

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR INNERE MEDIZIN II

Prof. Dr. Lars S. Maier

DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Arrhythmien bei Patienten mit schlafbezogenen
Atemstörungen – die Bedeutung des
spannungsabhängigen Natriumkanals Nav1.8**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der

Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von

Jonas Rohde

2024

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR INNERE MEDIZIN II

Prof. Dr. Lars S. Maier

DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Arrhythmien bei Patienten mit schlafbezogenen
Atemstörungen – die Bedeutung des
spannungsabhängigen Natriumkanals Nav1.8**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Jonas Rohde

2024

Dekan:	Prof. Dr. Dirk Hellwig
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Simon Lebek
2. Berichterstatter:	PD Dr. Leopold Rupprecht

Datum der mündlichen Prüfung: 25.06.2024

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	6
1.1	Einführung.....	6
1.2	Der Aufbau des Myokards.....	7
1.3	Elektromechanische Kopplung und Aktionspotential.....	10
1.4	Regulierung der myokardialen Kontraktionskraft.....	14
1.4.1	Frank-Starling-Mechanismus.....	14
1.4.2	Kraft-Frequenz-Verhalten.....	14
1.4.3	Post-Pause-Verhalten.....	15
1.4.4	Stimulation durch das sympathische Nervensystem.....	15
1.5	Schlafbezogene Atemstörungen.....	16
1.5.1	Allgemeines.....	16
1.5.2	Zentrale Schlafapnoe.....	17
1.5.3	Obstruktive Schlafapnoe.....	18
1.5.4	Diagnostik und Therapie.....	18
1.6	Vorhofflimmern und zelluläre Arrhythmogenese.....	19
1.6.1	Vorhofflimmern.....	19
1.6.2	Zelluläre Arrhythmogenese.....	20
1.7	Interaktion SBAS mit Vorhofflimmern.....	22
1.8	Die Ca ²⁺ /Calmodulin-abhängige Proteinkinase II.....	24
1.8.1	Allgemeines und Struktur.....	24
1.8.2	Regulation.....	25
1.8.3	Funktion.....	26
1.8.4	Pathophysiologie.....	27
1.8.5	CaMKII δ und SBAS.....	29
1.9	Na ⁺ -Stoffwechsel des Herzens.....	29
1.9.1	Relevante Na ⁺ -Ströme des Herzens.....	30
1.9.2	Spannungsabhängige Na ⁺ -Kanäle des Herzens.....	30
1.9.3	Na ⁺ -Stoffwechsel bei Patienten mit SBAS.....	33
1.10	Zielsetzung und Fragestellung dieser Arbeit.....	34

2	Material und Methoden	35
2.1	CONSIDER-AF	35
2.1.1	Studientitel und Studiendesign.....	35
2.1.2	Patientenrekrutierung	35
2.1.3	Polygraphiedatenerhebung	36
2.2	Gewinnung humaner atrialer Myokardproben.....	37
2.3	mRNA-Analyse mittels qPCR.....	38
2.3.1	RNA-Isolierung und Transkription in cDNA	38
2.3.2	Quantifizierung der <i>SCN10A</i> mRNA-Expression	38
2.4	Pharmakologische Interventionen.....	39
2.4.1	PF – 01247324 (PF)	39
2.4.2	Isoproterenol/Isoprenalin (ISO)	39
2.5	Muskelstreifenexperimente	40
2.5.1	Reinigung der Gewebeprobe und Präparation der Muskeltrabekel	40
2.5.2	Krebs – Henseleit – Lösung	41
2.5.3	Aufbau der Messanlage	43
2.5.4	Versuchsdurchführung	45
2.6	Datenauswertung und Statistik	48
2.6.1	Auswertung der Muskelstreifenexperimente	48
2.6.2	Statistische Auswertung	49
3	Ergebnisse	50
3.1	Patientencharakteristika.....	50
3.2	<i>SCN10A</i> -mRNA-Expression in humanen atrialen Myokardproben	52
3.3	Die Rolle des Nav1.8 bei der Entstehung des diastolischen SR-Ca ²⁺ -Lecks	54
3.4	Die Rolle des Nav1.8 für das Auftreten von trabekulären Arrhythmien	58
3.5	Klinische Komorbiditäten des Patientenkollektivs.....	62
4	Diskussion	64
4.1	Die Entstehung von Arrhythmien bei SBAS-Patienten	64
4.2	Proarrhythmogene Nav1.8-abhängige Dysregulation des Na ⁺ -Haushalts.....	66
4.2.1	Beitrag des späten Na ⁺ -Stroms I _{Na, late}	66
4.2.2	Beitrag des SR-Ca ²⁺ -Leck	67

