

3. Ergebnisse

Das folgende Kapitel präsentiert die Ergebnisse der vorliegenden Studie, welche anhand der beschriebenen Testverfahren statistisch abgesichert wurden.

Es werden die Werte der basalen systolischen und diastolischen Hämodynamik betrachtet, gefolgt von der systolischen und diastolischen Hämodynamik während der pharmakologischen Belastung. In den jeweiligen Tabellen werden die Mittelwerte und der S.E.M der Gruppen TnT-WT, TnT-WT-Diltiazem, TNT-I79N und TNT-I79N-Diltiazem präsentiert sowie das aus dem Post-HOC-Test resultierende Signifikanzniveau zwischen den Gruppen TnT-I79N vs. TnT-WT, TnT-I79N-Diltiazem vs. TnT-I79N und TnT-I79N Diltiazem vs. TnT-WT-Diltiazem dargestellt.

3.1. Systolische Funktion während basaler Messungen

3.1.1. Herzfrequenz (HF)

Die Herzfrequenz unterschied sich nicht signifikant zwischen den Tiergruppen. Diltiazem bewirkte in der gewählten Dosierung nur einen geringen, aber nicht signifikanten Abfall der Herzfrequenz.

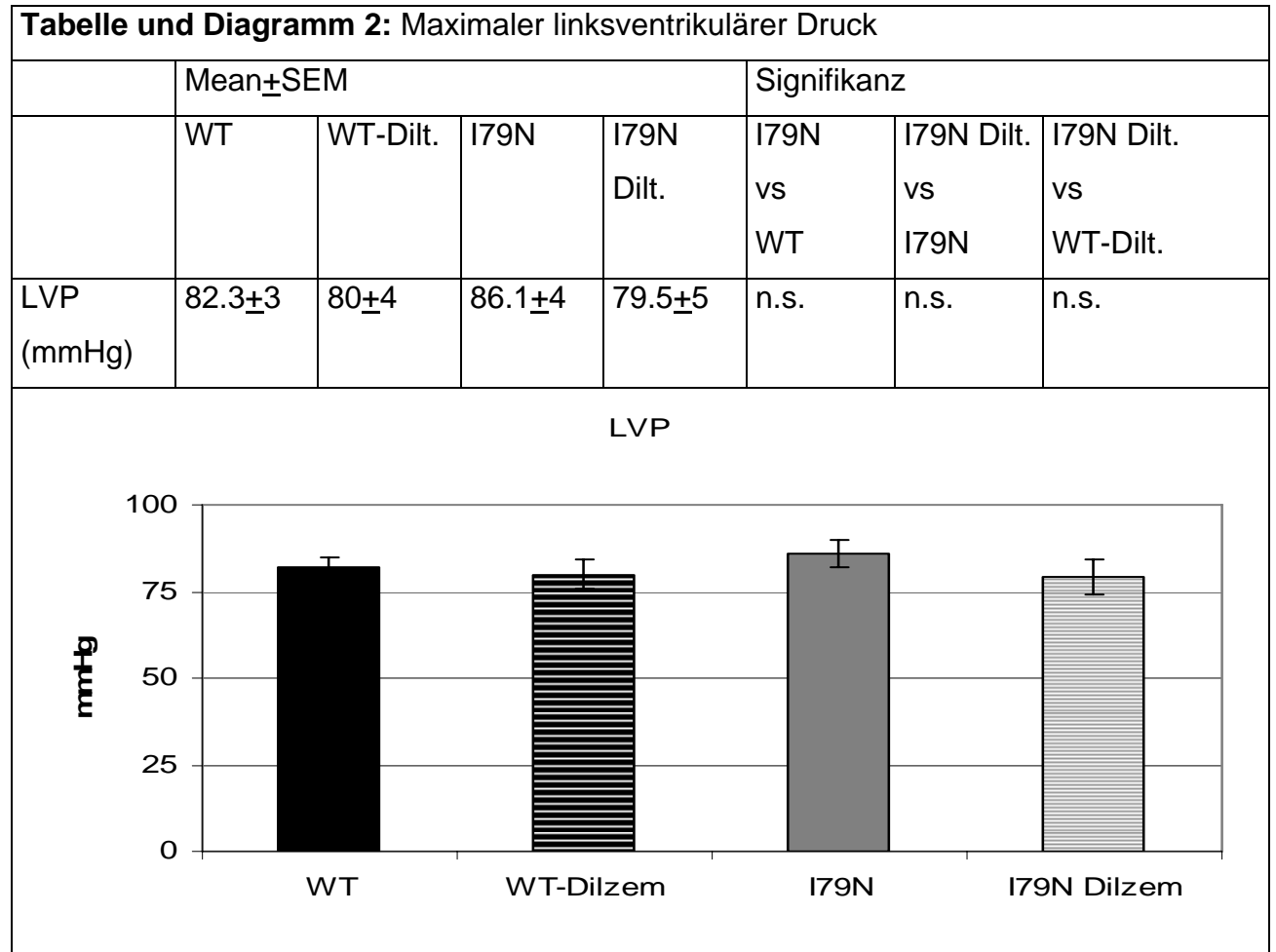
Tabelle und Diagramm 1: Herzfrequenz unter basalen Bedingungen							
	Mean \pm SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT-Dilt.
HF (bpm)	465 \pm 13	428 \pm 34	463 \pm 36	424 \pm 24	n.s.	n.s.	n.s.

Herzfrequenz

Group	Mean HF (bpm)	SEM
WT	465	13
WT-Diltzem	428	34
I79N	463	36
I79N Diltzem	424	24

3.1.2. Linksventrikulärer Druck (LVP)

Auch der linksventrikuläre Druck unterschied sich zwischen den Gruppen nicht signifikant.

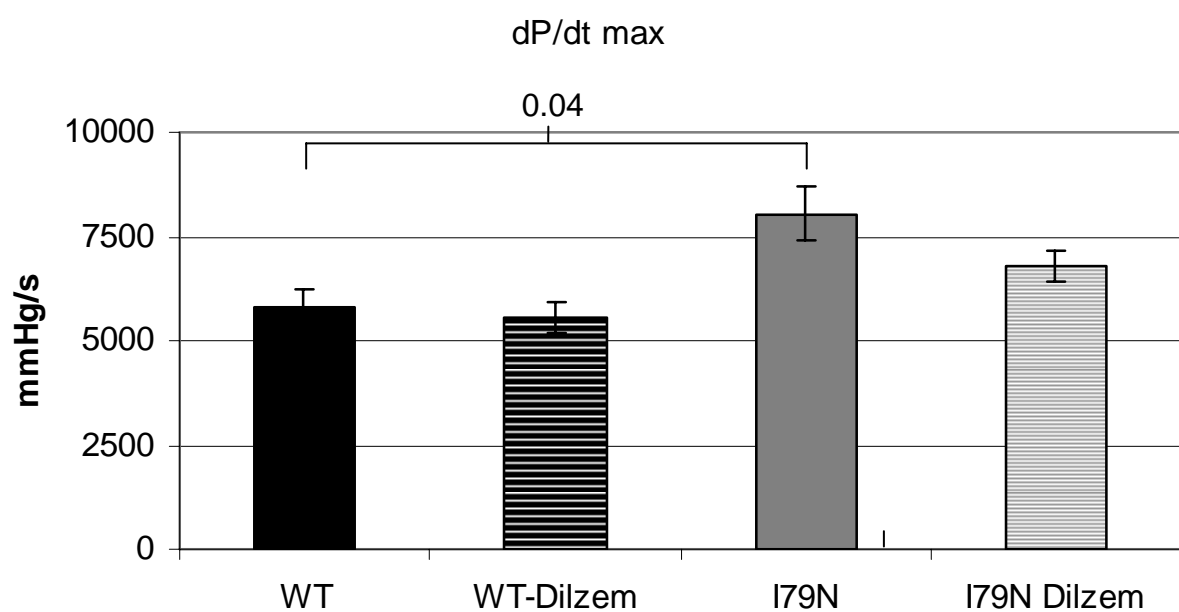


3.1.3. Maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max)

Die linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit ist ein Maß für die Kontraktilität während des Druckanstiegs in der Systole. Die TnT-I79N Tiere hatten eine gegenüber den TnT-WT Tieren eine um 39% erhöhte Druckanstiegsgeschwindigkeit. Durch die Behandlung mit Diltiazem wurde dieser signifikante Anstieg auf ein nicht signifikantes Niveau gesenkt, so dass es statistisch keinen Unterschied zwischen TnT-I79N Diltiazem und TnT-WT-Diltiazem gab.

Tabelle und Diagramm 3: Maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max)

	Mean±SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
dP/dt max (mmHg/s)	5781±45 6	5573±36 5	8054±62 3	6787±38 6	0.04	n.s.	n.s.

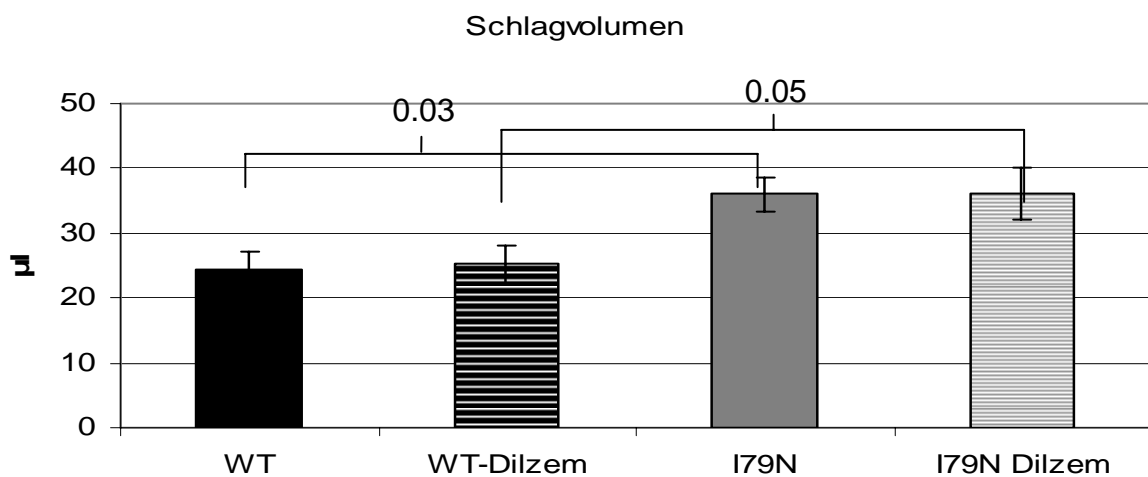


3.1.4. Schlagvolumen (SV)

Auch das Schlagvolumen war bei den TNT-I79N-Tieren gegenüber den TNT-WT um 46% signifikant erhöht. Die Behandlung mit Diltiazem veränderte an dieser Erhöhung nichts, so dass auch die TNT-I79N Diltiazem sich von den TNT-WT-Diltiazem-Tieren signifikant um 44% unterschieden.

