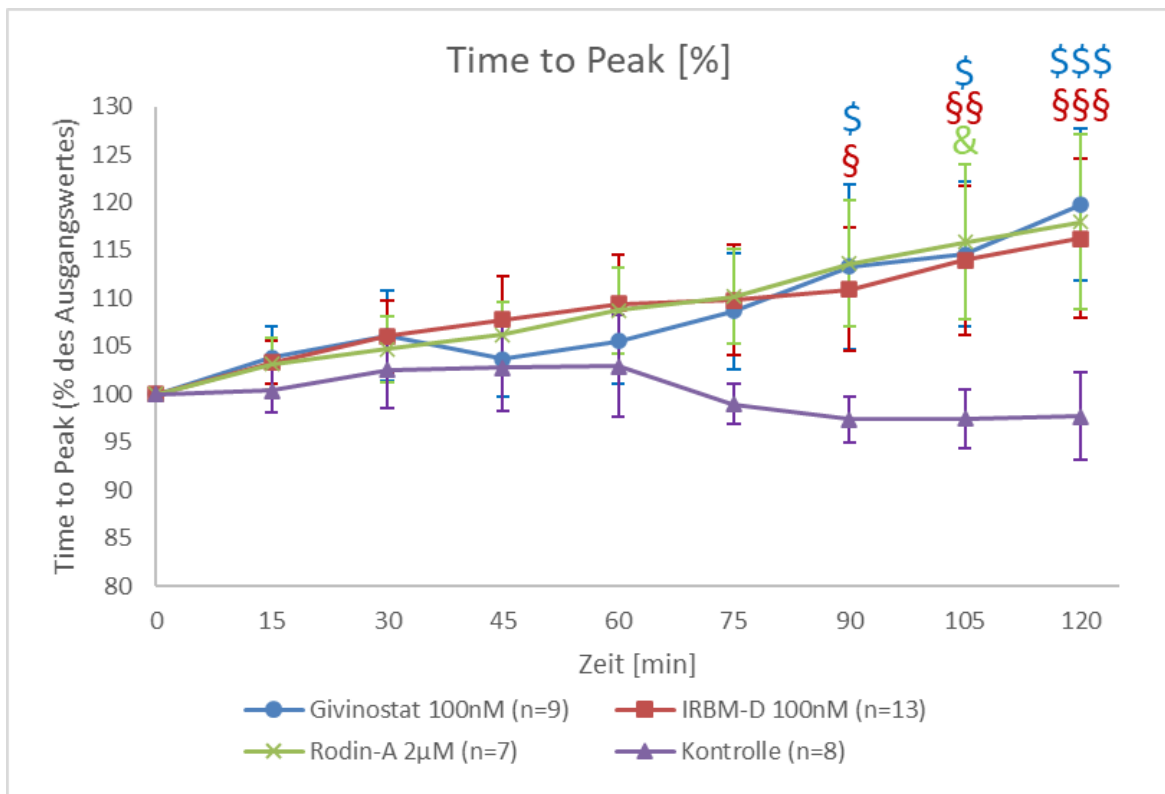


Abbildung 12: Time to Peak im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM der TTP zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rMANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt. \$ $p < 0,05$, \$\$ $p < 0,01$, \$\$\$ $p < 0,001$, \$\$\$\$ $p < 0,0001$ zwischen Givinostat 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und Givinostat 100nM BL. § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, §§§ $p < 0,001$, §§§§ $p < 0,0001$ zwischen IRBM-D 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und IRBM-D 100nM BL. & $p < 0,05$, && $p < 0,01$, &&& $p < 0,001$, &&&& $p < 0,0001$ zwischen Rodin-A 2µM zum jeweiligen Zeitpunkt und Rodin-A 2µM BL.

3.2.7 Trise

Trise beschreibt die Zeit, die von 50% der Kontraktion bis zur Spitze der Kontraktion (Systolic Force) vergeht. Trise ist also ein Maß für die späte Kontraktilität und wird in Millisekunden angegeben. Ein Abfall der Trise spricht also für eine Steigerung der Kinetik der späten Kontraktilität. Generell zeigte sich ein tendenzieller Anstieg der Trise in den Interventionsgruppen, wobei dieser nur teilweise signifikant war. In der Kontrollgruppe kam es zu keinen signifikanten Veränderungen während der Gesamtdauer des Protokolls. Nach 120 Minuten betrug die Trise in der Kontrollgruppe $100,4\% \pm 3,9\%$ (ns) und war damit nicht signifikant verändert. In der Givinostat-Versuchsreihe wurde bei 120 Minuten ein signifikant erhöhter Wert, im Vergleich zum Ausgangswert, registriert. Dieser betrug $117,3\% \pm 12,7\%$

($p = 0,0119$). Die IRBM-D-Versuche zeigten erstmals bei 75 Minuten einen signifikanten Anstieg der Trise auf $112,2\% \pm 7,5\%$ ($p = 0,0471$) und auch zu den weiteren Messzeitpunkten zeigten sich signifikante Steigerungen der Trise: nach 90 Minuten betrug dieser $114,1\% \pm 8,4\%$ ($p = 0,0151$), nach 105 Minuten betrug dieser $112,4\% \pm 8,5\%$ ($p = 0,0429$) und nach 120 Minuten entsprach dieser einem durchschnittlichem Wert von $114,3\% \pm 8,9\%$ ($p = 0,0125$). Bei Rodin-A kam es zu einem Anstieg der Trise im Vergleich zur BL, nach 120 Minuten war dieser Anstieg signifikant auf $128,6\% \pm 13,1\%$ ($p = 0,0039$) erhöht. Diese Veränderungen im Vergleich zum eigenen Ausgangswert konnten im Gruppenvergleich jedoch keine signifikanten Unterschiede zeigen.

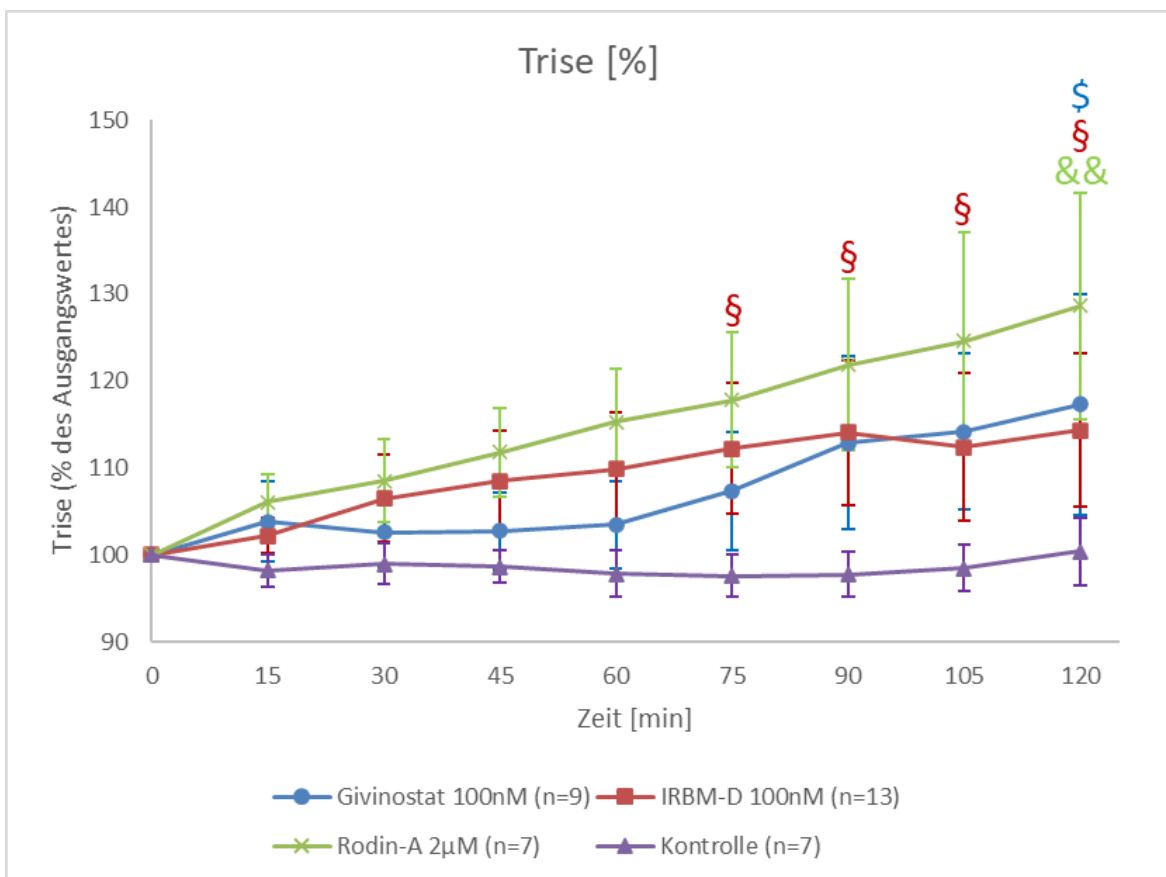


Abbildung 13: Trise im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM der Trise zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt. \$ $p < 0,05$, \$\$ $p < 0,01$, \$\$\$ $p < 0,001$, \$\$\$ \$ $p < 0,0001$ zwischen Givinostat 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und Givinostat 100nM BL. § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, \$\$\$ $p < 0,001$, \$\$\$ \$ $p < 0,0001$ zwischen IRBM-D 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und IRBM-D 100nM BL.

3.2.8 RT 50%

Die RT 50% ist die Zeit, welche verstreicht vom Erreichen der maximalen Kraft bis zum Erreichen von 50% der Relaxation. Die RT 50% wird in ms angegeben und ist ein Maß für die Lusitropie. Eine verringerte RT 50% spricht also für eine Steigerung der Relaxation und eine Erhöhung der RT 50% spricht für eine Abnahme der Relaxation. Es konnten weder statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen und der Kontrollgruppe, noch in den Versuchsreihen zwischen den jeweiligen Zeitpunkten und dem Ausgangswert gezeigt werden. Jedoch zeigte sich, wie in Abbildung 14 zu sehen, ein verhältnismäßig verminderter Anstieg der RT 50% im Zeitverlauf in den Interventionsgruppen. Während die Kontrollgruppe nach 120 Minuten eine RT 50% von $110,1\% \pm 9,2\%$ (ns) aufwies, zeigten sich in den Interventionsgruppen folgende Werte nach 120 Minuten: Givinostat: RT 50% von $100,9\% \pm 8,9\%$ (ns), IRBM-D: RT 50% von $99,9\% \pm 4,5\%$ (ns) und Rodin-A: RT 50% von $102,8\% \pm 3,4\%$ (ns).