4.2.3	Beitrag der PACs.....	68
4.3	Nav1.8-Inhibition als neue antiarrhythmische Möglichkeit bei SBAS.....	69
5	Zusammenfassung	71
6	Literaturverzeichnis.....	73
7	Anhang.....	89
7.1	Abkürzungsverzeichnis	89
7.2	Abbildungsverzeichnis	92
7.3	Tabellenverzeichnis	93
7.4	Formelverzeichnis	94
8	Danksagung	95
9	Lebenslauf	96
10	Eidesstattliche Erklärung.....	98

Gender-Hinweis

Die in dieser Hausarbeit verwendeten Personenbezeichnungen beziehen sich immer gleichermaßen auf weibliche und männliche Personen. Auf eine Doppelnennung und gegenderte Bezeichnungen wird zugunsten einer besseren Lesbarkeit verzichtet.

1 Einleitung

Die vorliegende Promotion lieferte einen wesentlichen Beitrag für den Artikel „Voltage-Gated Sodium Channel NaV1.8 Dysregulates Na and Ca, Leading to Arrhythmias in Patients with Sleep-Disordered Breathing“, welcher 2022 im *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (Impact Faktor: 24,7) erschienen ist (1).

1.1 Einführung

Schlafbezogene Atemstörungen (SBAS), insbesondere das obstruktive Schlafapnoesyndrom (OSAS), stellen eine weit verbreitete globale Erkrankung dar, die eine Prävalenz von nahezu 1 Milliarde betroffenen Patienten aufweist (2). Gerade im Hinblick auf eine durch den demographischen Wandel immer älter werdende Gesellschaft wird diese Erkrankung aus soziologischer und ökonomischer Sicht eine immer wichtigere Rolle spielen. Wie bereits bekannt ist, bildet die schlafbezogene Atemstörung einen nicht unerheblichen Risikofaktor für die Entstehung weiterer kardiovaskulärer Erkrankungen. SBAS konnte bisher mit Hypertonie (3), Herzinsuffizienz (4), einem verschlechterten Outcome nach Herzinfarkt (5) und einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Vorhofflimmern (VHF) verknüpft werden (6). Des Weiteren zeigen Patienten mit nicht behandelter obstruktiver Schlafapnoe (OSA) eine erhöhte Rate an wiederkehrendem VHF nach elektrischer Kardioversion oder Pulmonalvenenisolation (7). Aktuell ist die Therapie mit „continuous positive airway pressure“ (CPAP) die Behandlung der Wahl bei SBAS-Patienten. Allerdings gibt es Anhaltspunkte dafür, dass die Compliance der CPAP-Therapie gering ist und bei Patienten mit HFrEF (Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion) und ZSA (zentrale Schlafapnoe) zeigte sich, dass eine Therapie mit positiver Druckluft (vgl. adaptive Servoventilation, ASV) zu einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität und Gesamtmortalität führen könnte (8, 9).

Es zeigt sich also, dass das Krankheitsbild der SBAS teilweise weitere schwerwiegende Folgeerkrankungen mit sich zieht und bisherige Behandlungsmöglichkeiten dafür nicht ausreichen. Daher ist es sehr wichtig, neue Erkenntnisse zu erlangen, um neue therapeutische und diagnostische Möglichkeiten für diese Patienten zu finden.

Die vorliegende Dissertation widmet sich der Untersuchung möglicher arrhythmischer Effekte durch eine potenzielle Überexpression des spannungsabhängigen Natriumkanals Nav1.8 (Natrium in Folge als Na⁺) im Vorhofmyokard von Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen.