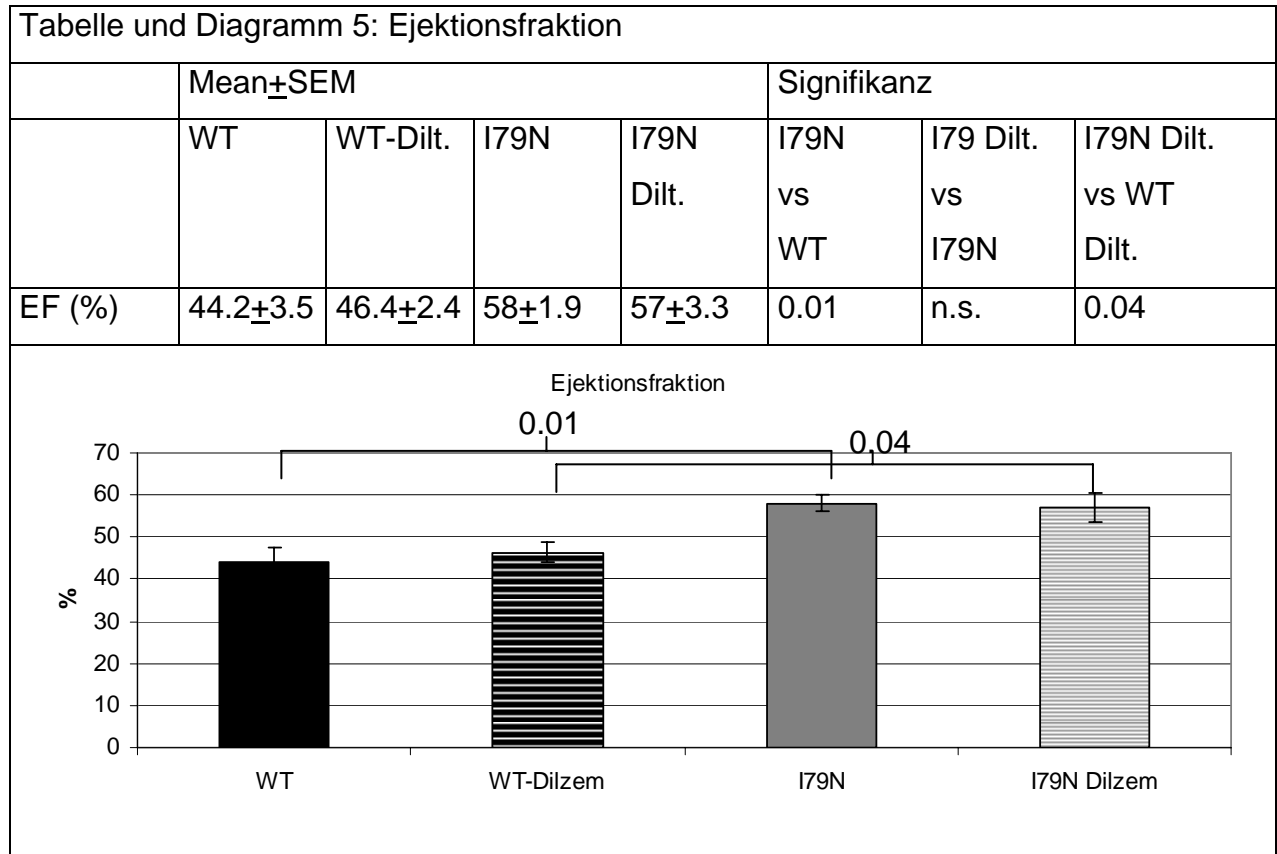
Tabelle und Diagramm 4: Schlagvolumen

	Mean \pm SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
SV (μ l)	24.5 \pm 2.8	25.2 \pm 3	36 \pm 2.7	36 \pm 4	0.03	n.s.	0.05



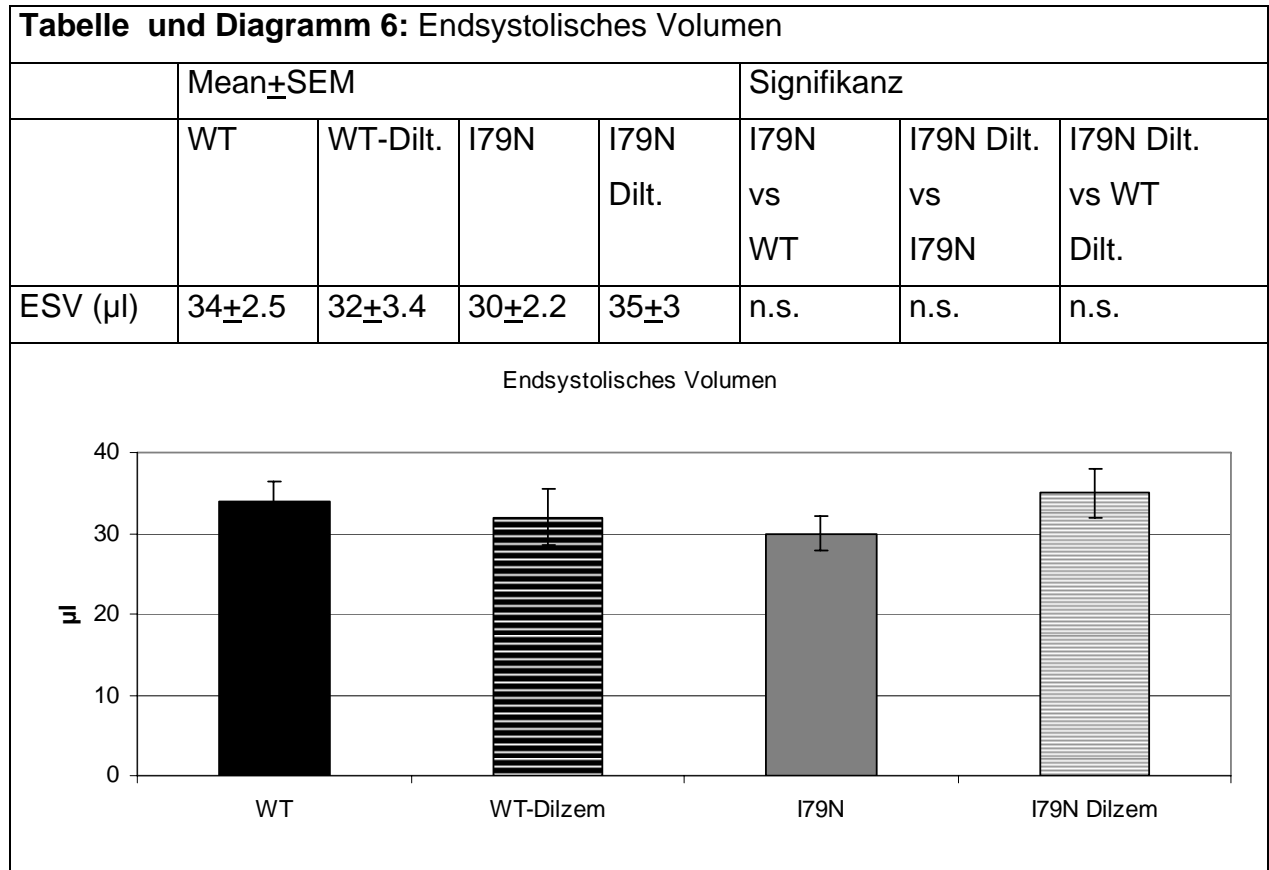
3.1.5. Ejektionsfraktion (EF)

Die Ejektionsfraktion ist bedingt durch das veränderte Schlagvolumen ähnlich verändert. Die TNT-I79N und die TNT-I79N Diltiazem haben eine signifikant erhöhte Ejektionsfraktion gegenüber den TNT-WT (31%) und TNT-WT-Diltiazem (26%).



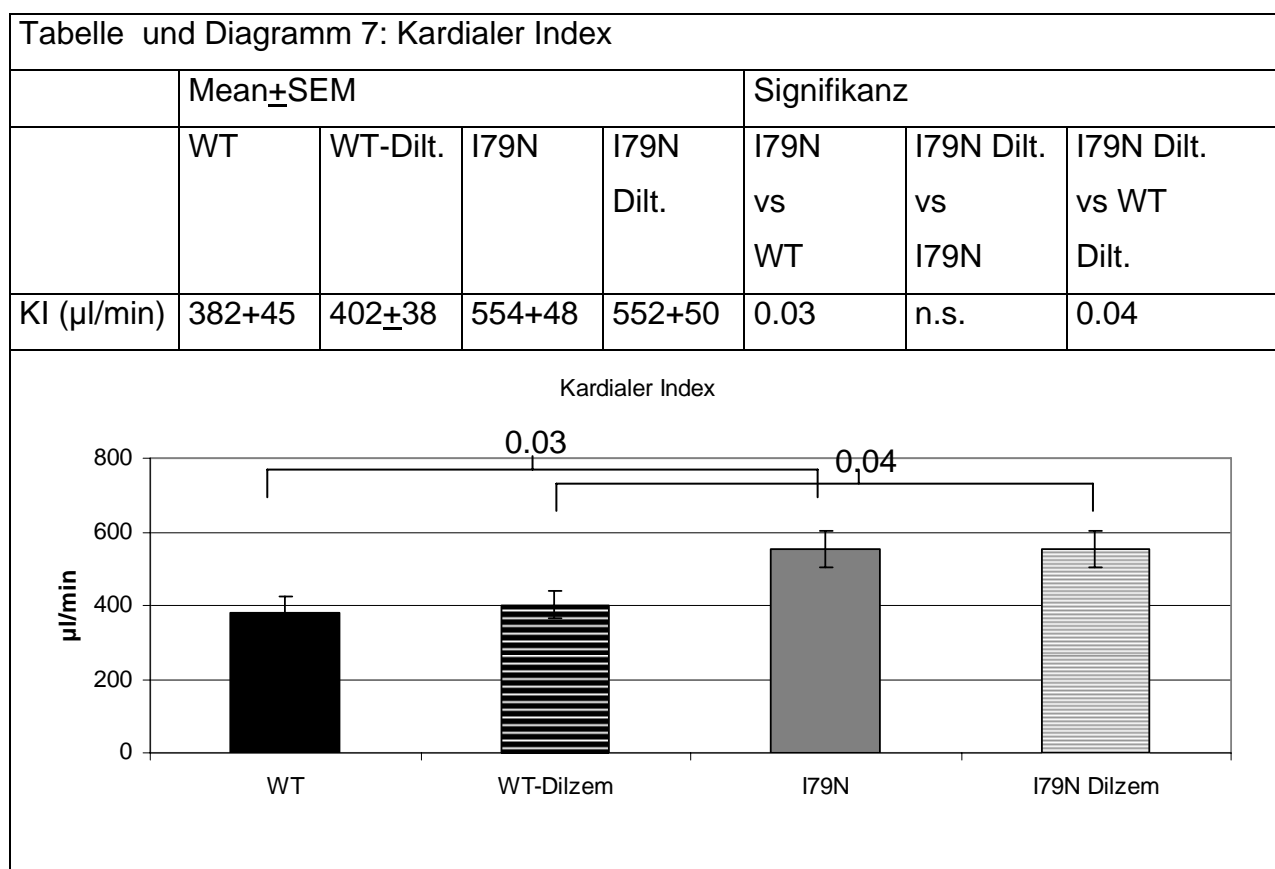
3.1.6. Endsystolisches Volumen (ESV)

In den einzelnen Gruppen unterschied sich das endsystolische Volumen nicht signifikant. Wir haben gesehen, dass trotz veränderten Schlagvolumens und veränderter Ejektionsfraktion keine Dilatation oder Verkleinerung des Ventrikels zu beobachten ist.