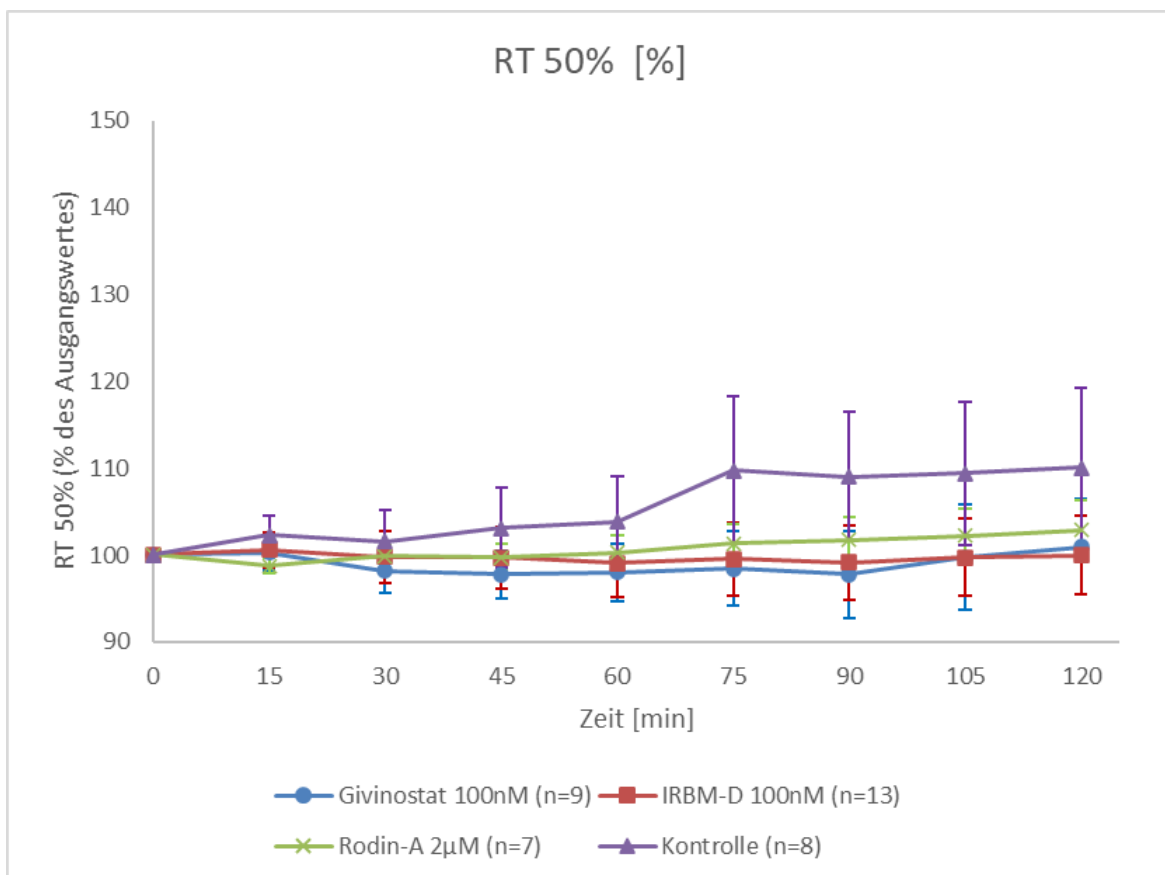


Abbildung 14: RT 50% im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM der RT 50% zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt.

3.2.9 Tau

Tau ist die Zeitkonstante der Exponentialfunktion, welche die Kraftkurve von 50% Relaxation bis zur minimalen Kraft (Diastolic Force) am besten beschreibt. Tau wird somit rechnerisch ermittelt und in Millisekunden angegeben. Tau ist ein Maß für die späte Relaxation und ein Anstieg spricht für eine Abnahme der Kinetik. Es zeigen sich Anstiege in allen Gruppen zum Ende des Messprotokolls, vor allem in den Interventionsgruppen, IRBM-D und Rodin-A aber auch in der Kontrollgruppe. In der Givinostat-Gruppe kommt es zu Beginn zu einem leichten Abfall. Nach etwa 75 Minuten ist dieser Abfall jedoch bereits ausgeglichen und nach 120 Minuten zeigt sich ein leichter Anstieg mit einem Wert für Tau von $106,3\% \pm 8,7\%$ (ns) im Vergleich zur BL. In der Kontrollgruppe ist eine signifikante Erhöhung von Tau nach 120 Minuten in Relation zum Ausgangswert zu beobachten $112,7\% \pm 6,4\%$ ($p = 0,0466$). Die Rodin-A-Interventionsreihe zeigt bereits nach 105 Minuten eine signifikante Tau-Erhöhung $116,6\% \pm 8,0\%$ ($p = 0,0078$). Nach 120 Minuten war ein durchschnittlicher Wert von $119,7\% \pm 9,7\%$ ($p = 0,0009$) im Vergleich zur eigenen BL vorliegend. Auch die IRBM-D-Reihe zeigte signifikant erhöhte Durchschnittswerte bei Tau nach 105 Minuten von $112,3\% \pm 5,0\%$ ($p = 0,0072$). Nach 120 Minuten zeigte sich ein Wert von $115,2\% \pm 6,2\%$ ($p = 0,0004$) in Relation zum Ausgangswert. Trotz der relativen Veränderungen konnten im Gruppenvergleich zwischen den Interventionen und der Kontrolle keine signifikanten Unterschiede zu den jeweiligen Zeitpunkten festgestellt werden.

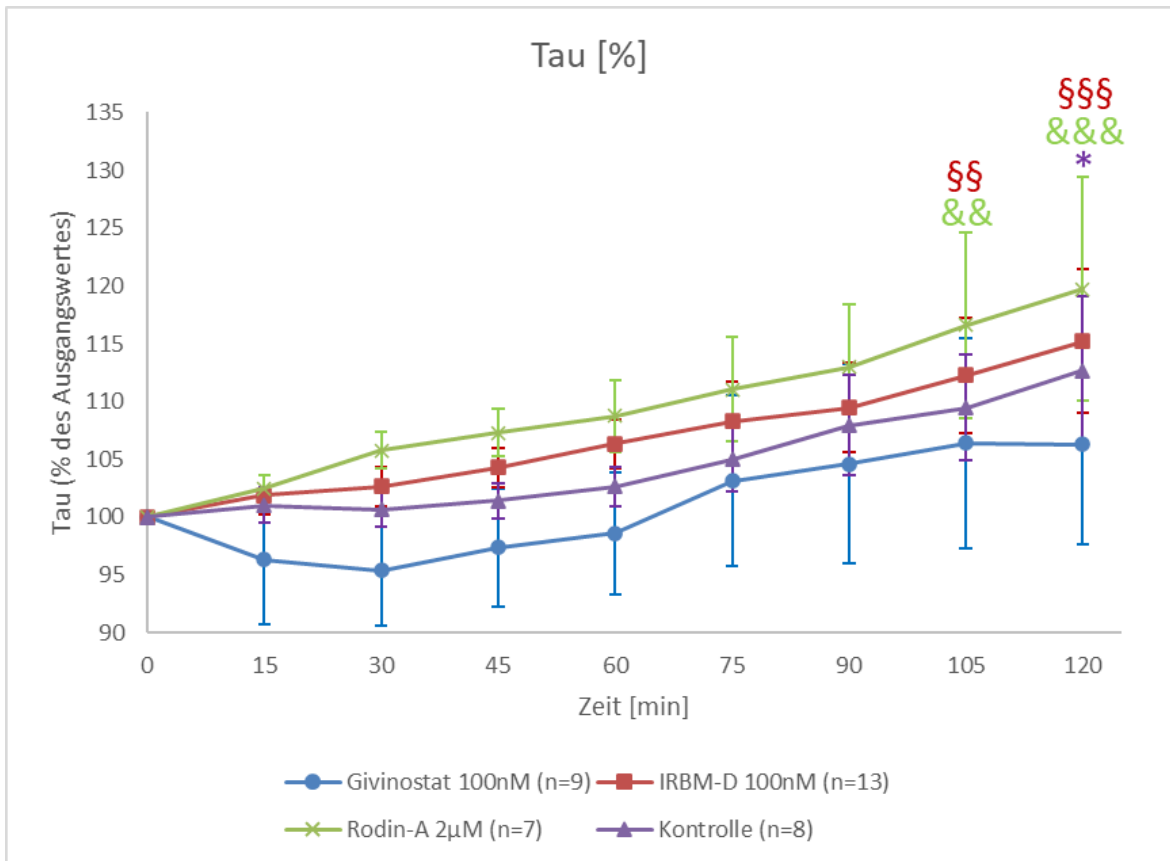


Abbildung 15: Tau im Zeitverlauf

Die Daten zeigen die Mittelwerte der Versuche \pm SEM von Tau zu den gewählten Messzeitpunkten. Statistische Signifikanz wurde mittels 2-Wege rmANOVA und Dunnett's multiple comparisons test ermittelt. § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, §§§ $p < 0,001$, §§§§ $p < 0,0001$ zwischen IRBM-D 100nM zum jeweiligen Zeitpunkt und IRBM-D 100nM BL. & $p < 0,05$, && $p < 0,01$, &&& $p < 0,001$, &&&& $p < 0,0001$ zwischen Rodin-A 2µM zum jeweiligen Zeitpunkt und Rodin-A 2µM BL. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ zwischen Kontrolle zum jeweiligen Zeitpunkt und Kontrolle BL.

4 Diskussion

Patient*innen mit Herzinsuffizienz werden anhand ihrer EF zumeist in drei Kategorien eingeteilt. Während es für Patient*innen mit HFrEF zahlreiche prognoseverbessernde Medikamente gibt, so fehlen diese zum großen Teil für Patient*innen mit HFpEF. Obwohl kürzlich Empagliflozin (SGLT-2-Inhibitor) erste vielversprechende Ergebnisse bei Patient*innen mit HFpEF erzielen konnte (66), so werden nichtsdestotrotz weitere neue Therapieansätze benötigt, um für eine große Kohorte an Patient*innen eine Verbesserung ihrer Symptomatik, Lebensqualität und Prognose zu erzielen. HDAC-Inhibitoren stellen ein vielversprechendes Konzept dar, eine krankheitsmodifizierende Wirkung bei Patient*innen mit Herzinsuffizienz zu bewirken. Wenngleich auch erwähnt werden muss, dass sich der Einsatz von HDAC-Inhibitoren in der Kardiologie noch in der präklinischen Phase befindet und bisher größtenteils an Tiermodellen untersucht wurde. HDACi wirken nicht wie die meisten Medikamente der HI-Therapie mittels einer klassischen neurohumoralen Blockade, sondern erzielen ihre Wirkung über epigenetische und posttranslationale Phänomene (67, 68). In dieser Arbeit wurden die funktionellen Effekte von verschiedenen HDACi auf humane rechtsatriale multizelluläre Muskelstreifenpräparate untersucht. Es wurde ausschließlich intraoperativ entnommenes humanes Gewebe verwendet. Dieses wurde während des gesamten Untersuchungszeitraumes in annähernd physiologischen Bedingungen (36 °C, pH-Wert 7.4 bei einer Stimulationsfrequenz von 1 Hz) gehalten. Dies soll den in-vivo Zustand möglichst genau imitieren. Ex-vivo Versuche besitzen den Vorteil, dass die funktionellen Messungen ohne Veränderungen der Vor- und Nachlast, sowie bei einer konstanten Frequenz gemessen werden können. Darüber hinaus ermöglichen es experimentelle Versuche, neue therapeutische Methoden direkt am humanen atrialen Myokard zu untersuchen. Jedoch müssen auch hier die Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert werden und in weiterer Folge in-vivo verifiziert werden.