Zunächst soll allerdings in der Einleitung auf elektrophysiologische Grundlagen des Herzens eingegangen werden. In Folge werden die beiden Krankheitsbilder SBAS und VHF beleuchtet. Anschließend sollen die pathophysiologische Rolle der CaMKII δ und des Na⁺-Stoffwechsels erörtert und ein Zusammenhang hergestellt werden. Abschließend werden die Ziele und Fragestellungen dieser Arbeit vorgestellt.

1.2 Der Aufbau des Myokards

Das Myokard gilt als Sonderform der quergestreiften Muskulatur und ist die funktionelle Grundlage des Herzens. Ihm zugrunde liegen die Kardiomyozyten, welche den Skelettmuskelzellen, bis auf einige funktionell bedeutsame Unterschiede, sehr ähnlich sind. Sie sind ca. 100 μm lang und besitzen einen Durchmesser von ca. 15-20 μm . Im Vergleich zu Skelettmuskelzellen (mehrere randständige Zellkerne) besitzen Kardiomyozyten im Regelfall nur einen zentralen Zellkern (10).

Ultrastrukturell besteht der kontraktile Apparat ähnlich dem der Skelettmuskelzelle aus den Myofilamenten Aktin und Myosin. Diese sind parallel zueinander angeordnet und sind durch Z-Scheiben voneinander getrennt (siehe Abbildung 1). Durch die Begrenzung zweier Z-Scheiben entsteht ein Sarkomer, die kleinste funktionelle Einheit der Herzmuskelzelle (ca. 1,5 – 2,2 μm Länge). Lichtmikroskopisch sind dabei helle und dunkle Banden zu erkennen (A-, H-, M-, I- und Z-Banden). Aufgrund dieses typischen Aufbaus wird die Herzmuskulatur zur quergestreiften Muskulatur gezählt (10, 11).

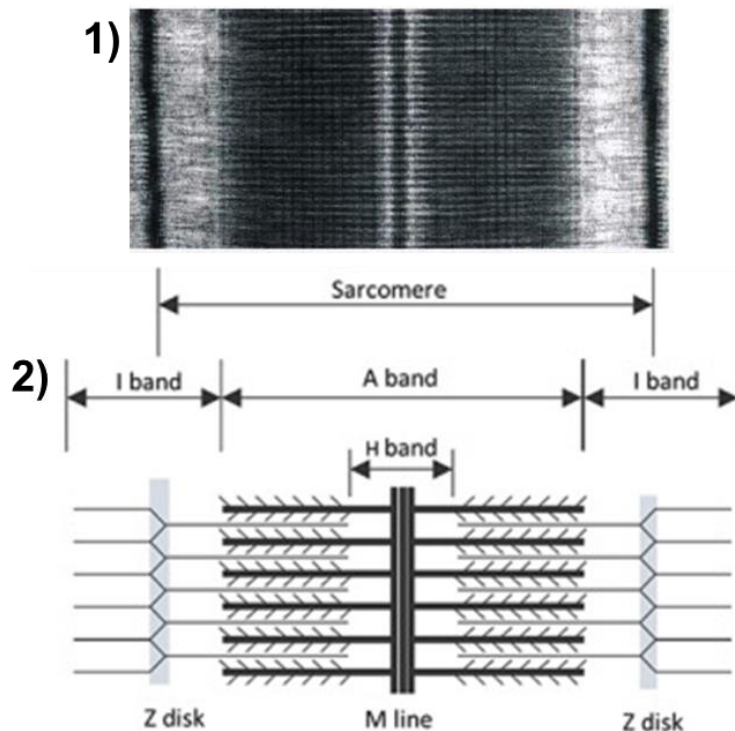


Abbildung 1: Das Sarkomer.

1: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Sarkomers. Man erkennt die Querstreifung durch helle und dunkle Banden. Diese entsteht durch Überlappung der verschiedenen Myofilamente (12).