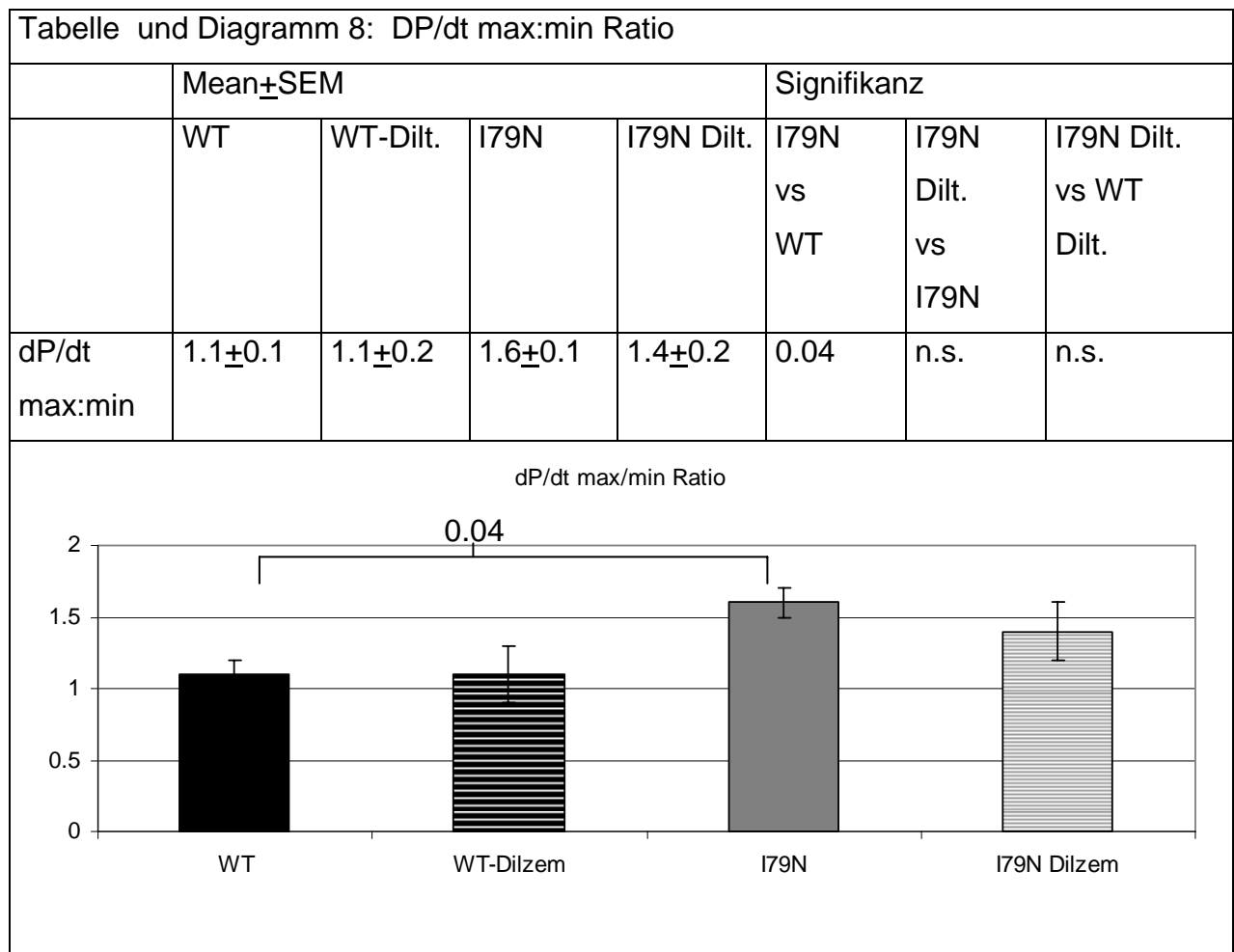
3.1.7. Kardiale Index (KI)

Der kardiale Index als Ergebnis von Schlagvolumen multipliziert mit der Herzfrequenz bezogen auf das Körpergewicht ist ein wichtiger Parameter der systolischen Funktion. Durch die Unterschiede im Schlagvolumen ergibt sich also folgerichtig auch hier ein Unterschied. Sowohl TNT-I79N als auch TNT-I79N Diltiazem hatten einen signifikant erhöhten kardialen Index mit 45% und 37% verglichen mit den TNT-WT und den TNT-WT-Diltiazem.



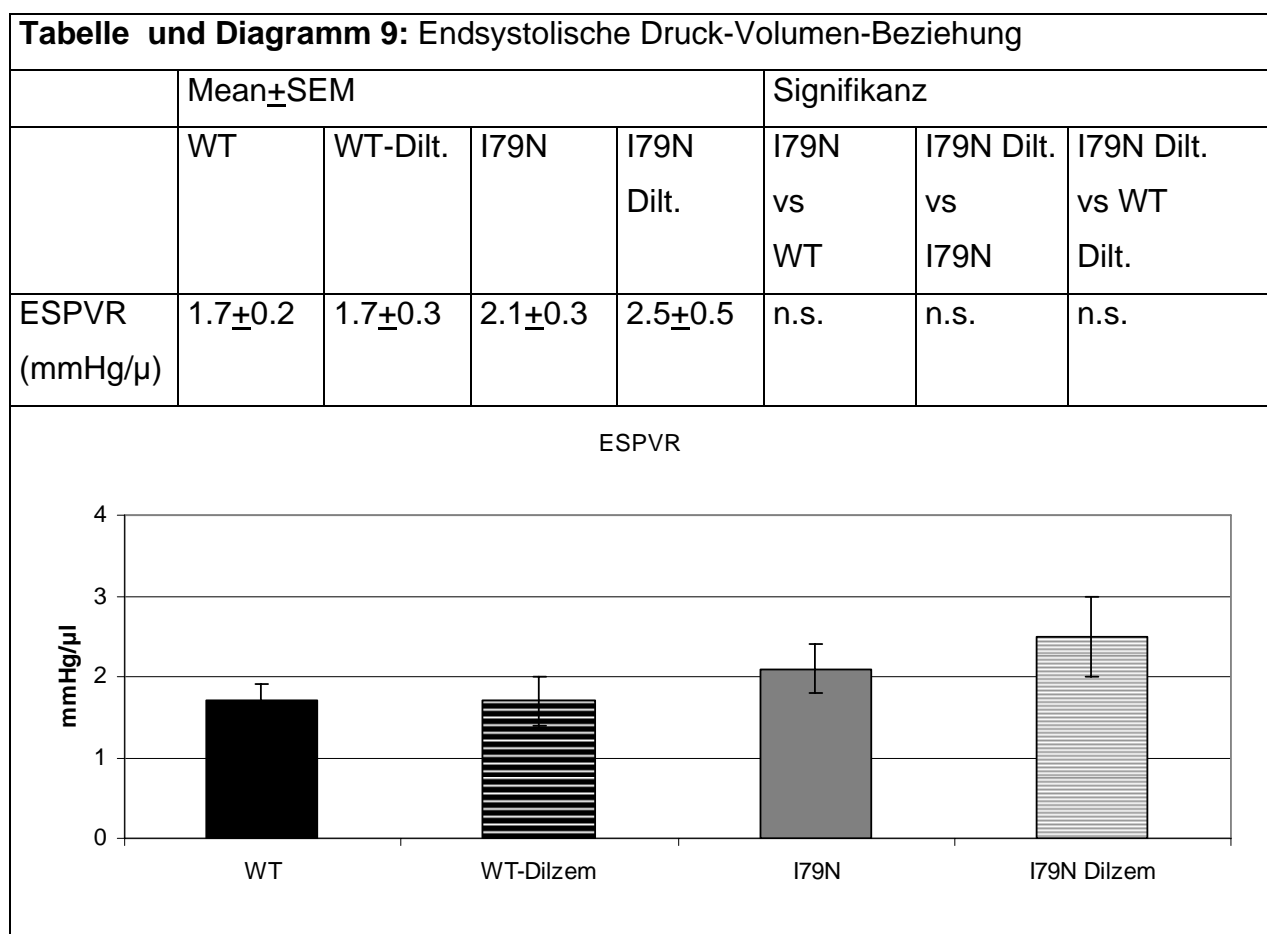
3.1.8. DP/dt max:min Ratio

Der dP/dt max Ratio wird durch den Quotient der Druckerhöhungsgeschwindigkeit zur Druckabfallgeschwindigkeit beschrieben. Er beschreibt das Verhältnis der Systole zur Diastole. Die TNT-I79N-Tiere haben im Vergleich zu den TNT-WT einen um 40% erhöhten Ratio. Durch die Behandlung mit Diltiazem wird dieser erhöhte Ratio verringert, so dass sich die Diltiazem behandelten TNT-I79N von den nicht behandelten TNT-I79N um 18% unterscheiden.