4.1 Effekte von Givinostat im atrialem Myokard

Die Daten zeigen signifikante Unterschiede in der diastolischen Spannung (Diastolic Force) zwischen dem pan-HADCi Givinostat und der Kontrollgruppe. Es zeigte sich eine höhere diastolische Spannung in der pan-HADCi-Gruppe. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass die Kontrollgruppe im Vergleich zu ihrer BL auch signifikante Kraftverluste bei den Parametern Systolic Force und Developed Force zeigt. Es kommt also im Zeitverlauf zu einem sogenannten Run-Down-Phänomen, welches am humanen Atrium bereits mehrfach beschrieben wurde. Dieses gilt durch den Kalziumverbrauch als physiologisch (89, 90). Givinostat scheint diesen Run-Down-Effekt abzuschwächen. Es zeigen sich also keine signifikanten Veränderungen der Developed Force und der Systolic Force im Vergleich zur eigenen BL. Der genaue Mechanismus dahinter, warum die diastolische Kraft ansteigt, während es bei der Developed Force und der Systolic Force eher zu einem Krafterhalt kommt, bleibt jedoch ungeklärt und bedarf weiterer Untersuchungen. Hinsichtlich der weiteren erhobenen Parameter konnten im Vergleich zwischen Givinostat und der Kontrollgruppe zu den jeweiligen Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede aufgezeigt werden. Jedoch konnten Tendenzen im Verlauf des Protokolls, welche im Vergleich zum eigenen Ausgangswert signifikante Veränderungen darstellten, beobachtet werden. Die Kinetik der Kontraktilität wird vor allem durch die Parameter: TTP, Trise und dP/dt_{max} beschrieben. Es kommt in der Givinostat-Gruppe tendenziell zu einer leichten Abnahme der Kinetik der Kontraktilität, wobei sich dP/dt_{max} gleichermaßen zwischen den Gruppen verhält. Eine mögliche Erklärung könnte der verminderte Run-Down-Effekt in der Givinostat-Gruppe sein, welcher durch die relativ gesteigerte Kraftentwicklung eine leicht verminderte Kinetik bedingt. Hinsichtlich der Relaxationsparameter: dP/dt_{min} , RT 50% und Tau zeigten sich keine wesentlichen Veränderungen zwischen Givinostat und der Kontrolle. Möglicherweise hätte eine Erhöhung der Versuchszahl oder eine Erhöhung der Konzentration an die beschriebenen Konzentrationsgrenzen von Givinostat (80) statistisch signifikante Ergebnisse liefern können. In einem Mäusemodell mit diastolischer Dysfunktion konnte gezeigt werden, dass Givinostat die diastolische Dysfunktion umkehrt. Jedoch konnten keine signifikanten Unterschiede bei den funktionellen Parametern, der isolierten Kardiomyozyten, gezeigt werden. Die Autoren führen dies auf Effekte, welche unabhängig von den

Kardiomyozyten bzw. den Myofibrillen sind, zurück. Außerdem wurde gezeigt, dass Givinostat über eine Blockierung der kardialen Fibroblasten-Aktivierung wirken könnte und daraus folgend weniger extrazelluläre Matrix im Herzen abgelagert wird (91). Andererseits konnten Studien zeigen, dass durch HDAC-Inhibition mit Givinostat eine beeinträchtigte myofibrilläre Relaxation umgekehrt werden konnte (79, 84). Möglicherweise ist dieser Effekt im nicht-insuffizienten Myokard jedoch nicht im gleichen Maße vorhanden wie bei HFpEF-Modellen. Darüber hinaus könnte die Inkubationsdauer von 120 Minuten möglicherweise zu kurz sein, insbesondere können bei dieser kurzen Protokolldauer nur die nicht-genetischen Effekte beobachtet werden. Weiter ungeklärt bleibt die Frage, ob die Anwendung von Givinostat ausreichend gut verträglich ist und damit eine breite Anwendung bei HI möglich ist. Jedoch konnte in einer Phase 2 Studie bei jungen Männern mit Duchenne Muskeldystrophie gezeigt werden, dass die Gabe von Givinostat in niedriger Dosierung gut vertragen und die Thrombozytenzahl kaum beeinflusst wird (92). Givinostat führte zu keinem gehäuften Auftreten von Arrhythmien im verwendeten humanen atrialen Gewebe. Als Kontrollgruppe wurde DMSO in einer Konzentration von 10 µM eingesetzt, da dieses auch bei den Interventionsgruppen als Vehikel der Feststoffe diente. Givinostat lag als Feststoff vor und wurde dementsprechend in DMSO gelöst. Insofern ist nicht davon auszugehen, dass der Einsatz von DMSO andere funktionelle Effekte in der Kontrollgruppe als in der Interventionsgruppe auslöst.

4.2 Effekte von IRBM-D im Atrium

IRBM-D ist ein neuer Isoform-selektiver HDACi, welcher kommerziell nicht erhältlich ist. IRBM-D hemmt selektiv die Klasse I HDACs: HDAC1, HDAC2 und HDAC3. Die Effekte von IRBM-D sind noch weitgehend unerforscht und insbesondere die Effekte auf humanes Gewebe sind noch größtenteils unbekannt. Durch eine selektive Inhibition von Klasse I HDACs konnten kardiale anti-hypertrophe Effekte beschrieben werden. Dies erfolgt zum Teil über eine Unterdrückung der mechanistic target of rapamycin (mTOR)-Aktivität, einem Regulator des Zellwachstums (93). Zusätzlich konnten positive Effekte auf die Reperfusionverletzung und eine Modellierung der Autophagie gezeigt werden (94). In den hier durchgeführten Experimenten zeigte sich ein ähnliches Verhalten der diastolischen und systolischen Kraft zwischen IRBM-D und der Kontrolle. Tendenziell nimmt die

entwickelte Kraft bei IRBM-D jedoch geringer ab als in der Kontrollgruppe. Dies könnte als Zeichen für eine positiv inotrope Wirkung ohne Erhöhung der diastolischen Spannung gedeutet werden, auch wenn diese Ergebnisse statistisch nicht signifikant waren. Die Parameter, welche die Kinetik der Kontraktion beschreiben, zeigten keine wesentlichen Unterschiede. Es kommt lediglich zu einem geringen Anstieg der TTP und von Trise, während sich dP/dt_{max} gleich verhält wie in der Kontrollgruppe. Diese sind jedoch statistisch nicht signifikant. Möglicherweise ist diese allenfalls leichte Abnahme der Kinetik ebenso durch die verhältnismäßige Reduktion des Run-Down-Phänomens zu begründen. Die Beeinflussung der Relaxationsparameter liefert Hinweise auf eine tendenzielle Steigerung der Kinetik der Relaxation. In der Interventionsgruppe kam es zu einer geringeren Abnahme der dP/dt_{min} und zu keinem Anstieg der RT 50%. Außerdem kam es durch den Einsatz von IRBM-D zu keinem vermehrten Auftreten von Arrhythmien im Sinne von early afterdepolarizations (EAD) oder delayed afterdepolarizations (DAD). Es zeigen sich also durch die selektive HDAC-Inhibition Tendenzen in Richtung einer positiv inotropen und lusitropen Wirkung, auch wenn diese statistisch nicht signifikant sind.

4.3 Effekte von Rodin-A im Atrium

Rodin-A ist ein neuer Isoform-selektiver HDACi, welcher selektiv Klasse I HDACs (HDAC1 und HDAC2) inhibiert, es handelt sich dabei um eine experimentelle Substanz, die kommerziell nicht erhältlich ist. Rodin-A wurde in einer Studie untersucht und im Rahmen dessen wurde das Sicherheitsprofil erhoben. In dieser Studie wurden die toxischen Effekte sowohl in-vitro in humanen Knochenmarkszellen untersucht, als auch in-vivo in Ratten und Hunden. Es zeigte sich durchwegs ein verbessertes hämatologisches Sicherheitsprofil im Vergleich zu nicht-selektiver HDACi (86). Dies zeigt auf, dass die Isoform-selektive HDAC-Inhibition Off-target-Nebenwirkungen reduzieren könnte und daher in Zukunft vielleicht auch für andere Indikationen zum Einsatz kommen könnten. Jedoch Bedarf dies noch weiterer Forschungsarbeit, vor allem muss in weiterer Folge das Sicherheitsprofil im Menschen untersucht werden. Die Effekte von Rodin-A auf kardiales Gewebe von Menschen sind noch weitgehend unbekannt. In den durchgeführten Experimenten zeigte Rodin-A keine signifikanten Unterschiede im Vergleich mit der Kontrollgruppe. Jedoch zeigten sich Tendenzen im

Gruppenvergleich. Während es in der Kontrollgruppe zu signifikanten Abfällen der systolischen Kraft und der entwickelten Kraft kam, blieb diese in der Rodin-A-Gruppe konstant über die gesamte Versuchsdauer. Dies könnte darauf hindeuten, dass Rodin-A dem Run-Down-Effekt durch eine positiv inotrope Wirkung entgegenwirkt. Auch bei dP/dt_{\max} und dP/dt_{\min} zeigt sich, dass in der Rodin-A-Gruppe die Werte über die gesamte Versuchsdauer nahezu konstant bleiben, während es in der Kontrollgruppe zu signifikanten Abfällen im Vergleich zum eigenen Ausgangswert kommt. Weiters zeigt sich, dass die RT 50% in der Kontrollgruppe tendenziell ansteigt, während RT 50% in der Versuchsgruppe konstant bleibt. Diese Daten könnten darauf hinweisen, dass Rodin-A die Relaxation (dP/dt_{\min} , RT 50%) und die Kontraktilität (dev. Force, dP/dt_{\max}) steigert. Da diese Veränderungen jedoch nicht signifikant waren, bedarf es weiterer Untersuchungen. Hierfür könnten auch molekularbiologische Untersuchungen der zugrundeliegenden Mechanismen hilfreich bei der Einordnung der untersuchten Effekte sein. Auch durch den Einsatz von Rodin-A wurde kein vermehrtes Auftreten von Arrhythmien (EAD, DAD) beobachtet.

4.4 Limitationen

Diese Arbeit stellt den Versuch dar, funktionelle Messungen am humanen Atrium durchzuführen und mögliche Einflüsse von HDACi auf diese zu untersuchen. Trotz sorgfältiger Arbeit soll hiermit auf mögliche zugrundeliegende Limitationen eingegangen werden:

- Bei der gewählten Protokolldauer von zwei Stunden können nur die akuten Effekte von HDAC-Inhibition, in erster Linie die posttranslationalen Veränderungen, beurteilt werden. Effekte auf die Genexpression können in diesen Experimenten nicht beurteilt werden.
- Die gewählten Konzentrationen könnten möglicherweise zu niedrig sein, um in dieser Versuchskonstellation signifikante Effekte zu beurteilen.
- Auch wenn bei der Durchführung der Experimente höchste Sorgfalt an den Tag gelegt wurde, kann es während der Entnahme, des Transportes und der Präparation zur Schädigung der Trabekel kommen.
- Während des Ablaufs des Versuchsprotokolls wurden die Temperatur, die elektrische Spannung, sowie die Sauerstoffzufuhr nicht verändert. Minimale Schwankungen können jedoch nicht ausgeschlossen werden. Es wird

angenommen, dass diese Schwankungen, so sie aufgetreten sind, jedoch keinen wesentlichen Einfluss auf die Ergebnisse hatten und durchschnittlich in jeder Gruppe in etwa gleich häufig auftreten sollten.

- Die Versuchszahl in den einzelnen Gruppen ist relativ klein. Dies könnte kleine Effekte verschleiern, eine größere Anzahl an Trabekeln könnte möglicherweise statistisch signifikante Ergebnisse zeigen.
- Die Variabilität der Patient*innen aufgrund ihrer Komorbiditäten, Medikamenteneinnahme, etc. trägt ebenfalls zu einer gewissen Vergrößerung der Schwankungsbreite der Ergebnisse bei. Auch wenn diese in allen Gruppen sehr ähnlich waren.
- Es wurde prinzipiell nicht-insuffizientes Gewebe für die Testungen verwendet. Rückschlüsse auf insuffizientes Gewebe sind daher nicht zulässig.
- Alle Versuche wurden an atrialen Präparaten durchgeführt. Ein Rückschluss auf die Effekte im ventrikulären Myokard ist demnach nicht zulässig.