2: Schema eines Sarkomers in Relaxationsstellung. Man erkennt die Myofilamente Aktin und Myosin, sowie die Z-Scheibe (Verankerung von Aktin), die M-Linie (Verankerung von Myosin), die I-Bande (nur Aktin), die H-Bande (nur Myosin) und die A-Bande (Überlappung von Aktin und Myosin) (13).

Kommt es zu einer Kontraktion, werden durch Abknicken der Myosinköpfchen die beiden Filamente ineinandergeschoben, sodass sich das Sarkomer verkürzt. Analog dazu kehren bei der Relaxation Aktin und Myosin zurück in ihre Ausgangsposition, das Sarkomer verlängert sich wieder (14).

Als Besonderheit der Herzmuskelzellen gelten die sog. Glanzstreifen (Disci intercalares), welche die Kardiomyozyten sowohl mechanisch als auch funktionell miteinander verbinden. Zum einen beinhalten diese Adhäsionskontakte, bestehend aus Fasciae adhaerentes und Desmosomen, welche der Übertragung von mechanischen Zugkräften dienen (15). Zum anderen sind in den Glanzstreifen Kommunikationskontakte, sog. Gap junctions, ausgebildet. Diese bestehen aus Connexonen und garantieren einen freien Durchfluss von elektrischen und chemischen Signalen (16–18). Durch diese Besonderheit entsteht ein funktionelles Synzytium, welches die Übertragung von Erregung und Kontraktion und somit eine einheitliche Funktion des Herzens sicherstellt.

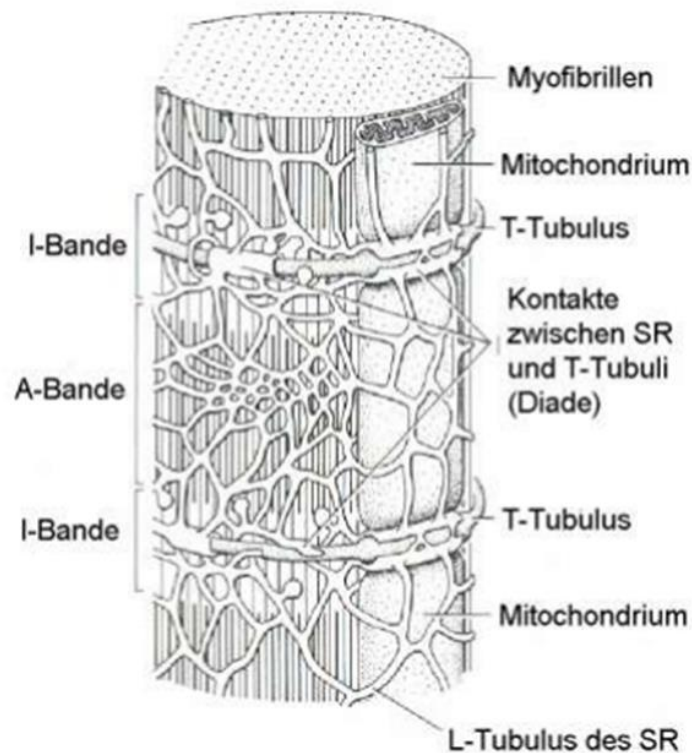


Abbildung 2: Der Kardiomyozyt.

Dargestellt sind die L-Tubuli (sarkoplasmatisches Retikulum) und T-Tubuli. Die enge räumliche Beziehung der beiden Tubuli wird Diade genannt. Des Weiteren sind die Myofilamente angedeutet und es finden sich vereinzelt Mitochondrien; nach (19).

Abbildung 2 zeigt schematisch den Aufbau einer Herzmuskelzelle. Die einzelnen Myozyten sind dabei von einer Zellmembran (Sarkolemm) umzogen, welche aus einer Lipiddoppelschicht besteht. Das Sarkolemm erfüllt eine Barrierefunktion und hält so den elektrochemischen Gradienten für den Stoff- und Signalaustausch aufrecht (11). Zwischen den einzelnen Myofibrillen sind in der Herzmuskelzelle besonders viele Mitochondrien zu finden. Sie machen in Myokardzellen ca. 33 % des Zellvolumens aus und decken so den hohen Energiebedarf für die aerobe ATP-Gewinnung (20).