3.1.9. Endsystolische Druck Volumen Beziehung (ESPVR)

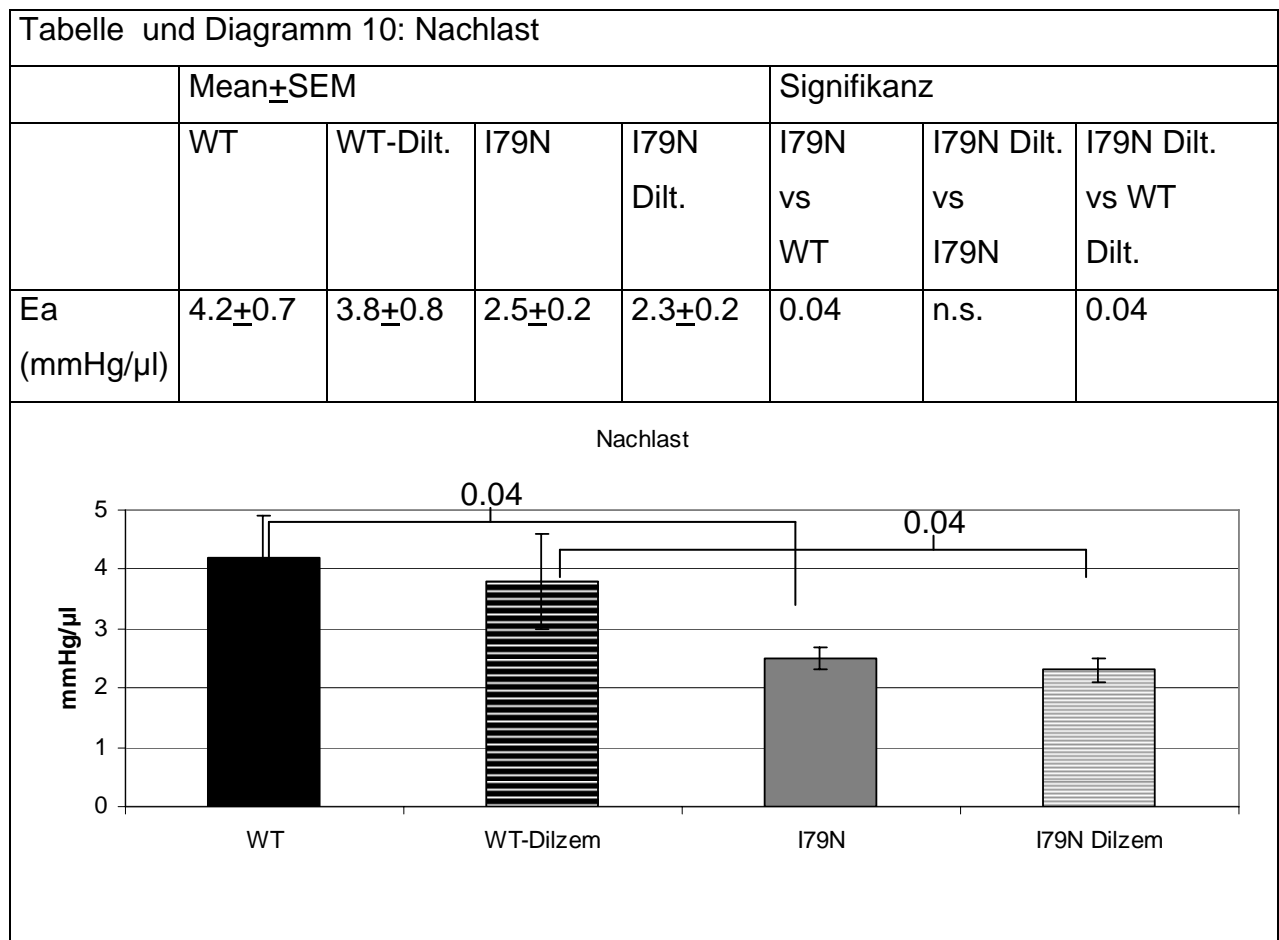
Als weiteres Maß für die Kontraktilität gilt der vorlastunabhängige Parameter der endsystolischen Druck-Volumen-Beziehung (Endsystolic pressure volume relationship, ESPVR). Trotz einer leicht erhöhten ESPVR bei den TNT-I79N erreicht das Signifikanzniveau nicht die geforderten 0.05, so dass kein Unterschied zwischen den Gruppen besteht.



3.1.10.

3.1.11. Nachlast (Ea)

Die Nachlast war sowohl bei den TNT-I79N als auch bei den Diltiazem TNT-I79N im Vergleich zu den TNT-WT- und TNT-WT-Diltiazem-Tieren signifikant gesenkt. Dabei unterschieden sich die TNT-I79N-Tiere von den TNT-Wt um 50% und die TNT-I79N-Diltiazem von den TNT-WT-Diltiazem um 60%.



3.2. Diastolische Funktion während der basalen Messungen

3.2.1. Linksventrikulär enddiastolischer Druck

Der linksventrikulär enddiastolische Druck ist einer der konventionellen Parameter zur Beschreibung der diastolischen Funktion. Er ist allerdings vor- und nachlastabhängig. Der linksventrikulär enddiastolische Druck unterscheidet sich von Gruppe zu Gruppe unter basalen Bedingungen nicht signifikant.

Tabelle und Diagramm 11: Linksventrikulärer enddiastolische Druck							
	Mean±SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
LVEDP (mmHg)	6.5±0.7	5.9±1.1	8.6±1.1	5.3±1.3	n.s.	n.s.	n.s.

LVEDP

Group	Mean LVEDP (mmHg)	SEM (mmHg)
WT	6.5	0.7
WT-Dilt.	5.9	1.1
I79N	8.6	1.1
I79N Dilt.	5.3	1.3

3.2.2. Minimale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt min)

Die linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit ist ein Maß für die Relaxation während des Druckabfalls in der Diastole und gilt auch als konventioneller Parameter der diastolischen Funktion. In keiner der Gruppen wurden in dieser Studie signifikante Unterschiede gefunden.

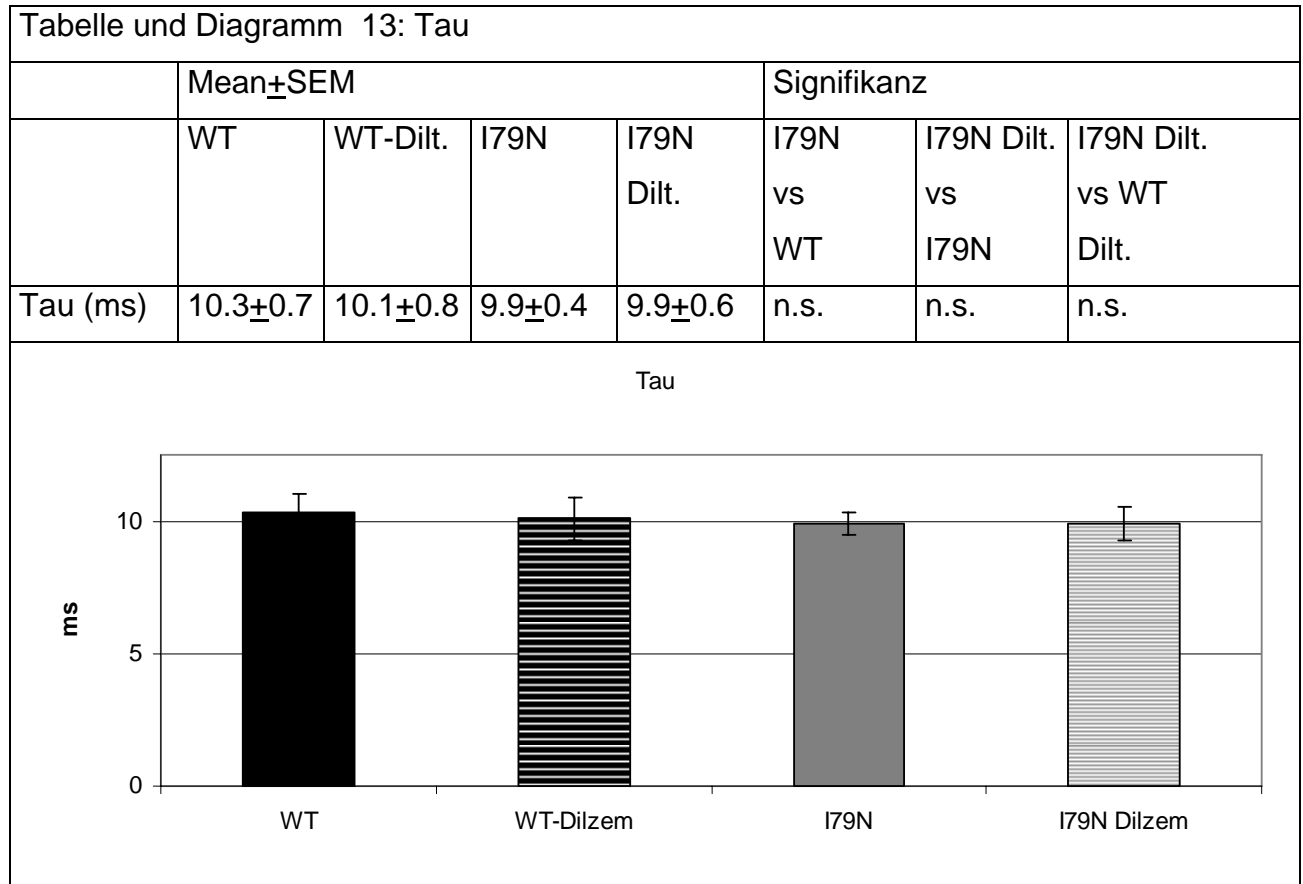
Tabelle und Diagramm 12: minimale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit							
	Mean±SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
dP/dt min (mmHg/s)	- 5517±40 2	- 5376±36 4	- 5755±39 5	- 5240±42 0	n.s.	n.s.	n.s.

dP/dt min

Group	Mean (mmHg/s)	SEM (mmHg/s)
WT	-5517	±40
WT-Dilt.	-5376	±36
I79N	-5755	±39
I79N Dilt.	-5240	±42

3.2.3. Tau

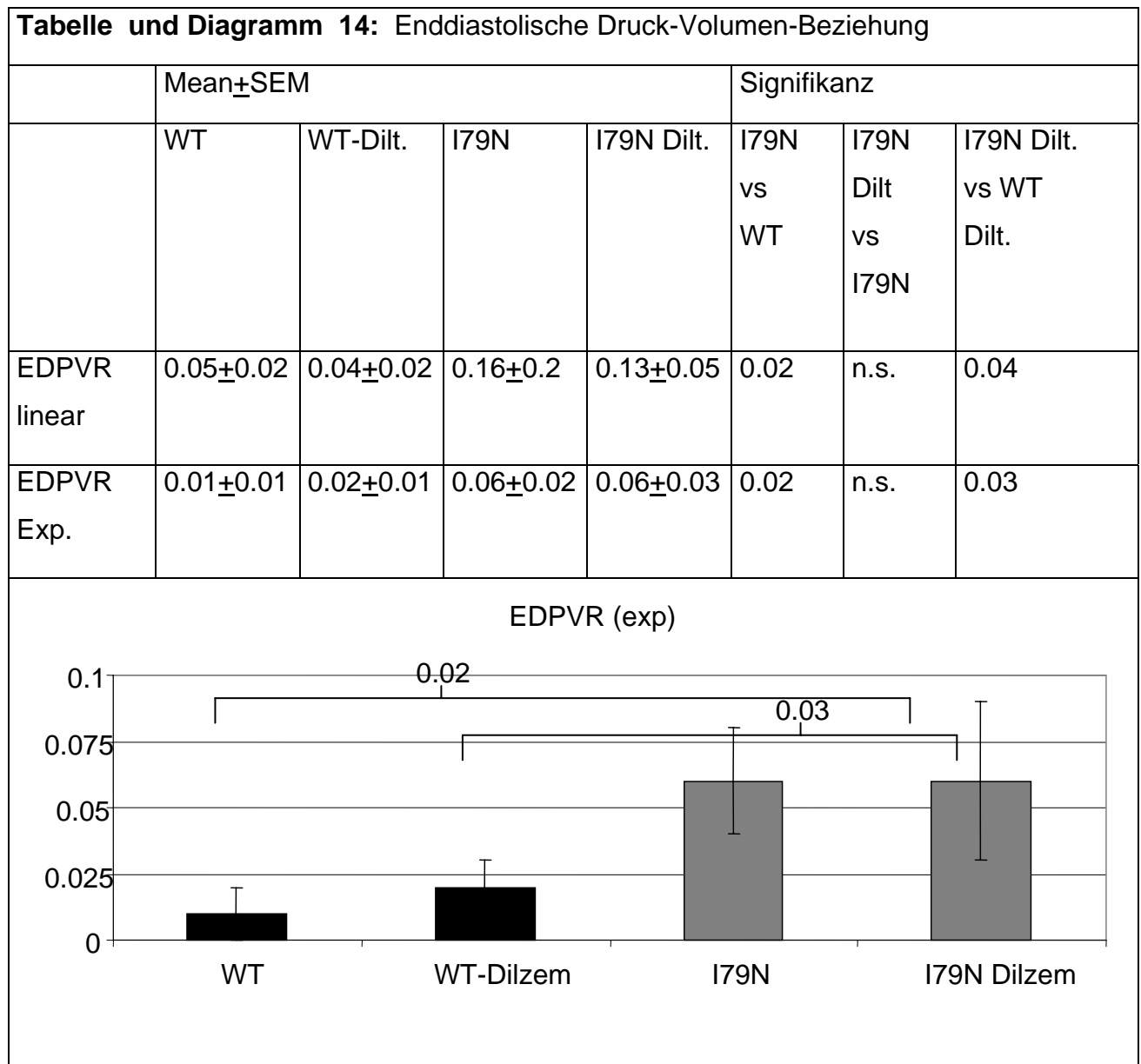
Tau ist ein Parameter, der die frühe Relaxation widerspiegelt. Auch in diesem Parameter gibt es keinen Unterschied zwischen den Gruppen.