5 Konklusion

In dieser Arbeit wurden erstmalig die funktionellen Effekte von kommerziell nicht verfügbaren, selektiven HDACi am humanen atrialen Myokard getestet. Zusätzlich wurde ein pan-HDACi (Givinostat) untersucht. Akute positiv inotrope und lusitrope Effekte waren insbesondere durch eine Isoform-selektive HDAC-Inhibition zu beobachten. Auch wenn diese Beobachtungen im Gruppenvergleich statistisch nicht signifikant waren, so waren es erste Hinweise darauf, dass selektive HDACi im humanen kardialen Gewebe zu akuten, nicht-genomischen Effekten führt. Der Einsatz von HDACi war prinzipiell sicher, es kam also zu keinen vermehrten Arrhythmien (insb. EAD, DAD) in den beobachteten Versuchen, weitere Untersuchungen bezüglich der Sicherheit werden dennoch benötigt. Außerdem sind weitere Untersuchungen am humanen Gewebe nötig, um die zugrundeliegenden zellulären und molekularen Mechanismen zu identifizieren. Vor allem der Einfluss auf den myokardialen Kalziumstoffwechsel, Acetylierungsstatus und die myofilamentäre Kalziumsensitivität könnten Aufschluss über zugrundeliegende Mechanismen liefern. Ebenso bedarf es zusätzlicher Untersuchungen im insuffizienten humanen Gewebe.

6 Literaturverzeichnis

1. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal*. 2021;42(36):3599-726.
2. King M, Kingery J, Casey B. Diagnosis and evaluation of heart failure. *Am Fam Physician*. 2012;85(12):1161-8.
3. Bozkurt B, Coats AJS, Tsutsui H, Abdelhamid CM, Adamopoulos S, Albert N, et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association. *Eur J Heart Fail*. 2021;23(3):352-80.
4. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2163-96.
5. Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med*. 2006;355(3):251-9.
6. Lloyd-Jones DM, Larson MG, Leip EP, Beiser A, D'Agostino RB, Kannel WB, et al. Lifetime risk for developing congestive heart failure: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2002;106(24):3068-72.
7. Ceia F, Fonseca C, Mota T, Morais H, Matias F, de Sousa A, et al. Prevalence of chronic heart failure in Southwestern Europe: the EPICA study. *Eur J Heart Fail*. 2002;4(4):531-9.
8. Rutten FH, Cramer MJ, Grobbee DE, Sachs AP, Kirkels JH, Lammers JW, et al. Unrecognized heart failure in elderly patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Heart J*. 2005;26(18):1887-94.

9. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC, Jr., Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA*. 2003;289(2):194-202.
10. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007;93(9):1137-46.
11. Conrad N, Judge A, Tran J, Mohseni H, Hedgecott D, Crespillo AP, et al. Temporal trends and patterns in heart failure incidence: a population-based study of 4 million individuals. *Lancet*. 2018;391(10120):572-80.
12. Braunwald E. Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities. *N Engl J Med*. 1997;337(19):1360-9.
13. Braunwald E. Heart failure. *JACC Heart Fail*. 2013;1(1):1-20.
14. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392(10159):1789-858.
15. Ziaeian B, Fonarow GC. Epidemiology and aetiology of heart failure. *Nat Rev Cardiol*. 2016;13(6):368-78.
16. Bui AL, Horwich TB, Fonarow GC. Epidemiology and risk profile of heart failure. *Nat Rev Cardiol*. 2011;8(1):30-41.
17. Curtis JP, Selter JG, Wang Y, Rathore SS, Jovin IS, Jadbabaie F, et al. The obesity paradox: body mass index and outcomes in patients with heart failure. *Arch Intern Med*. 2005;165(1):55-61.
18. Donataccio MP, Vanzo A, Bosello O. Obesity paradox and heart failure. *Eat Weight Disord*. 2021;26(6):1697-707.
19. Tanai E, Frantz S. Pathophysiology of Heart Failure. *Compr Physiol*. 2015;6(1):187-214.
20. Sequeira V, van der Velden J. Historical perspective on heart function: the Frank-Starling Law. *Biophys Rev*. 2015;7(4):421-47.
21. Spinale FG. Assessment of Cardiac Function--Basic Principles and Approaches. *Compr Physiol*. 2015;5(4):1911-46.

22. Piot C, LeMaire SA, Albat B, Seguin J, Nargeot J, Richard S. High frequency-induced upregulation of human cardiac calcium currents. *Circulation*. 1996;93(1):120-8.
23. Mulieri LA, Hasenfuss G, Leavitt B, Allen PD, Alpert NR. Altered myocardial force-frequency relation in human heart failure. *Circulation*. 1992;85(5):1743-50.
24. Port JD, Bristow MR. Altered beta-adrenergic receptor gene regulation and signaling in chronic heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33(5):887-905.
25. Gjesdal O, Bluemke DA, Lima JA. Cardiac remodeling at the population level—risk factors, screening, and outcomes. *Nat Rev Cardiol*. 2011;8(12):673-85.
26. Hartupee J, Mann DL. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nat Rev Cardiol*. 2017;14(1):30-8.
27. Giannoni A, Emdin M, Bramanti F, Iudice G, Francis DP, Barsotti A, et al. Combined increased chemosensitivity to hypoxia and hypercapnia as a prognosticator in heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(21):1975-80.
28. Maggioni AP, Dahlström U, Filippatos G, Chioncel O, Leiro MC, Drozd J, et al. EURObservational Research Programme: regional differences and 1-year follow-up results of the Heart Failure Pilot Survey (ESC-HF Pilot). *European Journal of Heart Failure*. 2013;15(7):808-17.
29. Shah KS, Xu H, Matsouaka RA, Bhatt DL, Heidenreich PA, Hernandez AF, et al. Heart Failure With Preserved, Borderline, and Reduced Ejection Fraction: 5-Year Outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(20):2476-86.
30. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2016;37(27):2129-200.
31. Yusuf S, Pitt B, Davis CE, Hood WB, Cohn JN. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med*. 1991;325(5):293-302.
32. Group CTS. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *N Engl J Med*. 1987;316(23):1429-35.

33. Packer M, Poole-Wilson PA, Armstrong PW, Cleland JG, Horowitz JD, Massie BM, et al. Comparative effects of low and high doses of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, lisinopril, on morbidity and mortality in chronic heart failure. ATLAS Study Group. *Circulation*. 1999;100(23):2312-8.
34. Granger CB, McMurray JJ, Yusuf S, Held P, Michelson EL, Olofsson B, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function intolerant to angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Alternative trial. *Lancet*. 2003;362(9386):772-6.
35. King JB, Bress AP, Reese AD, Munger MA. Neprilysin Inhibition in Heart Failure with Reduced Ejection Fraction: A Clinical Review. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2015;35(9):823-37.
36. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med*. 2014;371(11):993-1004.
37. Velazquez EJ, Morrow DA, DeVore AD, Duffy CI, Ambrosy AP, McCague K, et al. Angiotensin-Neprilysin Inhibition in Acute Decompensated Heart Failure. *N Engl J Med*. 2019;380(6):539-48.
38. Wachter R, Senni M, Belohlavek J, Straburzynska-Migaj E, Witte KK, Kotalava Z, et al. Initiation of sacubitril/valsartan in haemodynamically stabilised heart failure patients in hospital or early after discharge: primary results of the randomised TRANSITION study. *Eur J Heart Fail*. 2019;21(8):998-1007.
39. Januzzi JL, Jr., Prescott MF, Butler J, Felker GM, Maisel AS, McCague K, et al. Association of Change in N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Following Initiation of Sacubitril-Valsartan Treatment With Cardiac Structure and Function in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction. *Jama*. 2019;322(11):1-11.
40. Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, Wedel H, Waagstein F, Kjeksus J, et al. Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and well-being in patients with heart failure: the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in congestive heart failure (MERIT-HF). MERIT-HF Study Group. *Jama*. 2000;283(10):1295-302.

41. Fowler MB. Effects of beta blockers on symptoms and functional capacity in heart failure. *Am J Cardiol.* 1997;80(11a):55I-8I.
42. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet.* 1999;353(9146):9-13.
43. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, et al. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group. *N Engl J Med.* 1996;334(21):1349-55.
44. Kotecha D, Holmes J, Krum H, Altman DG, Manzano L, Cleland JG, et al. Efficacy of β blockers in patients with heart failure plus atrial fibrillation: an individual-patient data meta-analysis. *Lancet.* 2014;384(9961):2235-43.
45. Zannad F, McMurray JJ, Krum H, van Veldhuisen DJ, Swedberg K, Shi H, et al. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *N Engl J Med.* 2011;364(1):11-21.
46. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med.* 1999;341(10):709-17.
47. Murphy SP, Ibrahim NE, Januzzi JL, Jr. Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: A Review. *Jama.* 2020;324(5):488-504.
48. Tentolouris A, Vlachakis P, Tzeravini E, Eleftheriadou I, Tentolouris N. SGLT2 Inhibitors: A Review of Their Antidiabetic and Cardioprotective Effects. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(16).
49. McMurray JJV, Solomon SD, Inzucchi SE, Køber L, Kosiborod MN, Martinez FA, et al. Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *N Engl J Med.* 2019;381(21):1995-2008.
50. Packer M, Anker SD, Butler J, Filippatos G, Pocock SJ, Carson P, et al. Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med.* 2020;383(15):1413-24.
51. Zannad F, Ferreira JP, Pocock SJ, Anker SD, Butler J, Filippatos G, et al. SGLT2 inhibitors in patients with heart failure with reduced ejection fraction: a meta-analysis of the EMPEROR-Reduced and DAPA-HF trials. *Lancet.* 2020;396(10254):819-29.

52. Felker GM, Ellison DH, Mullens W, Cox ZL, Testani JM. Diuretic Therapy for Patients With Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75(10):1178-95.
53. Faris R, Flather MD, Purcell H, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Diuretics for heart failure. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006(1):Cd003838.
54. DiFrancesco D. Funny channels in the control of cardiac rhythm and mode of action of selective blockers. *Pharmacol Res.* 2006;53(5):399-406.
55. Swedberg K, Komajda M, Böhm M, Borer JS, Ford I, Dubost-Brama A, et al. Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomised placebo-controlled study. *Lancet.* 2010;376(9744):875-85.
56. Stasch JP, Pacher P, Evgenov OV. Soluble guanylate cyclase as an emerging therapeutic target in cardiopulmonary disease. *Circulation.* 2011;123(20):2263-73.
57. Armstrong PW, Pieske B, Anstrom KJ, Ezekowitz J, Hernandez AF, Butler J, et al. Vericiguat in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *N Engl J Med.* 2020;382(20):1883-93.
58. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, Carson P, D'Agostino R, Jr., Ferdinand K, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med.* 2004;351(20):2049-57.
59. Vamos M, Erath JW, Hohnloser SH. Digoxin-associated mortality: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Eur Heart J.* 2015;36(28):1831-8.
60. The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure. *N Engl J Med.* 1997;336(8):525-33.
61. Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, McMurray JJV, Metra M, Solomon SD, et al. Cardiac Myosin Activation with Omecamtiv Mecarbil in Systolic Heart Failure. *N Engl J Med.* 2021;384(2):105-16.
62. Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJ, Solomon SD, Adams KF, Jr., Cleland JG, et al. Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure (COSMIC-HF): a phase 2, pharmacokinetic, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2016;388(10062):2895-903.
63. Kramer DG, Trikalinos TA, Kent DM, Antonopoulos GV, Konstam MA, Udelson JE. Quantitative evaluation of drug or device effects on ventricular remodeling as predictors of therapeutic effects on mortality in patients with