Im Vordergrund stehen zudem die beiden tubulären Strukturen. Die T-Tubuli stellen dabei Invaginationen des Sarkolemm dar. In den L-Tubuli befindet sich das sarkoplasmatische Retikulum (SR), der intrazelluläre Calciumspeicher (Calcium in Folge als Ca^{2+}). Durch die Einstülpung befinden sich die T-tubulären Kanäle in unmittelbarer Nähe zum SR. Dieses Phänomen wird Diade genannt und ist von enormer Wichtigkeit für den schnellen Ablauf der elektromechanischen Kopplung (10, 11, 19).

1.3 Elektromechanische Kopplung und Aktionspotential

Der Weg von der Erregung eines Myozyten bis hin zur Kontraktion desselben wird als elektromechanische Kopplung bezeichnet. Grundlage dieses Prozesses ist das Aktionspotential, welches im Sinusknoten generiert wird und über das Erregungsleitungssystem via Gap junctions fortgeleitet wird. Ein Kardiomyozyt besitzt ein Ruhemembranpotential von ca. -60 bis -80 mV, welches überwiegend durch das Gleichgewichtspotential für Kalium (in Folge als K^+) von -89 mV zustande kommt (21, 22).

Kommt es nun durch einen eintreffenden Reiz zum Erreichen des Schwellenpotentials, so öffnen spannungsgesteuerte Na^+ -Kanäle (im Herzen v.a. $Nav1.5$) und es kommt zu einem raschen, depolarisierenden Na^+ -Einstrom (Aufstrich des Aktionspotentials) entlang des chemischen Gradienten für Na^+ -Ionen. In Folge nimmt die Triebkraft für den Na^+ -Einstrom ab und gleichzeitig steigt der elektrochemische Gradient für K^+ wieder an. Dadurch entsteht ein repolarisierender K^+ -Auswärtsstrom, sodass statt dem Gleichgewichtspotential von Na^+ (+70 mV) nur ein Spitzenpotential von +40 mV erreicht wird (siehe Abbildung 3, Phase 0 und 1).

Im Anschluss öffnen die spannungsabhängigen L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle, auch Dihydropyridinrezeptoren (DHPR) genannt, und es kommt zu einem Ca^{2+} -Einstrom (I_{Ca}) in den diadischen Spalt. Durch nun vorherrschende annähernd gleiche Einwärts- und Auswärtsströme entsteht die für den Kardiomyozyten typische Plateauphase des Aktionspotentials (siehe Abbildung 3, Phase 2).

Infolge einer gesteigerten K^+ -Permeabilität und konsekutivem K^+ -Auswärtsstrom sowie inaktivierter Ca^{2+} -Kanäle kommt es zur Repolarisation bis hin zum Erreichen des Ruhemembranpotentials. Dieses wird von der Na^+/K^+ -ATPase aufrechterhalten (siehe Abbildung 3, Phase 3 und 4) (10).