3.2.4. Enddiastolische Druck-Volumen-Beziehung

Die enddiastolische Druck-Volumen-Beziehung (*enddiastolic-pressure-volume-relationship EDPVR*) ist ein vorlastunabhängiger Parameter und stellt daher besonders genau die diastolische Funktion dar. Genauer wird durch sie die intrinsische Steifigkeit des linken Ventrikels gemessen. Es gibt verschiedene Möglichkeiten zur Berechnung dieser Beziehung. Eine lineare und eine mono- exponentiale Berechnung sind möglich, wobei die exponentiale Berechnung gerade im Mausmodell die bessere Annäherung zeigt. Dennoch wurden in dieser Studie beide Berechnungen ausgewertet, da in vielen älteren Studien aus technischen Gründen nur der lineare Parameter angegeben wurde.

In den TNT-I79N-Tieren fand sich im Vergleich zu den TNT-WT eine erhöhte Steifigkeit des linken Ventrikels während der Diastole. Diese erhöhte Steifigkeit veränderte sich auch nach der Behandlung mit Diltiazem nicht, so dass auch die TNT-I79N Diltiazem im Vergleich zu den TNT-WT eine erhöhte Steifigkeit aufwiesen. Dabei machte es in dieser Studie keinen Unterschied, ob die lineare oder die exponentielle Berechnung angewandt wurde.



3.3. Zusammenfassung der Hämodynamik unter basalen Bedingungen

Die systolische Funktion unterscheidet sich zwischen den TNT-I79N und den TNT-WT im Schlagvolumen, der Druckanstiegsgeschwindigkeit, der Ejektionsfraktion und dem kardialen Index. Andere Parameter wie die Herzfrequenz, der linksventrikuläre Druck und das endsystolische Volumen unterschieden sich nicht.

Die diastolische Funktion zeigte in den konventionellen Parametern wie dem enddiastolischen Druck, der minimalen Druckabfallsgeschwindigkeit und Tau keine Unterschiede. Allerdings zeigten sich Unterschiede bei den vorlastunabhängigen EDPVR zwischen TNT-I79N und TNT-WT.

Durch die Behandlung mit Diltiazem konnte der Quotient dP/dt max:min im Vergleich mit den TNT-WT-Diltiazem normalisiert werden. Auf alle anderen Parameter hatte Diltiazem unter basalen Bedingungen keinen Einfluss.

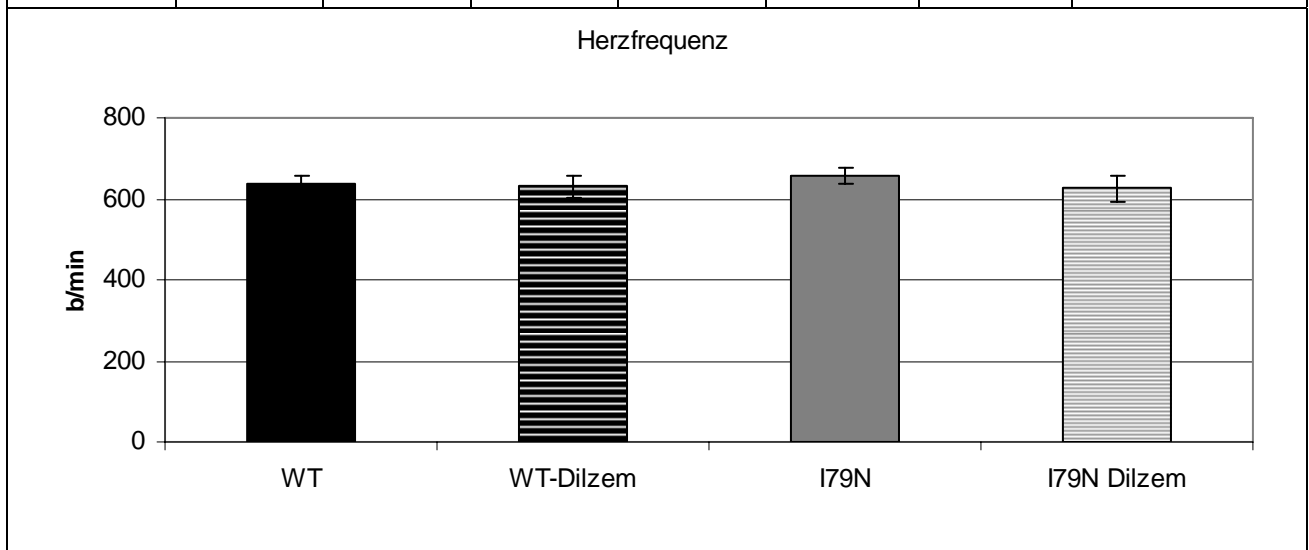
3.4. Systolische Funktion während pharmakologischer Belastung

3.4.1. Herzfrequenz während pharmakologischer Belastung

Die Herzfrequenz unterschied sich nicht signifikant zwischen den Tiergruppen. In allen Gruppen stieg die Herzfrequenz adäquat und gleichmäßig an. Sie stieg um ~50% im Vergleich zu basalen Bedingungen an.

Tabelle und Diagramm 15: Herzfrequenz während pharmakologischer Belastung

	Mean±SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
HF (b/min)	637±21	630±26	658±21	625±30	n.s.	n.s.	n.s.



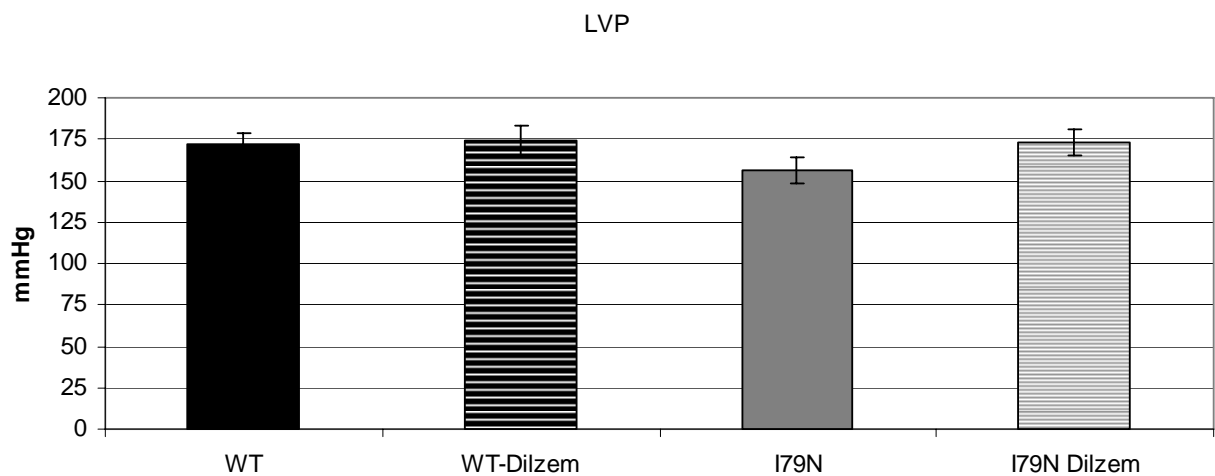
3.4.2.

3.4.3. Linksventrikulärer Druck während pharmakologischer Belastung

Auch der linksventrikuläre Druck unterschied sich zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der hämodynamischen Messung während der pharmakologischen Belastung nicht signifikant. Er stieg um ~80% im Vergleich zu basalen Bedingungen an.

Tabelle und Diagramm 16: maximaler linksventrikulärer Druck während pharmakologischer Belastung

	Mean±SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT
LVP (mmHg)	172.2±7	174±9	156±8	173±8	n.s.	n.s.	n.s.



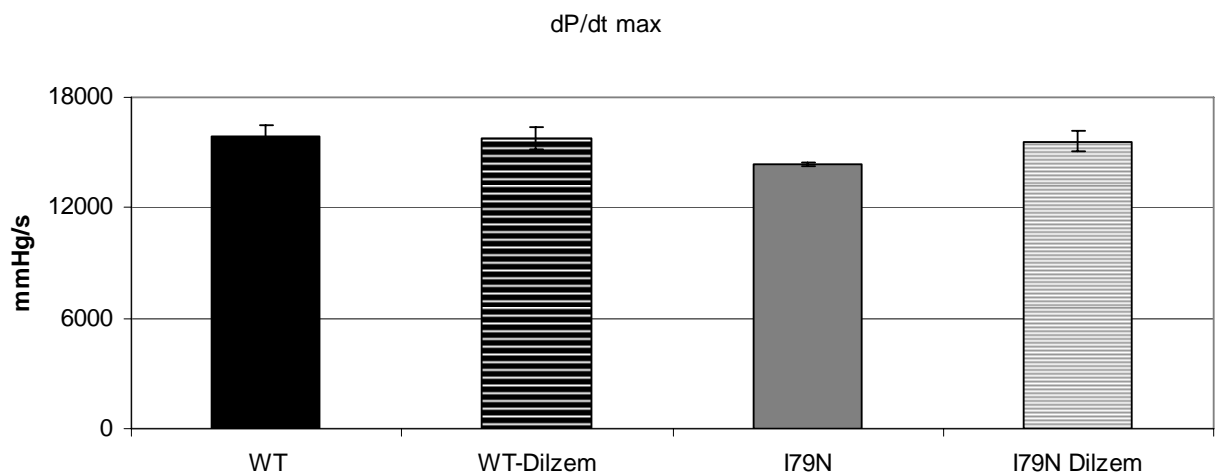
3.4.4.

3.4.5. Maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit während pharmakologischer Belastung

Die linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit unterscheidet sich zwischen den Gruppen nicht signifikant.