- heart failure and reduced ejection fraction: a meta-analytic approach. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(5):392-406.
64. Halliday BP, Wassall R, Lota AS, Khalique Z, Gregson J, Newsome S, et al. Withdrawal of pharmacological treatment for heart failure in patients with recovered dilated cardiomyopathy (TRED-HF): an open-label, pilot, randomised trial. *Lancet.* 2019;393(10166):61-73.
 65. Halliday BP, Owen R, Gregson J, V SV, Chen X, Wage R, et al. Myocardial remodelling after withdrawing therapy for heart failure in patients with recovered dilated cardiomyopathy: insights from TRED-HF. *Eur J Heart Fail.* 2021;23(2):293-301.
 66. Anker SD, Butler J, Filippatos G, Ferreira JP, Bocchi E, Böhm M, et al. Empagliflozin in Heart Failure with a Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med.* 2021;385(16):1451-61.
 67. de Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, Kemp S, van Kuilenburg AB. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J.* 2003;370(Pt 3):737-49.
 68. Gillette TG, Hill JA. Readers, writers, and erasers: chromatin as the whiteboard of heart disease. *Circ Res.* 2015;116(7):1245-53.
 69. Bagchi RA, Weeks KL. Histone deacetylases in cardiovascular and metabolic diseases. *J Mol Cell Cardiol.* 2019;130:151-9.
 70. Inoue A, Fujimoto D. Enzymatic deacetylation of histone. *Biochem Biophys Res Commun.* 1969;36(1):146-50.
 71. Taunton J, Hassig CA, Schreiber SL. A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science.* 1996;272(5260):408-11.
 72. Seto E, Yoshida M. Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6(4):a018713.
 73. Millard CJ, Watson PJ, Fairall L, Schwabe JWR. Targeting Class I Histone Deacetylases in a "Complex" Environment. *Trends Pharmacol Sci.* 2017;38(4):363-77.
 74. McKinsey TA. Isoform-selective HDAC inhibitors: closing in on translational medicine for the heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;51(4):491-6.
 75. Ferguson BS, McKinsey TA. Non-sirtuin histone deacetylases in the control of cardiac aging. *J Mol Cell Cardiol.* 2015;83:14-20.

76. Demos-Davies KM, Ferguson BS, Cavasin MA, Mahaffey JH, Williams SM, Spiltoir JI, et al. HDAC6 contributes to pathological responses of heart and skeletal muscle to chronic angiotensin-II signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;307(2):H252-8.
77. Li P, Ge J, Li H. Lysine acetyltransferases and lysine deacetylases as targets for cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2020;17(2):96-115.
78. Milan M, Pace V, Maiullari F, Chirivì M, Baci D, Maiullari S, et al. Givinostat reduces adverse cardiac remodeling through regulating fibroblasts activation. *Cell Death Dis*. 2018;9(2):108.
79. Jeong MY, Lin YH, Wennersten SA, Demos-Davies KM, Cavasin MA, Mahaffey JH, et al. Histone deacetylase activity governs diastolic dysfunction through a nongenomic mechanism. *Sci Transl Med*. 2018;10(427).
80. Chifotides HT, Bose P, Verstovsek S. Givinostat: an emerging treatment for polycythemia vera. *Expert Opin Investig Drugs*. 2020;29(6):525-36.
81. Consalvi S, Saccone V, Mozzetta C. Histone deacetylase inhibitors: a potential epigenetic treatment for Duchenne muscular dystrophy. *Epigenomics*. 2014;6(5):547-60.
82. Passamonti F, Maffioli M, Caramazza D. New generation small-molecule inhibitors in myeloproliferative neoplasms. *Curr Opin Hematol*. 2012;19(2):117-23.
83. Spence S, Deurinck M, Ju H, Traebert M, McLean L, Marlowe J, et al. Histone Deacetylase Inhibitors Prolong Cardiac Repolarization through Transcriptional Mechanisms. *Toxicol Sci*. 2016;153(1):39-54.
84. Wallner M, Eaton DM, Berretta RM, Liesinger L, Schittmayer M, Gindlhuber J, et al. HDAC inhibition improves cardiopulmonary function in a feline model of diastolic dysfunction. *Sci Transl Med*. 2020;12(525).
85. Duvic M, Talpur R, Ni X, Zhang C, Hazarika P, Kelly C, et al. Phase 2 trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood*. 2007;109(1):31-9.
86. Fuller NO, Pirone A, Lynch BA, Hewitt MC, Quinton MS, McKee TD, et al. CoREST Complex-Selective Histone Deacetylase Inhibitors Show Prosynaptic Effects and an Improved Safety Profile To Enable Treatment of Synaptopathies. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10(3):1729-43.

87. Mulieri LA, Hasenfuss G, Ittleman F, Blanchard EM, Alpert NR. Protection of human left ventricular myocardium from cutting injury with 2,3-butanedione monoxime. *Circ Res.* 1989;65(5):1441-9.
88. Brixius K, Schwinger RH. Modulation of cross-bridge interaction by 2,3-butanedione monoxime in human ventricular myocardium. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2000;361(4):440-4.
89. Wallner M, Kolesnik E, Ablasser K, Khafaga M, Wakula P, Ljubojevic S, et al. Exenatide exerts a PKA-dependent positive inotropic effect in human atrial myocardium: GLP-1R mediated effects in human myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* 2015;89(Pt B):365-75.
90. Bisping E, Tenderich G, Barckhausen P, Stumme B, Bruns S, von Lewinski D, et al. Atrial myocardium is the predominant inotropic target of adrenomedullin in the human heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293(5):H3001-7.
91. Travers JG, Wennersten SA, Peña B, Bagchi RA, Smith HE, Hirsch RA, et al. HDAC Inhibition Reverses Preexisting Diastolic Dysfunction and Blocks Covert Extracellular Matrix Remodeling. *Circulation.* 2021;143(19):1874-90.
92. Bettica P, Petrini S, D'Oria V, D'Amico A, Catteruccia M, Pane M, et al. Histological effects of givinostat in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 2016;26(10):643-9.
93. Morales CR, Li DL, Pedrozo Z, May HI, Jiang N, Kyrychenko V, et al. Inhibition of class I histone deacetylases blunts cardiac hypertrophy through TSC2-dependent mTOR repression. *Sci Signal.* 2016;9(422):ra34.
94. Xie M, Kong Y, Tan W, May H, Battiprolu PK, Pedrozo Z, et al. Histone deacetylase inhibition blunts ischemia/reperfusion injury by inducing cardiomyocyte autophagy. *Circulation.* 2014;129(10):1139-51.

7 Anhang

7.1 Givinostat 100nM Messwerte

Diastolic Force	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	95,67	106,76	91,16	83,81	113,74	112,92	108,71	145,00	110,45	107,58	17,51	5,84
30	108,89	108,18	88,96	90,56	120,32	123,20	108,31	124,41	110,23	109,23	12,80	4,27
45	105,57	107,20	79,08	94,49	120,08	129,46	112,15	127,39	113,58	109,89	15,90	5,30
60	102,17	114,26	78,43	98,15	120,84	128,37	140,97	116,12	116,44	112,86	18,15	6,05
75	109,01	113,00	82,88	97,59	122,12	133,13	159,19	112,41	116,41	116,19	21,51	7,17
90	114,11	107,02	83,65	97,92	124,76	138,63	151,59	111,72	119,73	116,57	20,44	6,81
105	111,67	106,74	83,72	96,61	123,12	130,18	145,55	122,24	119,73	115,51	18,37	6,12
120	101,35	108,80	83,72	91,67	121,40	133,26	131,77	130,47	134,60	115,23	19,45	6,48

Tabelle 3: Messwerte Givinostat 100 nM Diastolic Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Developed Force	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	95,89	92,45	92,30	103,58	99,00	91,94	82,29	123,95	115,07	99,61	12,87	4,29
30	97,54	86,48	84,64	93,54	96,83	86,71	59,08	129,27	126,61	95,63	21,57	7,19
45	97,78	82,74	79,06	85,44	92,52	89,67	42,82	135,71	135,08	93,43	28,51	9,50
60	93,35	73,97	74,97	74,10	84,54	87,97	33,01	139,29	137,51	88,75	32,98	10,99
75	89,90	64,86	69,11	67,82	82,61	92,51	25,49	149,48	149,01	87,87	39,94	13,31
90	84,48	59,69	62,45	64,12	80,23	96,35	21,67	153,22	156,10	86,48	43,93	14,64
105	78,46	56,26	49,38	59,42	79,23	99,62	16,48	153,40	167,45	84,41	49,00	16,33
120	56,12	51,14	49,38	56,83	68,51	100,19	16,48	162,28	177,49	82,05	54,42	18,14

Tabelle 4: Messwerte Givinostat 100 nM Developed Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

TTP	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	103,39	100,26	98,33	93,52	106,81	122,77	93,92	99,97	115,22	103,80	9,75	3,25
30	106,50	101,57	98,90	94,68	105,89	127,35	88,93	99,65	130,80	106,03	14,15	4,72
45	109,43	102,53	99,54	100,06	105,52	125,82	80,00	101,42	108,63	103,66	11,98	3,99
60	110,05	102,36	101,62	106,52	111,88	123,59	75,16	103,55	115,07	105,53	13,37	4,46
75	111,52	104,54	101,14	114,68	126,85	129,22	67,75	102,84	119,24	108,64	18,34	6,11
90	111,23	105,24	102,38	122,52	160,36	128,75	64,47	101,72	122,90	113,29	25,83	8,61
105	110,05	104,80	126,29	138,74	137,43	126,52	64,73	106,09	116,68	114,59	22,54	7,51
120	115,02	110,39	126,29	156,97	140,63	122,54	70,65	112,88	122,53	119,77	23,58	7,86

Tabelle 5: Messwerte Givinostat 100 nM Time to Peak
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Systolic Force	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	95,83	97,57	92,14	98,13	101,23	98,29	92,05	126,68	112,64	101,62	11,20	3,73
30	100,84	94,24	85,30	92,73	100,38	97,76	77,27	128,65	117,94	99,46	15,67	5,22
45	100,05	91,49	79,03	87,96	96,69	101,76	68,44	134,62	123,68	98,19	20,61	6,87
60	95,92	88,38	75,49	80,77	90,03	100,18	72,90	136,21	126,33	96,24	21,89	7,30
75	95,46	82,08	71,17	76,05	88,59	104,79	74,89	144,52	131,71	96,58	26,01	8,67
90	93,10	76,62	65,62	73,46	86,96	109,13	69,67	147,69	136,80	95,45	29,78	9,93
105	88,12	74,32	54,59	69,72	85,87	108,87	64,17	149,28	142,13	93,01	33,74	11,25
120	69,28	71,76	54,59	66,44	76,50	110,23	59,07	158,05	154,74	91,19	40,20	13,40

Tabelle 6: Messwerte Givinostat 100 nM Systolic Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

dP/dt _{max}	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	95,69	90,55	91,59	111,79	94,19	91,16	86,81	121,52	120,62	100,44	13,65	4,55
30	96,19	82,85	81,97	98,52	92,07	67,16	67,65	129,31	132,03	94,19	23,47	7,82
45	95,74	77,66	75,87	86,99	86,82	69,99	54,51	135,93	145,50	92,11	30,03	10,01
60	89,91	68,94	71,64	69,76	75,74	70,84	45,80	149,23	150,42	88,03	36,81	12,27
75	85,98	57,35	65,86	59,19	70,91	69,84	38,10	159,62	161,76	85,40	44,56	14,85
90	79,79	51,98	59,79	51,69	58,21	73,37	34,01	166,11	168,73	82,63	49,82	16,61
105	73,43	48,32	45,28	39,41	65,64	82,33	27,11	170,13	183,82	81,72	56,77	18,92
120	48,13	42,10	45,28	37,82	29,39	89,69	27,11	183,67	194,40	77,51	65,83	21,94