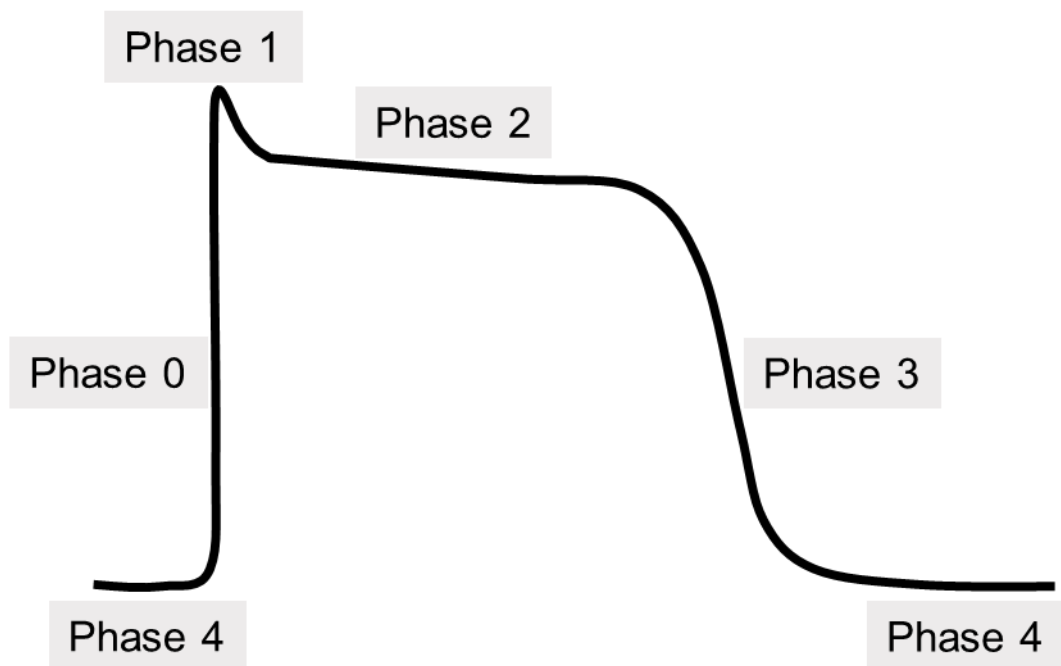


Abbildung 3: Die Phasen des kardialen Aktionspotentials.

- Phase 4: Ruhemembranpotential von -80 mV , durch die Na^+/K^+ -ATPase aufrechterhalten
 Phase 0: Aufstrich des Aktionspotentials durch schnellen Na^+ -Einwärtsstrom
 Phase 1: leichte Repolarisation durch K^+ -Auswärtsströme
 Phase 2: durch Einsetzen des Ca^{2+} -Einstroms kommt es zur Plateauphase (ausgeglichene Auswärts- und Einwärtsströme)
 Phase 3: Repolarisation durch K^+ -Auswärtsstrom

Um das elektrische Potential in eine mechanische Antwort zu übersetzen, ist die enge räumliche Beziehung von T-Tubuli und sarkoplasmatischem Retikulum (L-Tubuli) von großer Bedeutung. Durch den I_{Ca} über die DHPR erhöht sich die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration. Hierdurch werden Ryanodin-Rezeptoren (RyR2) im SR aktiviert, was einen weiteren quantitativ viel größeren Ca^{2+} -Strom in die Zelle zur Folge hat. Diese Ca^{2+} -induzierte Ca^{2+} -Freisetzung führt zu einem Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration von 10^{-7} mol/l auf 10^{-5} mol/l (23–25).

Zur **Kontraktion** kommt es nun durch Bindung von Ca^{2+} an Troponin C, dadurch werden über eine Konformationsänderung des Tropomyosinkomplexes die Querbrückenbindungsstellen von Aktin und Myosin freigegeben und es kann zu einer Interaktion der beiden Myofilamente kommen (26). Mittels Hydrolyse des an Myosin gebundenen ATPs zu ADP und anorganischem Phosphat wird die Energie zum

Abknicken der Myosinköpfchen bereitgestellt. Hierdurch werden die Aktinfilamente ineinandergeschoben und der Kardiomyozyt kontrahiert sich (14, 27).

<u>Name des Kanals/Rezeptors</u>	<u>Lage</u>	<u>Richtung des Ca²⁺-Stroms</u>
L-Typ-Ca ²⁺ -Kanal (= Dihydropyridinrezeptor, DHPR)	Zellmembran (der T-Tubuli)	extrazellulär nach intrazellulär
Ryanodin-Rezeptor (RyR2)	Membran des SR	SR nach intrazellulär

Tabelle 1: Ca²⁺-Kanäle der Kontraktion.

Die **Relaxation** erfolgt durch Senkung des intrazellulären Ca²⁺-Spiegels. Hierbei spielen verschiedene Transportproteine eine Rolle.