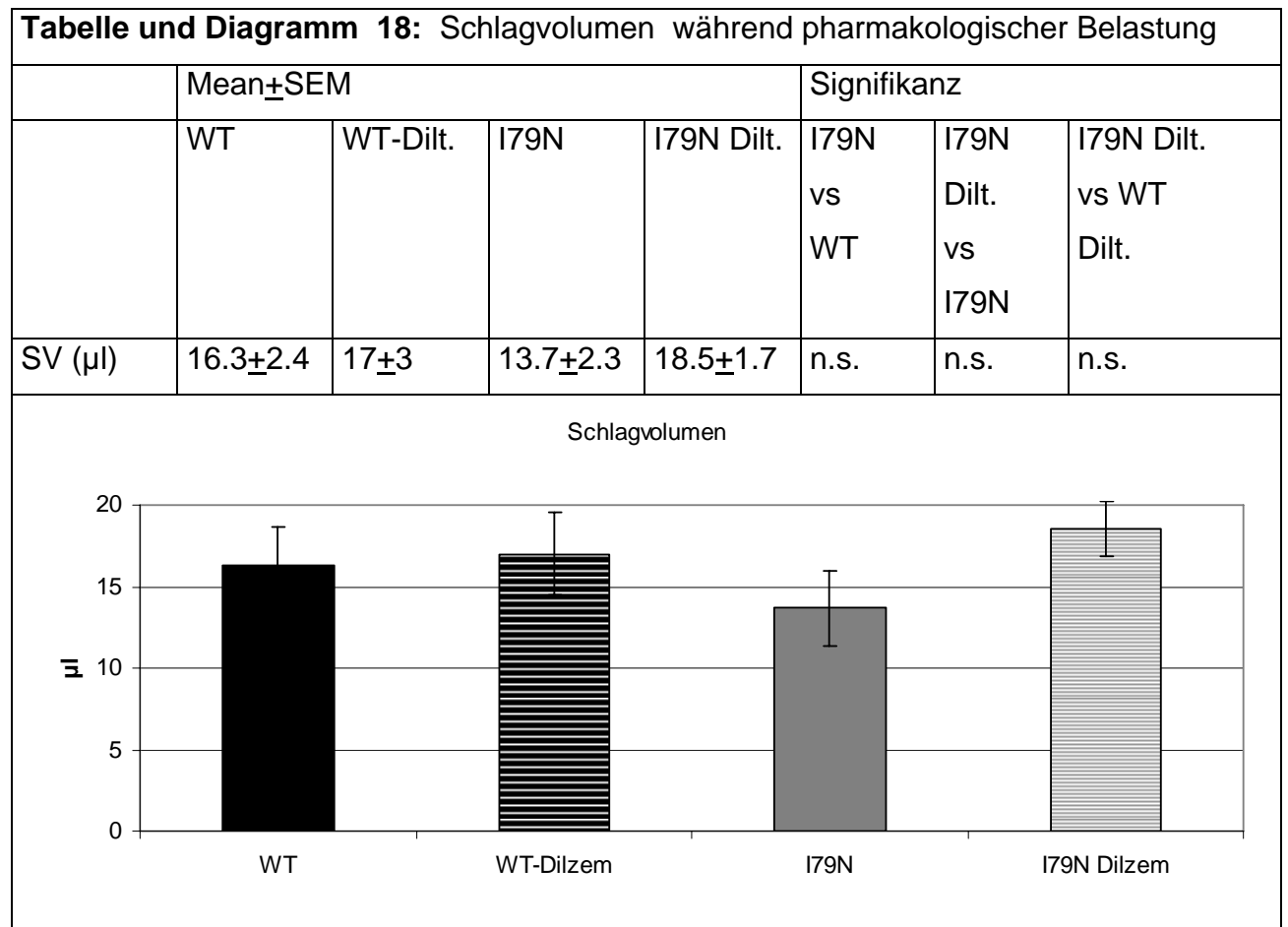
Tabelle und Diagramm 17: Maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit während pharmakologischer Belastung

	Mean \pm SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
dP/dt max	15827 \pm 665	15758 \pm 576	14312 \pm 101	15594 \pm 540	n.s.	n.s.	n.s.



3.4.6. Schlagvolumen (SV)

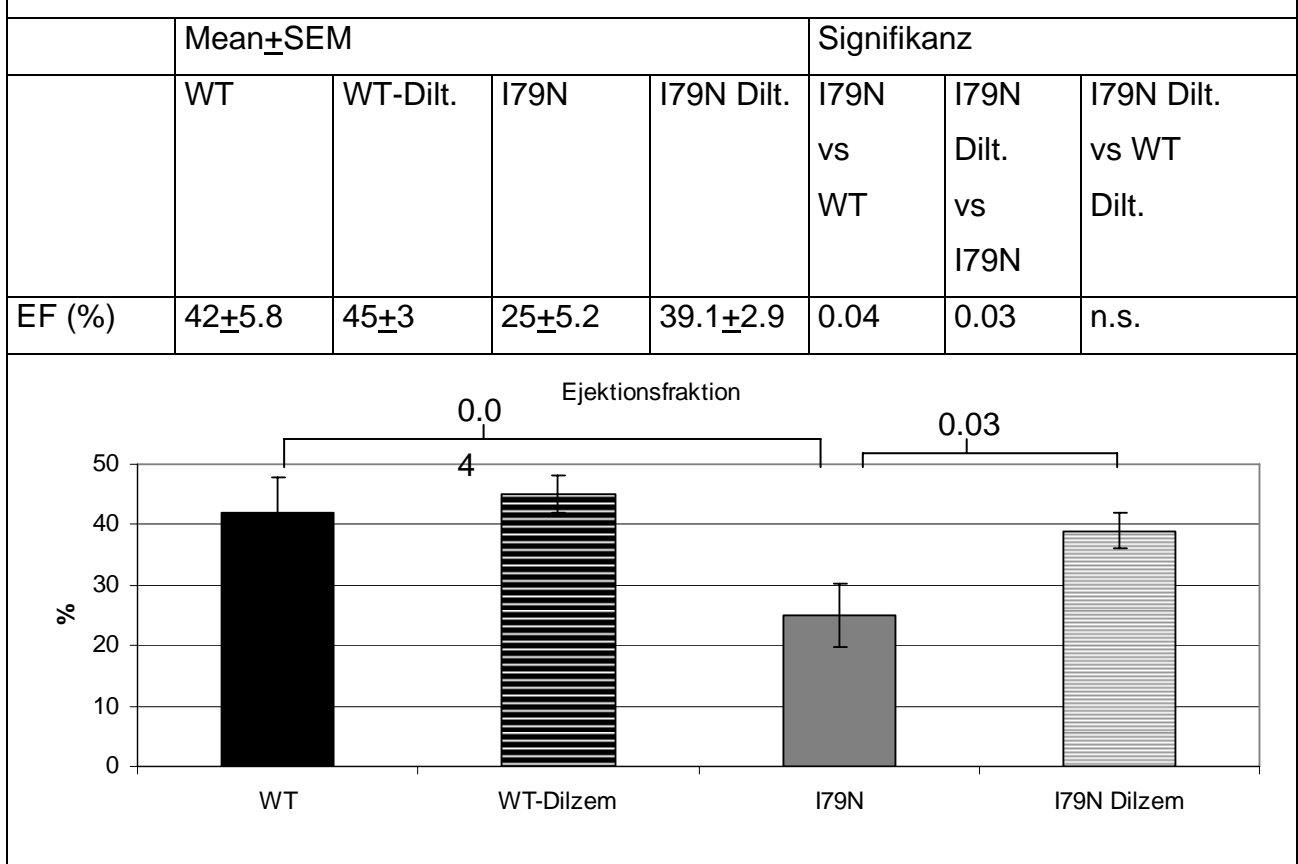
Das Schlagvolumen unterscheidet sich in keiner der untersuchten Gruppen signifikant voneinander.



3.4.7. Ejektionsfraktion (EF) während pharmakologischer Belastung

Die Ejektionsfraktion ist zwischen den TNT-I79N und den TNT-WT signifikant und um 45% reduziert. Die Behandlung mit Diltiazem bei den TNT-I79N-Tieren verhindert diese Reduktion vollständig, so dass sich auch die TNT-I79N zu den TNT-I79N-Diltiazem mit 36% signifikant unterscheiden. Daher gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen den TNT-I79N-Diltiazem zu den TNT-WT-Diltiazem.

Tabelle und Diagramm 19: Ejektionsfraktion während pharmakologischer Belastung

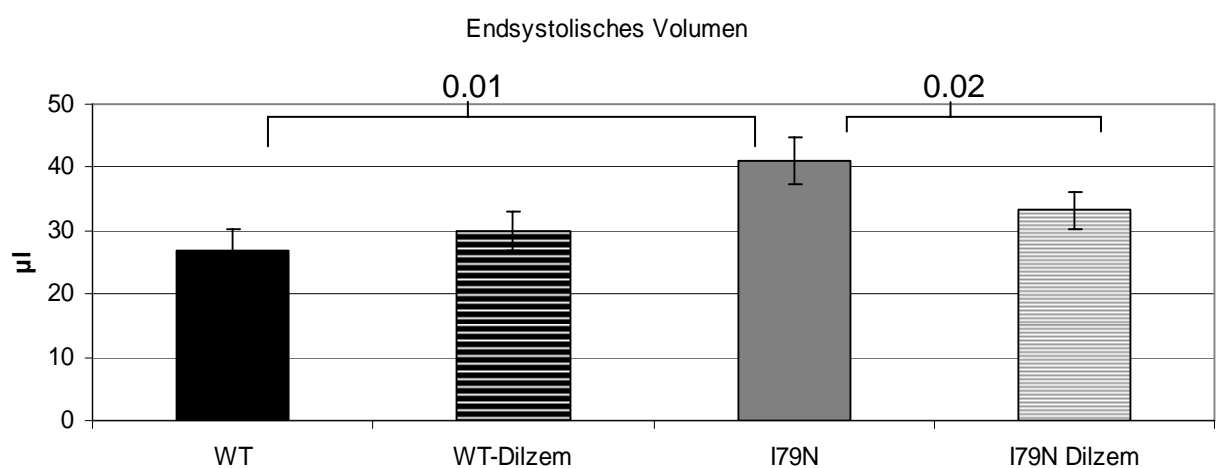


3.4.8. Endsystolisches Volumen (ESV) während pharmakologischer Belastung

Das endsystolische Volumen ist während der pharmakologischen Belastung in den TNT-I79N-Tieren vergrößert, die Druck-Volumen-Kurve also nach links verschoben. Diese Verschiebung um fast 50% ist signifikant gegenüber allen anderen Gruppen. Das heißt also, die TNT-I79N-Tiere unterscheiden sich sowohl von den TNT-WT als auch von den Diltiazem behandelten TNT-I79N. Die Linksverschiebung der Druck-Volumen-Kurve wird also durch Diltiazem normalisiert.

Tabelle und Diagramm 20: Endsystolisches Volumen während pharmakologischer Belastung

	Mean \pm SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
ESV (μ l)	27 \pm 3.3	30 \pm 3.1	41 \pm 3.7	33.2 \pm 2.8	0.01	0.02	n.s.