Tabelle 7: Messwerte Givinostat 100 nM dP/dt_{max}
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

dP/dt _{min}	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	100,40	93,05	95,75	102,11	90,99	104,00	85,63	117,47	111,40	100,09	10,06	3,35
30	108,48	87,54	90,98	95,63	88,36	99,21	64,58	121,39	119,98	97,35	17,72	5,91
45	107,55	85,09	87,44	90,35	83,40	101,14	49,39	125,24	128,52	95,35	24,04	8,01
60	101,20	76,10	85,05	80,35	78,93	95,50	39,20	127,96	130,63	90,55	27,97	9,32
75	95,72	66,91	78,99	75,49	80,66	100,29	33,14	133,81	137,02	89,12	32,49	10,83
90	88,58	62,08	71,65	72,89	85,97	102,07	30,60	135,42	143,60	88,09	35,36	11,79
105	81,36	59,19	54,66	68,39	80,36	101,43	25,25	133,49	151,82	84,00	39,60	13,20
120	45,95	53,84	54,66	66,41	76,06	96,64	25,25	137,66	159,54	79,56	44,17	14,72

Tabelle 8: Messwerte Givinostat 100 nM dP/dt_{min}
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Trise	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	107,04	99,44	97,12	97,96	107,70	138,10	96,15	95,33	95,38	103,80	13,70	4,57
30	107,87	99,89	98,17	99,96	105,17	131,22	90,45	93,75	96,80	102,59	11,97	3,99
45	115,02	99,22	98,26	105,52	104,12	129,68	82,60	95,56	94,61	102,73	13,43	4,48
60	118,37	99,19	101,91	112,90	109,50	126,00	76,20	93,44	93,84	103,48	15,05	5,02
75	118,99	101,06	101,72	122,10	129,67	132,19	69,15	96,61	94,55	107,34	20,24	6,75
90	117,61	101,88	105,00	130,52	171,65	130,40	65,04	96,47	97,16	112,86	29,76	9,92
105	114,62	101,06	139,29	138,53	143,59	135,16	65,04	93,37	96,69	114,15	27,05	9,02
120	117,77	108,83	139,29	127,64	187,18	134,29	46,46	94,13	100,04	117,29	38,22	12,74

Tabelle 9: Messwerte Givinostat 100 nM Trise
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

RT 50%	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	107,13	100,29	95,86	101,38	105,83	86,78	97,24	105,33	102,60	100,27	6,33	2,11
30	99,24	99,08	92,79	100,02	105,16	83,06	93,28	106,82	104,33	98,20	7,48	2,49
45	103,48	98,79	91,00	93,35	106,12	86,37	88,37	108,33	104,33	97,79	8,23	2,74
60	106,77	98,30	88,52	92,99	108,32	90,13	82,58	110,05	104,16	97,98	9,88	3,29
75	111,44	100,76	88,94	92,44	108,70	86,65	75,83	112,56	108,75	98,45	13,05	4,35
90	119,79	98,70	89,37	89,51	98,37	90,36	70,82	116,29	106,66	97,76	15,12	5,04
105	126,76	97,34	92,95	88,98	105,74	93,64	64,92	118,88	108,13	99,70	18,10	6,03
120	129,92	95,16	92,95	84,46	101,72	100,07	76,58	119,89	107,59	100,93	16,61	5,54

Tabelle 10: Messwerte Givinostat 100 nM RT 50%
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Tau	111120 CH8	181220CH7	110121CH8	120121CH8	150121CH6	200121CH8	250121CH5	270121CH6	010221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	67,65	100,10	96,18	102,86	106,02	69,43	101,48	104,11	119,11	96,33	16,97	5,66
30	68,73	100,23	95,80	101,16	109,14	73,27	104,97	104,72	100,18	95,36	14,35	4,78
45	71,38	99,41	97,94	98,86	108,78	72,89	114,28	106,42	106,35	97,37	15,25	5,08
60	74,24	99,06	99,99	95,43	111,85	76,24	124,95	103,77	101,75	98,59	15,86	5,29
75	76,14	99,63	102,19	94,47	112,43	76,03	149,89	106,33	111,23	103,15	22,08	7,36
90	79,07	99,80	104,36	94,51	109,28	77,72	166,65	106,14	103,68	104,58	25,92	8,64
105	83,00	99,93	118,21	92,35	113,99	80,39	170,02	108,06	91,63	106,40	27,22	9,07
120	95,79	101,16	118,21	90,95	94,11	85,67	170,30	109,88	90,69	106,31	26,08	8,69

Tabelle 11: Messwerte Givinostat 100 nM Tau
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

7.2 IRBM-D 100nM Messwerte

Diastolic Force	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	68,32	99,13	89,13	119,22	97,36	42,04	35,13	84,00	104,35	104,58	123,83	82,06	84,16	87,33	26,64	7,39
30	54,21	97,22	96,03	115,13	92,79	38,97	81,72	72,41	108,51	103,96	123,82	54,20	74,70	85,67	25,73	7,14
45	48,82	95,47	69,40	121,52	88,81	44,32	110,69	58,39	107,37	86,85	134,76	79,20	38,72	83,41	30,49	8,46
60	41,69	91,93	72,07	121,57	87,80	52,03	118,62	63,30	110,12	82,23	126,44	48,24	29,38	80,42	32,47	9,01
75	32,29	95,76	78,69	132,21	86,20	60,99	72,83	41,00	112,13	79,28	113,05	62,39	45,57	77,72	29,89	8,39
90	21,31	86,20	68,81	132,11	84,16	58,95	101,12	7,15	114,50	101,54	104,82	92,39	86,67	74,52	39,85	11,05
105	19,47	77,93	82,95	126,37	83,07	55,51	25,51	12,57	126,82	73,87	92,82	96,81	107,68	75,49	37,78	10,48
120	12,18	70,66	130,49	139,02	86,67	53,33	70,41	12,57	128,86	55,26	74,31	73,32	98,82	77,38	40,27	11,17

Tabelle 12: Messwerte IRBM-D 100 nM Diastolic Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Developed Force	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	91,20	96,95	98,81	113,17	97,58	77,57	100,17	101,09	102,89	104,20	84,06	98,42	106,28	97,88	9,29	2,58
30	99,41	95,34	98,81	124,85	94,02	75,47	96,82	95,95	102,06	104,28	65,17	114,16	129,44	99,67	17,34	4,81
45	101,86	93,10	97,48	121,47	90,29	74,32	87,09	88,78	100,99	103,14	51,54	107,81	124,78	95,59	19,03	5,28
60	108,63	92,38	95,94	125,15	85,77	73,24	80,34	81,14	95,88	102,62	45,02	117,84	118,65	94,05	21,78	6,04
75	110,66	100,72	98,74	123,82	78,71	71,38	74,86	77,40	92,91	102,11	42,81	122,64	120,76	93,66	23,88	6,62
90	113,28	98,39	96,36	124,23	72,76	69,51	66,20	72,67	90,19	101,72	41,20	124,26	118,93	91,52	25,67	7,12
105	110,32	96,42	96,36	123,21	71,55	67,77	60,72	61,36	86,64	101,51	39,89	122,70	121,54	89,23	27,11	7,52
120	106,09	93,73	95,66	124,64	70,81	66,27	55,29	61,36	83,84	102,01	39,25	121,64	122,32	87,92	27,70	7,68

Tabelle 13: Messwerte IRBM-D 100 nM Developed Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

TTP	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	95,60	103,96	103,96	116,09	99,45	120,48	99,20	98,07	99,66	98,69	95,13	99,13	111,92	103,31	8,04	2,23
30	96,37	109,53	108,38	115,78	99,45	123,96	97,77	99,97	99,24	99,47	90,25	99,52	138,81	106,04	13,33	3,70
45	96,18	114,16	112,43	124,68	102,62	124,75	98,17	101,51	99,97	99,82	83,71	97,40	145,21	107,74	16,18	4,49
60	96,08	117,90	115,10	126,26	104,51	126,14	97,66	102,38	98,93	101,82	80,51	101,16	153,96	109,42	18,51	5,13
75	95,60	100,00	115,10	132,48	106,87	126,44	96,71	105,05	100,41	103,57	79,54	104,24	161,66	109,82	20,58	5,71
90	95,60	95,90	114,64	134,06	110,25	127,73	98,73	106,29	98,93	103,89	77,24	106,84	171,72	110,91	23,28	6,46
105	94,70	94,84	116,30	164,90	110,28	127,83	97,42	113,13	99,89	104,95	75,49	107,23	174,33	113,95	27,79	7,71
120	92,73	93,23	130,11	168,31	112,71	130,72	100,68	113,13	97,25	107,27	76,11	108,00	180,46	116,21	29,87	8,28

Tabelle 14: Messwerte IRBM-D 100 nM Time to Peak
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Systolic Force	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	81,98	97,37	98,51	115,49	97,55	67,41	96,44	98,91	103,29	104,25	88,72	93,42	92,52	95,07	11,53	3,20
30	81,13	95,68	98,71	121,00	93,82	65,05	95,96	103,69	103,61	104,17	71,73	95,79	95,40	94,29	14,58	4,04
45	80,37	93,56	96,67	121,44	90,09	65,74	88,52	84,98	102,47	99,91	60,87	99,03	71,25	88,84	16,51	4,58
60	81,53	92,32	95,25	123,70	86,06	67,20	82,59	78,91	99,24	98,52	54,15	96,50	63,14	86,09	18,17	5,04
75	78,91	99,49	98,17	127,02	79,80	68,40	74,79	72,83	97,41	97,57	50,68	104,18	74,00	86,40	19,78	5,49
90	76,04	96,20	95,52	127,27	74,41	66,51	62,99	64,52	95,89	101,65	48,33	114,51	98,86	86,36	22,80	6,32
105	73,53	93,05	95,99	113,73	73,21	64,27	58,70	55,29	96,01	45,81	114,75	112,90	84,10	23,66	6,56	
120	68,04	89,54	96,74	121,88	73,13	62,60	56,18	55,29	94,30	92,80	43,17	106,85	107,69	82,17	24,06	6,67

Tabelle 15: Messwerte IRBM-D 100 nM Systolic Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

dP/dt _{max}	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	94,60	95,80	98,01	92,91	97,90	60,27	100,22	100,99	103,40	104,12	87,56	100,56	100,21	95,12	11,40	3,16
30	102,09	92,45	98,24	105,13	92,89	57,65	98,82	93,33	102,03	102,78	71,51	112,79	112,51	95,56	15,46	4,29
45	104,54	88,02	96,97	98,84	87,70	56,01	87,54	85,16	101,83	99,94	62,34	110,87	103,06	90,99	16,15	4,48
60	110,98	83,68	95,35	94,02	81,42	54,71	81,14	77,10	97,03	97,94	59,22	114,62	92,79	80,69	17,55	4,87
75	114,60	114,57	105,51	90,69	72,02	52,37	77,24	72,70	94,50	95,82	57,68	115,48	89,00	88,63	21,17	5,87
90	118,04	122,73	96,84	85,56	64,18	50,33	65,48	67,94	92,54	93,43	56,54	114,77	83,35	85,52	23,78	6,60
105	115,64	123,72	95,39	80,00	63,17	48,69	61,49	57,34	89,81	91,70	55,55	113,06	78,90	82,65	24,79	6,87
120	113,56	126,32	92,10	83,17	61,55	46,73	53,07	57,34	88,21	90,31	54,21	112,14	75,24	81,07	25,81	7,16