Den höchsten Anteil (beim Menschen ca. 65%) hat die sarkoplasmatische Ca²⁺-ATPase (SERCA) (10). Sie befördert aktiv Ca²⁺-Ionen entgegen ihrem elektrochemischen Gradienten zurück in das SR. Phospholamban (PLB), ein inhibitorisches Protein, reguliert die SERCA. Im Ruhezustand liegt PLB im dephosphorylierten Zustand vor und hemmt die Ca²⁺-Rückresorption. Durch Phosphorylierung wird die Hemmung aufgehoben, was zu einer erhöhten Ca²⁺-Rückresorption in das SR führt (28, 29).

Der Na⁺/Ca²⁺-Austauscher (NCX) transportiert entlang des Na⁺-Gradienten 1 Ca²⁺-Ion im Austausch für 3 Na⁺-Ionen nach extrazellulär. Dies macht einen Anteil von ca. 30% aus. Einen geringeren Beitrag leisten die sarkolemmale Ca²⁺-ATPase und der mitochondriale Ca²⁺-Uniporter (MCU) (30, 31).

<u>Name des Kanals/Rezeptors</u>	<u>Lage</u>	<u>Richtung des Ca²⁺-Stroms</u>
sarkoplasmatische Ca ²⁺ -ATPase (SERCA)	Membran des SR	intrazellulär ins SR
Na ⁺ /Ca ²⁺ -Austauscher (NCX)	Zellmembran	intrazellulär nach extrazellulär
sarkolemmale Ca ²⁺ -ATPase	Zellmembran	intrazellulär nach extrazellulär
mitochondrialer Ca ²⁺ -Uniporter (MCU)	Membran der Mitochondrien	intrazellulär ins Mitochondrium

Tabelle 2: Ca²⁺-Kanäle der Relaxation.

Der Ablauf der elektromechanischen Kopplung sowie der zeitliche Zusammenhang von Aktionspotential, intrazellulärer Ca²⁺-Konzentration und Kontraktion sind in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt (32).