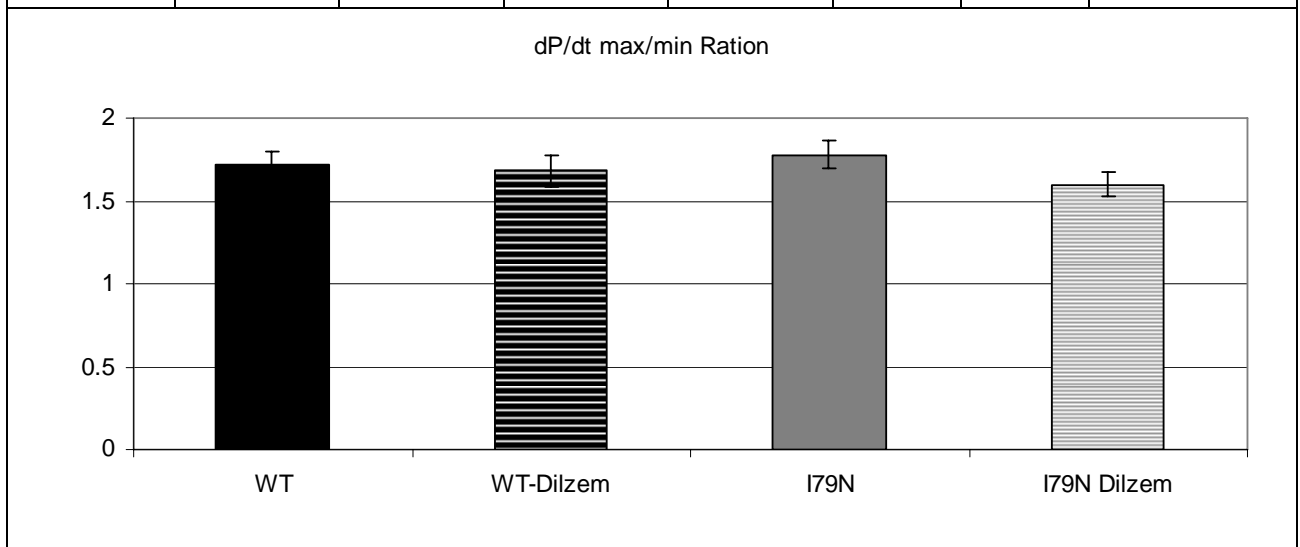


3.4.9. DP/dt max:min Ratio während pharmakologischer Belastung

Der dP/dt max:min Ratio ist während pharmakologischer Belastung im Gegensatz zu den basalen Bedingungen nicht mehr signifikant unterschiedlich zwischen den verschiedenen Gruppen.

Tabelle und Diagramm 21: DP/dt max:min Ratio während pharmakologischer Belastung

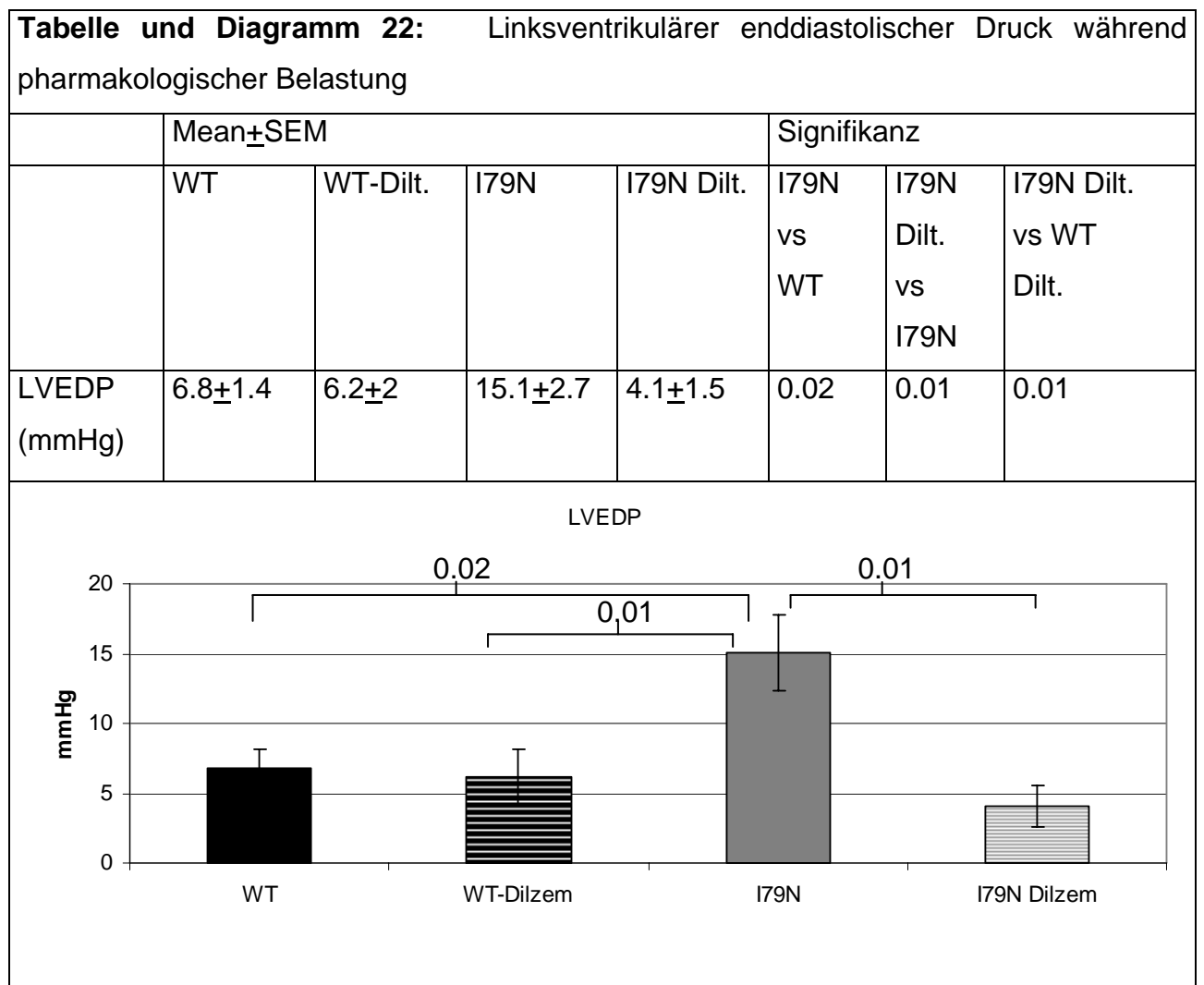
	Mean \pm SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
dP/dt max:min	1.72 \pm 0.08	1.68 \pm 0.1	1.78 \pm 0.08	1.6 \pm 0.07	n.s.	n.s.	n.s.



3.5. Diastolische Funktion während pharmakologischer Belastung

3.5.1. Linksventrikulär enddiastolischer Druck während pharmakologischer Belastung

Der linksventrikulär enddiastolische Druck während der pharmakologischen Belastung zeigt deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen. Die TNT-I79N Gruppe hat einen signifikant höheren linksventrikulär enddiastolische Druck im Vergleich mit allen anderen Gruppen. Das heißt, dass durch die Behandlung mit Diltiazem die TNT-I79N-Diltiazem im Vergleich zu den TNT-WT-Diltiazem einen normalisierten und nicht mehr signifikant erhöhten enddiastolischen Druck besaßen.

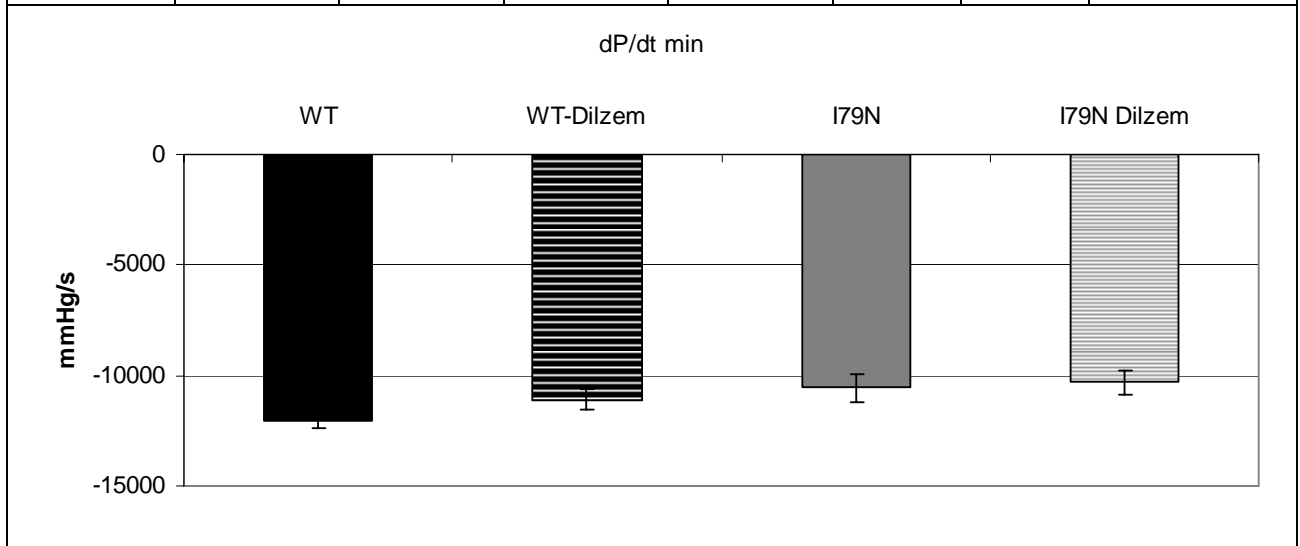


3.5.2. Minimale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit während pharmakologischer Belastung

Die Druckabfallsgeschwindigkeit ist auch während der pharmakologischen Belastung zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich.

Tabelle und Diagramm 23: Minimale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit während pharmakologischer Belastung

	Mean±SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
dP/dt min (mmHg)	- 12374±34 5	- 11567±47 6	- 11379±62 3	- 10876±56 2	n.s.	n.s.	n.s.



3.5.3. Tau während pharmakologischer Belastung

Tau ist ähnlich wie unter den basalen Bedingungen auch während der pharmakologischen Belastung nicht unterschiedlich. Es zeigen sich also keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Tabelle und Diagramm 24: Tau während pharmakologischer Belastung

	Mean±SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
Tau (ms)	9.6±0.8	9.5±0.1	9.9±0.8	9.6±0.7	n.s.	n.s.	n.s.