Tabelle 16: Messwerte IRBM-D 100 nM dP/dt_{max}
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

dP/dt _{min}	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	80,06	97,54	96,66	113,15	100,50	66,31	101,19	98,33	102,23	103,60	89,54	95,89	112,98	96,77	12,60	3,49
30	86,24	95,70	95,72	119,85	98,87	65,20	98,37	93,37	101,82	103,40	73,08	111,80	137,83	98,56	18,62	5,17
45	86,80	92,86	92,81	116,50	98,87	64,37	89,23	87,90	100,74	102,12	60,96	103,69	135,79	94,82	19,49	5,40
60	100,51	90,22	90,41	117,14	96,92	63,37	83,41	80,98	97,52	101,41	53,83	114,04	130,62	93,88	20,93	5,80
75	101,13	91,90	91,95	114,42	93,02	61,67	78,46	77,29	94,54	101,26	51,18	118,85	131,94	92,89	22,31	6,19
90	103,57	88,91	89,21	113,87	89,38	59,86	70,13	73,87	91,32	100,79	49,58	120,19	130,00	90,82	23,41	6,49
105																

Trise	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	95,71	101,13	100,34	114,03	100,27	109,64	100,14	99,14	99,42	98,35	93,72	98,73	117,81	102,19	7,13	1,98
30	96,91	102,34	100,67	116,89	99,12	115,53	98,80	102,72	99,24	98,35	91,40	100,10	161,74	106,45	18,03	5,00
45	96,19	105,70	101,55	128,07	103,41	115,93	98,95	105,46	101,50	98,21	86,83	99,19	169,41	108,49	20,80	5,77
60	93,09	108,92	101,49	126,60	103,90	117,36	98,22	107,81	100,00	102,36	84,20	102,85	180,95	109,83	23,77	6,59
75	95,39	111,45	94,46	133,20	107,15	117,18	97,42	112,67	103,74	103,35	84,43	105,84	192,90	112,24	27,05	7,50
90	95,47	109,38	100,76	130,68	111,05	118,42	98,46	118,91	100,53	103,82	80,32	108,90	205,90	114,05	30,28	8,40
105	95,39	108,92	102,54	96,43	109,59	118,29	97,57	129,06	102,97	104,96	79,59	109,99	205,90	112,40	30,50	8,46
120	94,48	108,89	103,02	101,68	114,18	120,88	99,53	129,06	99,89	107,57	81,56	112,44	213,00	114,32	31,96	8,86

Tabelle 18: Messwerte IRBM-D 100 nM Trise
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

RT 50%	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	110,90	99,83	100,96	88,13	96,65	118,13	99,05	101,81	100,76	100,00	93,90	99,68	98,38	100,59	7,30	2,03
30	119,60	99,06	101,28	91,37	95,99	119,63	98,78	103,09	100,56	99,25	89,63	100,19	78,30	99,76	11,00	3,05
45	128,73	99,38	101,88	91,81	92,15	117,53	97,89	101,81	98,81	98,97	86,38	102,68	77,77	99,68	12,78	3,55
60	131,37	101,18	102,53	91,48	89,94	117,53	97,23	101,01	99,25	96,75	84,08	101,64	74,37	99,10	14,13	3,92
75	131,81	109,25	104,66	92,53	86,51	118,37	95,76	101,72	98,03	96,46	84,65	102,26	71,73	99,52	15,19	4,21
90	130,14	109,55	104,77	93,68	82,58	118,69	94,70	100,92	99,85	97,33	83,93	102,33	70,00	99,11	15,56	4,32
105	132,95	110,17	106,91	94,07	83,07	119,28	95,37	99,79	100,36	97,17	82,40	103,65	71,42	99,74	16,07	4,46
120	132,07	112,01	106,31	95,02	83,16	120,00	93,58	99,79	104,42	96,12	84,08	103,02	69,44	99,92	16,31	4,52

Tabelle 19: Messwerte IRBM-D 100 nM RT 50%
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Tau	091120 CH7	171220CH6	181220CH6	080121CH8	110121CH6	120121CH7	150121CH7	190121CH5	200121CH6	220121CH5	250121CH6	260121CH7	270121CH5	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	108,48	98,23	103,34	103,12	97,31	117,96	99,93	101,07	102,27	99,32	98,11	103,22	92,31	101,90	6,18	1,72
30	107,53	98,82	105,24	106,30	97,76	116,61	100,81	103,85	104,16	100,61	97,58	104,47	90,52	102,64	6,22	1,73
45	106,12	99,73	108,92	108,99	100,06	117,02	100,69	105,30	104,72	101,32	104,94	106,29	91,65	104,29	6,02	1,67
60	103,02	102,97	110,75	110,81	98,47	117,57	100,62	107,80	105,94	102,32	121,62	106,19	94,07	106,32	7,56	2,10
75	102,01	111,97	110,04	114,74	91,53	117,04	100,34	109,80	107,99	102,91	139,76	106,60	92,98	108,28	12,17	3,38
90	101,08	115,57	113,09	116,85	86,18	117,43	100,10	113,25	109,86	102,80	144,33	107,15	95,17	109,45	14,00	3,88
105	100,80	117,84	114,48	140,00	84,92	117,74	101,25	113,32	113,20	103,62	151,94	108,30	92,21	112,28	18,04	5,00
120	101,14	121,25	118,78	146,65	83,00	117,23	101,66	113,32	114,26	104,28	171,09	107,84	97,45	115,23	22,50	6,24

Tabelle 20: Messwerte IRBM-D 100 nM Tau
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

7.3 Rodin-A 2µM Messwerte

Diastolic Force	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	111,34	86,11	111,29	97,78	96,88	109,56	94,85	101,12	9,77	3,69
30	97,40	79,66	104,15	93,65	111,65	102,54	74,66	94,82	13,38	5,06
45	96,89	68,20	94,41	90,40	101,77	101,66	66,42	88,54	15,05	5,69
60	102,21	52,24	82,26	88,55	104,02	101,71	76,06	86,72	18,66	7,05
75	108,30	42,37	67,06	88,33	87,07	103,75	95,35	84,61	22,93	8,67
90	108,60	37,10	64,44	79,69	85,53	102,11	119,84	85,33	28,31	10,70
105	115,55	37,16	50,31	70,50	118,57	102,92	38,73	76,25	35,80	13,53
120	97,90	41,52	47,27	60,30	128,62	104,40	30,42	72,92	37,26	14,08

Tabelle 21: Messwerte Rodin-A 2 µM Diastolic Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Developed Force	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	89,89	107,24	115,38	101,27	100,42	111,16	144,41	109,97	17,29	6,54
30	89,28	104,94	129,20	98,94	81,76	123,69	152,85	111,52	25,00	9,45
45	87,51	93,95	139,38	95,66	68,84	126,08	159,01	110,06	32,11	12,14
60	90,09	84,13	143,28	92,91	57,55	124,55	169,89	108,91	38,74	14,64
75	87,80	77,04	143,52	87,99	48,85	123,33	184,68	107,60	45,90	17,35
90	87,51	67,19	143,40	86,49	45,56	130,53	197,75	108,35	52,06	19,68
105	86,03	60,37	136,54	77,47	38,58	135,97	209,12	106,30	58,17	21,99
120	84,62	60,06	136,06	72,55	39,35	130,81	223,21	106,67	62,43	23,60

Tabelle 22: Messwerte Rodin-A 2 µM Developed Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

TTP	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	107,44	100,96	97,74	98,62	116,47	96,05	104,56	103,12	7,10	2,69
30	108,53	103,04	103,15	98,00	122,87	94,79	102,48	104,70	9,11	3,44
45	111,61	104,54	103,15	99,27	123,85	95,89	105,06	106,19	9,20	3,48
60	118,45	106,86	101,21	99,73	130,73	97,23	106,75	108,71	11,94	4,51
75	117,66	108,82	101,70	100,05	136,03	98,82	108,33	110,20	13,12	4,96
90	120,24	114,41	101,46	101,46	148,75	99,16	109,82	113,61	17,31	6,54
105	123,21	119,89	99,03	102,32	158,80	99,33	108,53	115,87	21,24	8,03
120	125,79	119,89	99,03	102,62	167,61	101,51	109,13	117,94	24,06	9,09

Tabelle 23: Messwerte Rodin-A 2 µM Time to Peak
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Systolic Force	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	104,49	95,81	114,42	100,65	99,76	110,61	129,61	107,91	11,53	4,36
30	94,81	91,28	123,60	97,98	87,65	115,92	129,55	105,83	16,86	6,37
45	93,91	80,05	129,29	94,72	75,29	117,04	131,39	103,10	22,88	8,65
60	98,34	66,90	129,57	92,13	66,63	116,11	141,89	101,65	29,28	11,07
75	101,78	58,29	126,45	88,04	56,32	116,11	158,00	100,71	36,77	13,90
90	101,90	50,94	125,71	85,29	53,36	120,02	174,53	101,68	43,59	16,48
105	106,13	47,83	117,26	76,22	54,18	123,74	158,30	97,67	40,10	15,16
120	93,68	50,06	116,16	70,35	56,76	121,04	165,60	96,24	41,21	15,58

Tabelle 24: Messwerte Rodin-A 2 µM Systolic Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

dP/dt _{max}	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	92,37	104,94	103,97	100,96	92,32	117,33	135,91	106,83	15,40	5,82
30	83,97	101,52	122,24	97,78	72,06	131,25	145,17	107,72	26,27	9,93
45	78,31	92,08	145,07	93,67	60,89	130,19	148,60	106,97	34,32	12,97
60	72,17	83,27	167,31	90,36	50,38	125,38	155,87	106,39	44,01	16,63
75	68,52	76,58	177,47	85,86	43,15	116,78	166,22	104,94	50,77	19,19
90	64,53	67,69	193,81	83,26	37,02	124,56	175,22	106,58	59,59	22,52
105	67,62	57,47	217,89	75,99	31,37	129,26	187,97	109,65	70,69	26,72
120	64,49	59,46	241,78	72,05	29,27	116,28	200,42	111,97	79,73	30,13

Tabelle 25: Messwerte Rodin-A 2 µM dP/dt_{max}
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

dP/dt _{min}	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	94,84	108,87	118,49	101,53	101,41	110,16	138,14	110,49	14,37	5,43
30	93,89	106,03	132,08	99,79	84,53	118,85	147,10	111,75	22,17	8,38
45	89,82	94,94	141,21	97,12	71,03	119,12	152,38	109,37	29,35	11,09
60	93,23	84,91	145,67	95,38	59,38	115,25	159,89	107,67	35,21	13,31
75	91,91	78,72	144,25	90,83	50,41	111,31	170,55	105,43	40,66	15,37
90	87,44	68,07	144,15	89,96	47,96	115,23	180,85	104,81	45,72	17,28
105	86,00	61,30	138,06	80,87	40,52	117,83	192,85	102,49	51,55	19,48
120	84,25	61,18	129,58	75,81	42,19	110,78	203,45	101,03	53,80	20,34

Tabelle 26: Messwerte Rodin-A 2 µM dP/dt_{min}
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Trise	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	112,42	100,20	108,57	100,32	121,32	97,05	102,47	106,05	8,57	3,24
30	109,32	102,76	120,46	99,18	130,18	96,13	101,58	108,52	12,48	4,72
45	110,46	107,88	125,82	102,30	134,61	96,48	104,82	111,77	13,59	5,14
60	115,20	112,17	128,78	103,25	143,47	97,56	106,83	115,32	15,90	6,01
75	110,37	116,57	133,28	104,76	156,41	94,72	108,62	117,82	20,71	7,83
90	104,97	126,28	137,30	107,09	171,66	96,18	109,59	121,87	25,98	9,82
105	94,71	132,63	140,17	109,84	188,82	95,97	109,79	124,56	33,12	12,52
120	109,24	135,34	140,17	111,29	198,36	94,64	111,38	128,63	34,57	13,07