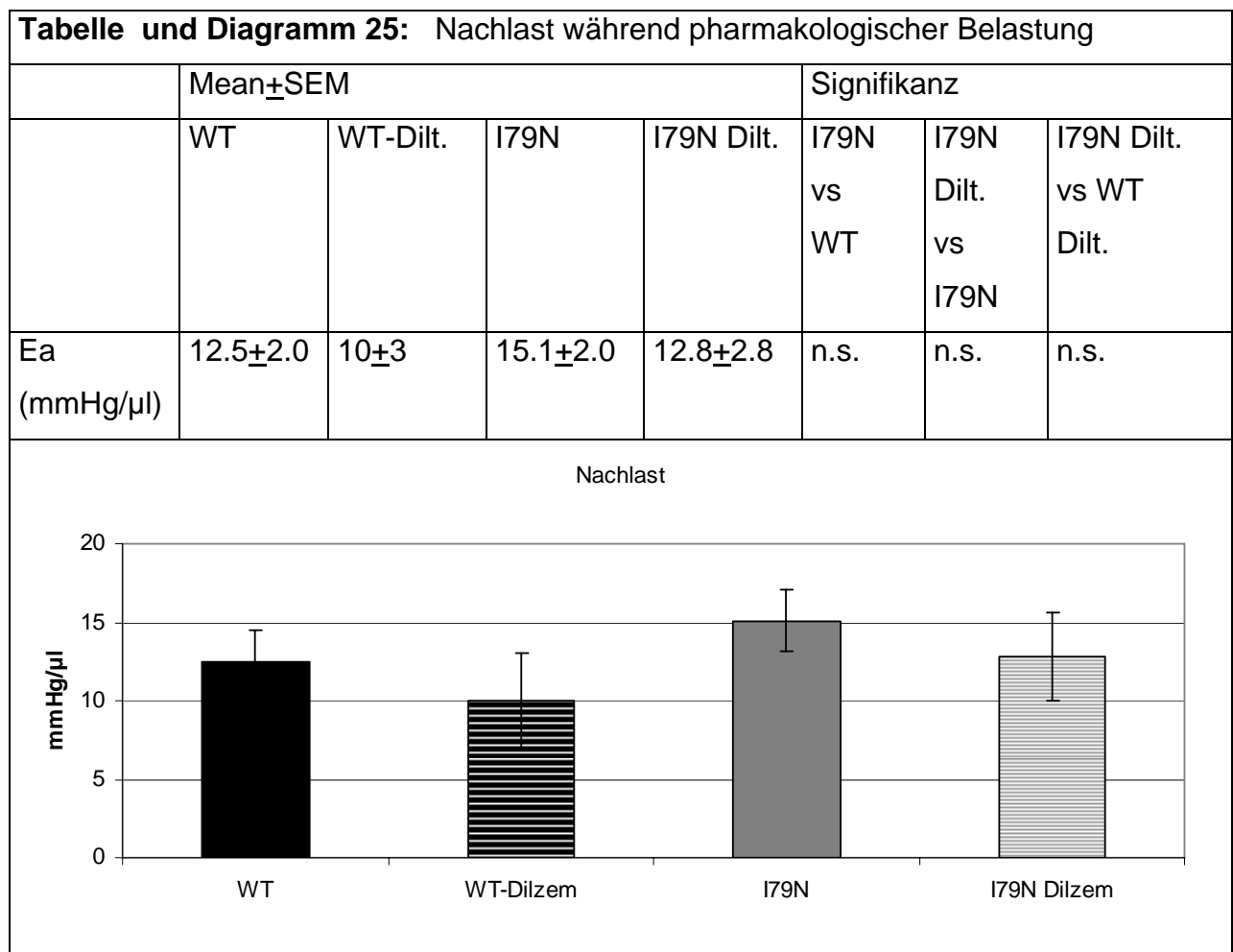
Tau

The bar chart displays the mean Tau values for four experimental groups. The y-axis represents Tau in milliseconds (ms), ranging from 0 to 12. The x-axis lists the groups: WT, WT-Dilt., I79N, and I79N Dilt. Each bar includes an error bar representing the standard error of the mean (SEM). The values are approximately 9.6 ms for WT, 9.5 ms for WT-Dilt., 9.9 ms for I79N, and 9.6 ms for I79N Dilt. No significant differences (n.s.) are indicated between any of the groups.

Group	Mean Tau (ms)	SEM
WT	9.6	0.8
WT-Dilt.	9.5	0.1
I79N	9.9	0.8
I79N Dilt.	9.6	0.7

3.5.4. Nachlast während pharmakologischer Belastung

Die Nachlast ist im Gegensatz zu den basalen Bedingungen nicht mehr unterschiedlich. Sie ist in allen Gruppen deutlich höher als die entsprechenden Werte unter basalen Bedingungen. Es gibt allerdings keine Unterschiede zwischen den Gruppen während der pharmakologischen Belastung. Die Behandlung mit Diltiazem führt nur tendenziell zu einer Verringerung der Nachlast, die aber kein signifikantes Niveau durch eine hohe Standardabweichung erreicht.



3.6. Zusammenfassung der Hämodynamik während pharmakologischer Belastung

Sowohl in der systolischen als auch in der diastolischen Funktion unterscheiden sich die TNT-I79N-Tiere von den TNT-WT. Zwar gibt es zu diesem Zeitpunkt keine Unterschiede im maximalen linksventrikulären Druck, doch veränderte Parameter wie

Erniedrigung der Ejektionsfraktion, des kardialen Index als auch das endsystolische Volumen zeigen deutlich die Unterschiede zu den Wildtypen auf. Diese Unterschiede können jedoch alle durch die pharmakologische Vorbehandlung mit Diltiazem normalisiert werden. Es zeigen sich zwischen den TNT-I79N-Diltiazem und den TNT-WT-Diltiazem keine signifikanten Unterschiede mehr.

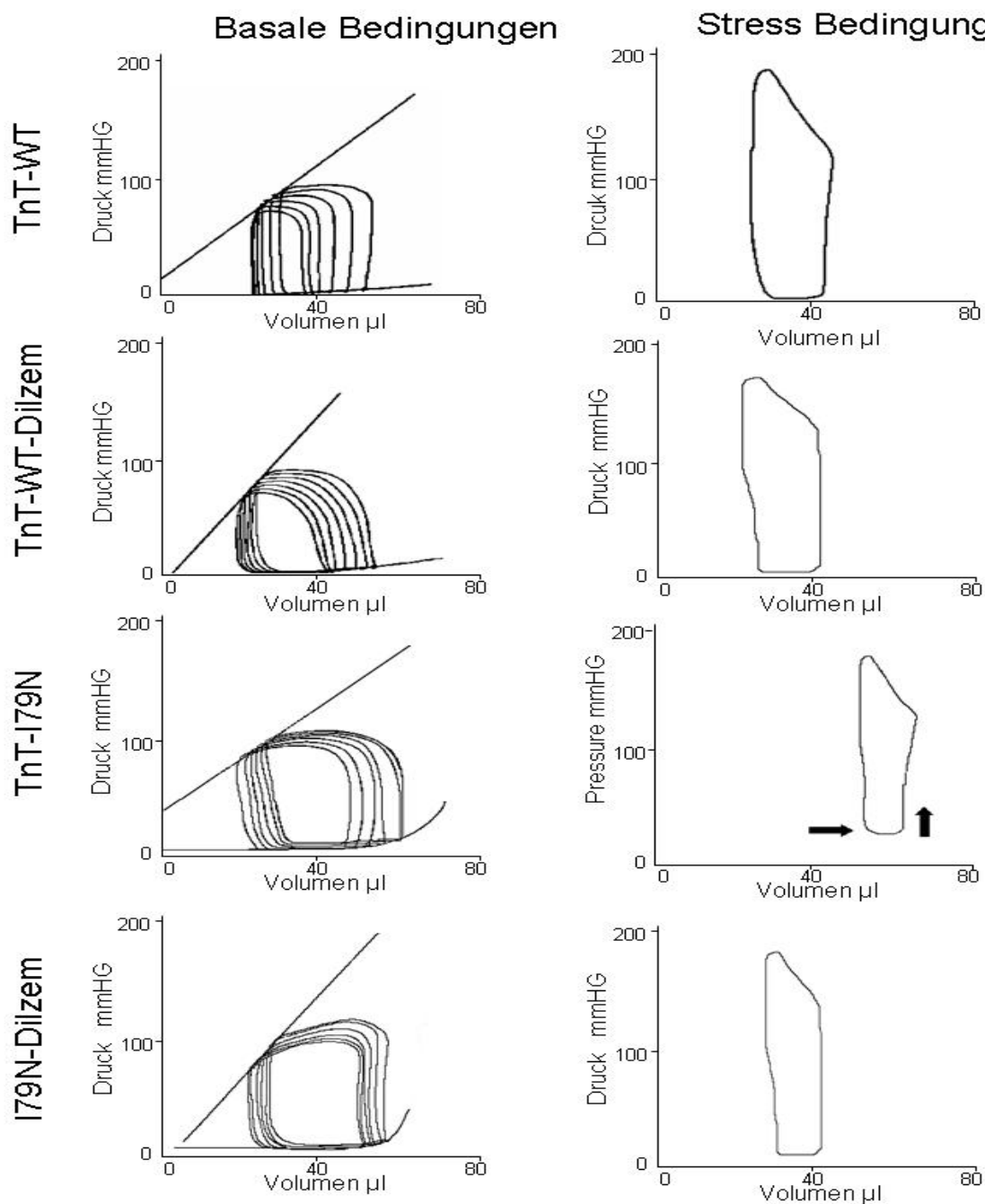


Abbildung 12: Druck-Volumen-Kurven unter basalen Bedingungen mit ESPVR und EDPVR und während pharmakologischer Belastung. Pfeile zeigen Rechtsverschiebung und Anstieg der Druck-Volumen-Kurven bei den TNT-I79N.

3.7. Mortalität während und nach der pharmakologischen Belastung

Die Mortalität wurde nach der hämodynamischen Messung während der pharmakologischen Belastung, also von Minute 2 bis Minute 5, aufgezeichnet. Der Tod wurde von einer Bradykardie und dem deutlichen Absinken der Herzleistung bis zur völligen Asystolie und folgendem Kreislaufstillstand verfolgt. Es zeigen sich zwischen den Gruppen deutliche Unterschiede. Im Gegensatz zur Gruppe der TNT-I79N, in der nach spätestens fünf Minuten alle Tiere starben, kam es bei keinem Tier der Gruppen TNT-WT und TNT-WT-Diltiazem innerhalb von fünf Minuten zum Tod. Die Mortalität konnte durch die pharmakologische Intervention durch Diltiazem deutlich reduziert, wenn auch nicht ganz verhindert werden. Bei den TNT-I79N-Diltiazem wurde sie auf 25% der unbehandelten TNT-I79N gesenkt, so dass es keinen Unterschied zwischen TNT-I79N-Diltiazem und TNT-WT-Diltiazem in dieser Studie gab. Wie im Methodenteil erläutert, wurde zur statistischen Absicherung der Fisher's Exact Test verwendet, da dieser trotz der kleinen Gruppengrößen von n=8 relativ robust ist.

Tabelle und Diagramm 26: Mortalität während und nach pharmakologischer Belastung

	Mean±SEM				Signifikanz		
	WT	WT-Dilt.	I79N	I79N Dilt.	I79N vs WT	I79N Dilt. vs I79N	I79N Dilt. vs WT Dilt.
Mortalität	0/8	0/8	8/8	2/8	0.02	0.05	n.s.