Tabelle 27: Messwerte Rodin-A 2 µM Trise
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

RT 50%	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	96,13	97,91	97,68	100,16	96,43	101,34	101,58	98,75	2,27	0,86
30	96,78	98,29	99,09	100,93	95,91	105,23	102,95	99,88	3,36	1,27
45	94,19	98,65	100,00	98,89	96,94	106,70	102,75	99,73	4,04	1,53
60	92,43	100,07	100,40	98,22	98,47	108,87	103,67	100,30	5,07	1,92
75	96,78	98,65	101,63	98,10	96,70	112,43	105,01	101,33	5,72	2,16
90	97,68	97,54	102,11	98,44	94,50	114,54	107,12	101,70	6,96	2,63
105	97,07	98,53	103,11	97,23	93,96	118,54	107,14	102,23	8,41	3,18
120	98,99	99,72	104,71	96,62	92,34	119,77	107,75	102,84	9,02	3,41

Tabelle 28: Messwerte Rodin-A 2 µM RT 50%
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Tau	141220CH8	151220CH7	080121CH6	120121CH6	150121CH5	260121CH6	270121CH7	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	104,81	98,86	101,82	98,84	104,30	106,26	102,59	102,50	2,88	1,09
30	106,57	100,88	109,51	100,21	109,17	109,70	104,48	105,79	4,04	1,53
45	105,25	102,31	109,48	101,21	116,76	111,31	104,79	107,30	5,52	2,09
60	107,59	103,07	107,61	100,21	125,77	111,08	105,84	108,74	8,28	3,13
75	107,28	103,70	109,22	101,69	137,13	111,12	107,13	111,04	11,93	4,51
90	109,09	104,91	109,63	100,16	143,97	115,42	107,66	112,98	14,44	5,46
105	113,29	105,64	110,58	101,53	163,62	115,42	106,22	116,62	21,27	8,04
120	113,20	110,96	111,71	102,96	177,05	114,66	107,54	119,73	25,58	9,67

Tabelle 29: Messwerte Rodin-A 2 µM Tau
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

7.4 DMSO 10µM (Kontrolle) Messwerte

Diastolic Force	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	201120CH8	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	97,32	87,18	105,65	100,00	94,02	105,44	94,13	96,56	97,54	6,17	2,18
30	90,93	84,89	114,23	108,17	81,61	86,04	91,30	88,83	93,25	11,64	4,12
45	104,09	85,72	112,79	96,18	85,32	100,56	93,86	59,93	92,31	15,97	5,65
60	96,65	87,68	118,23	97,63	76,82	78,24	86,55	73,17	89,37	14,68	5,19
75	93,42	89,06	119,45	103,06	83,35	36,12	91,44	72,78	86,08	24,42	8,63
90	99,35	86,12	120,97	102,83	72,33	27,52	64,67	100,63	84,30	29,12	10,30
105	99,90	86,81	116,13	110,54	59,19	28,56	73,36	69,03	80,44	29,09	10,28
120	93,18	80,44	113,51	105,88	53,54	24,00	71,14	56,43	74,77	29,80	10,54

Tabelle 30: Messwerte DMSO 10 µM Diastolic Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Developed Force	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	201120CH8	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	97,66	92,99	103,46	104,36	99,84	106,55	101,58	98,00	100,56	4,35	1,54
30	97,23	89,50	100,93	98,21	95,99	114,18	93,32	104,08	99,18	7,51	2,66
45	97,96	87,84	96,54	89,87	88,37	121,83	82,78	105,02	96,28	12,47	4,41
60	97,44	86,28	92,82	84,36	78,40	106,17	74,70	102,94	90,39	11,37	4,02
75	95,72	84,24	87,40	79,29	71,07	86,68	67,28	96,65	83,54	10,58	3,74
90	96,06	80,70	84,32	77,18	66,39	94,15	59,74	88,81	80,92	12,83	4,54
105	95,22	77,46	81,60	74,36	56,52	93,31	54,43	81,25	76,77	14,99	5,30
120	95,19	74,23	74,64	73,33	49,60	76,91	48,29	73,61	70,73	15,25	5,39

Tabelle 31: Messwerte DMSO 10 µM Developed Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

TTP	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	201120CH8	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	100,40	99,52	93,85	96,11	97,60	114,50	98,43	102,33	100,34	6,28	2,22
30	97,94	100,07	92,89	98,70	96,01	129,77	99,54	105,66	102,57	11,58	4,09
45	99,69	99,09	93,61	99,89	95,41	133,30	98,05	103,16	102,78	12,67	4,48
60	96,20	98,44	94,42	96,70	93,41	138,37	97,31	108,24	102,89	15,04	5,32
75	100,04	97,74	94,57	97,16	92,79	104,00	94,34	110,85	98,94	5,99	2,12
90	106,06	97,87	94,77	97,74	90,53	93,30	90,49	108,24	97,37	6,67	2,36
105	107,65	99,49	94,77	98,87	87,91	89,53	89,88	111,63	97,47	8,70	3,07
120	108,50	101,25	95,06	100,91	87,60	80,15	88,00	120,15	97,70	12,84	4,54

Tabelle 32: Messwerte DMSO 10 µM Time to Peak
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Systolic Force	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	201120CH8	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	97,52	91,96	103,77	108,05	98,20	106,17	100,22	97,62	100,44	5,28	1,87
30	94,75	88,68	102,77	102,76	91,94	104,79	92,97	100,06	97,34	6,00	2,12
45	100,38	87,47	98,78	93,86	87,51	114,73	84,80	93,14	95,08	9,67	3,42
60	97,13	86,53	96,33	88,70	77,95	96,84	76,85	95,09	89,43	8,39	2,97
75	94,82	85,12	91,83	84,28	74,53	69,81	71,67	90,37	82,80	9,65	3,41
90	97,35	81,71	89,39	82,25	68,06	71,93	60,65	91,93	80,41	12,65	4,47
105	97,06	79,16	86,37	80,10	57,27	71,71	57,88	78,03	75,95	13,52	4,78
120	94,40	75,37	80,01	78,75	50,71	59,24	52,46	69,09	70,00	15,11	5,34

Tabelle 33: Messwerte DMSO 10 µM Systolic Force
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

dP/dt _{max}	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	201120CH8	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	93,90	91,68	107,73	105,58	101,84	106,09	101,38	94,79	100,37	6,16	2,18
30	93,12	87,99	105,16	98,85	98,69	105,35	92,76	99,05	97,62	6,07	2,15
45	91,24	86,51	99,53	91,11	91,55	113,56	82,11	99,28	94,36	9,71	3,43
60	91,87	84,98	94,15	85,63	82,57	102,12	74,66	94,93	88,86	8,59	3,04
75	86,40	82,57	87,39	81,27	75,58	91,89	68,12	87,15	82,55	7,61	2,69
90	81,39	78,45	83,55	79,39	72,28	108,76	62,57	78,32	80,59	13,14	4,64
105	79,59	74,34	80,65	76,97	62,57	111,07	59,29	69,91	76,80	15,85	5,61
120	78,73	70,53	72,82	76,08	55,78	96,86	55,05	60,85	70,84	13,87	4,90

Tabelle 34: Messwerte DMSO 10 µM dP/dt_{max}
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

dP/dt _{min}	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	201120CH8	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	95,96	100,85	105,67	103,26	101,47	110,90	105,29	81,13	100,57	8,96	3,17
30	94,98	99,07	102,68	99,02	98,64	120,58	96,35	77,91	98,65	11,63	4,11
45	92,81	97,96	98,23	92,58	91,64	124,50	85,63	74,37	94,72	14,26	5,04
60	90,94	97,20	93,65	88,49	82,62	107,42	75,89	71,49	88,46	11,64	4,12
75	88,35	96,10	87,25	84,03	75,05	84,67	66,89	66,02	81,04	10,71	3,79
90	88,36	93,38	83,58	82,13	68,83	82,68	57,99	58,69	76,96	13,43	4,75
105	86,39	91,69	80,99	79,11	61,27	77,95	52,78	51,43	72,70	15,42	5,45
120	85,26	89,74	73,28	78,05	54,39	58,86	48,10	48,63	67,04	16,61	5,87

Tabelle 35: Messwerte DMSO 10 µM dP/dt_{min}
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Trise	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	98,46	98,81	92,92	93,61	97,09	98,19	108,18	98,18	5,00	1,89
30	96,41	99,34	91,85	96,32	96,06	101,57	111,09	98,95	6,14	2,32
45	96,76	97,80	92,51	100,57	94,87	100,22	107,57	98,61	4,87	1,84
60	92,08	96,99	92,73	97,61	93,11	100,22	112,17	97,84	6,99	2,64
75	95,05	96,12	93,67	98,30	92,23	96,15	111,29	97,55	6,36	2,41
90	101,88	96,12	93,33	99,02	89,69	93,58	110,65	97,75	6,95	2,63
105	103,76	98,85	94,55	100,73	87,38	94,80	109,09	98,45	7,05	2,66
120	102,44	100,70	95,05	103,41	87,38	93,77	119,74	100,36	10,24	3,87

Tabelle 36: Messwerte DMSO 10 µM Trise
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

RT 50%	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	201120CH8	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	99,63	93,62	102,30	102,69	97,72	110,16	99,42	113,00	102,32	6,42	2,27
30	100,32	91,57	102,71	101,47	96,49	98,05	97,12	125,00	101,59	10,07	3,56
45	102,22	91,15	100,50	97,53	94,82	108,09	97,89	132,72	103,11	12,98	4,59
60	103,97	89,96	99,67	97,73	92,86	110,98	99,42	136,36	103,87	14,62	5,17
75	103,70	89,36	98,25	98,17	92,59	155,17	101,71	139,16	109,76	23,92	8,46
90	105,19	87,66	98,10	99,32	93,96	141,76	104,28	141,82	109,01	20,98	7,42
105	107,27	86,21	97,05	99,20	90,91	140,28	103,24	150,90	109,38	23,46	8,30
120	108,89	84,70	96,09	98,49	89,90	146,55	101,77	154,16	110,07	25,98	9,19

Tabelle 37: Messwerte DMSO 10 µM RT 50%
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM

Tau	171220CH5	110121CH5	190121CH6	220121CH6	250121CH7	201120CH8	111220CH5	150221CH6	Mittelwert	Stabw	SEM
BL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
15	100,95	94,27	100,37	96,59	100,46	105,46	103,12	107,07	101,04	4,25	1,50
30	100,71	93,03	102,44	97,03	97,78	106,22	104,51	103,70	100,68	4,44	1,57
45	104,18	94,36	103,43	96,70	99,03	106,60	103,73	103,34	101,42	4,23	1,50
60	105,30	95,00	104,80	97,43	99,02	109,22	105,97	104,47	102,65	4,90	1,73
75	108,31	95,41	106,50	97,41	99,92	120,02	107,86	104,53	104,99	7,77	2,75
90	109,70	94,98	107,40	97,23	99,80	134,10	111,59	108,66	107,93	12,25	4,33
105	111,51	94,21	108,49	97,83	100,69	135,24	117,69	110,10	109,47	13,00	4,60
120	113,98	93,32	111,30	97,98	100,41	151,50	120,10	113,07	112,71	18,15	6,42

Tabelle 38: Messwerte DMSO 10 µM Tau
Messwerte der einzelnen Streifen zu den jeweiligen Zeitpunkten in Prozent und Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung des SEM