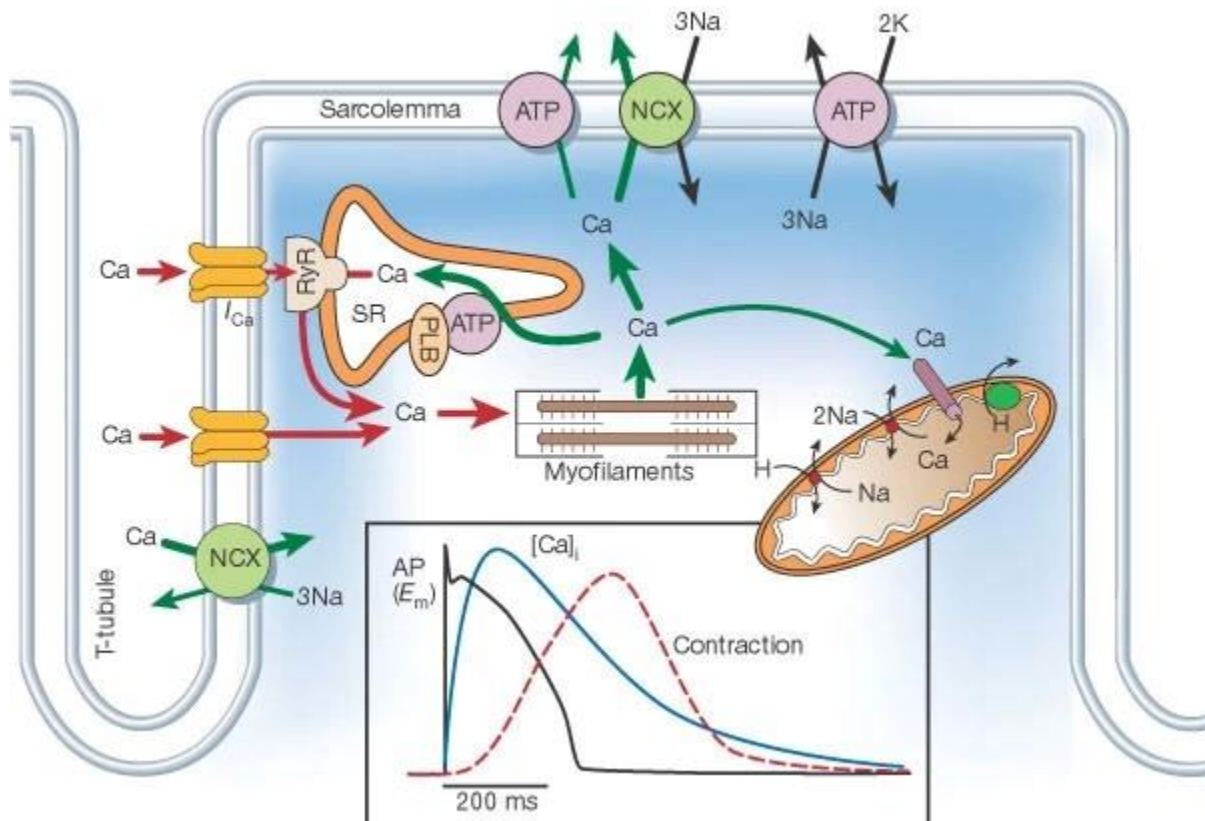


Abbildung 4: Die elektromechanische Kopplung (32).

1.4 Regulierung der myokardialen Kontraktionskraft

1.4.1 Frank-Starling-Mechanismus

Der Frank-Starling-Mechanismus beschreibt einen Kompensationsmechanismus des Herzens bei Druck- und Volumenschwankungen. Es kommt dabei zu Anpassungsvorgängen in der Kontraktilität und somit zu einer Erhöhung des Schlagvolumens des Herzens. Ein erhöhtes enddiastolisches Volumen im Ventrikel (erhöhte Vorlast) führt demnach über eine bessere Vordehnung des Myokards zu einer erhöhten Muskelspannung und zu einem erhöhten Auswurf des Ventrikels. Bei einer erhöhten Druckbelastung in der Ausstrombahn (erhöhte Nachlast) nimmt das Schlagvolumen zunächst ab und es entsteht ein erhöhtes endsystolisches Volumen. Da eine erhöhte endsystolische Füllung zu einer erhöhten diastolischen Füllung führt, steigt auch bei erhöhter Nachlast analog zur erhöhten Vorlast das Schlagvolumen an. Diesem Mechanismus zugrunde liegt zum einen, dass durch ein erhöhtes Füllungsvolumen die Sarkomere gedehnt werden und somit die einzelnen Myofilamente besser überlappen können (33). Zum anderen steigert sich durch die Dehnung die Ca^{2+} -Sensitivität des kontraktiven Apparats (34, 35). Beides resultiert in einer positiven Inotropie des Herzmuskels. In einem gewissen Bereich ist das Myokard also in der Lage auf Druck- oder Volumenschwankungen selbstständig zu reagieren.

1.4.2 Kraft-Frequenz-Verhalten

Das Kraft-Frequenz-Verhalten im gesunden Myokard beschreibt die Zunahme der entwickelten Kontraktilität bei steigender Frequenz. Dieses Phänomen wurde erstmalig 1871 von Bowditch beschrieben und wird deswegen auch Bowditch-Effekt genannt (36). Demnach besteht eine positive Korrelation (positive Kraft-Frequenz-Beziehung) zwischen Frequenzen von 60 bis 180 min^{-1} und der resultierenden Kraftentwicklung. Bei Frequenzen darüber hinaus ist die Kontraktionskraft rückläufig (37). Diese Frequenzinotropie beruht auf einer Zunahme des intrazellulären Ca^{2+} -Spiegels durch einen erhöhten Ca^{2+} -Einwärtsstrom (38).

Im Detail führt eine erhöhte Herzfrequenz konsekutiv zu einer gesteigerten Aktivität von Na^+ - und Ca^{2+} -Kanälen. Folglich steigt die intrazelluläre Konzentration von Na^+ und Ca^{2+} (36, 39). Ein erhöhtes intrazelluläres Na^+ hat zur Folge, dass der NCX aufgrund des geringeren Konzentrationsgradienten verlangsamt arbeitet oder in

seinen „reverse mode“ umgekehrt wird. Dies führt zu einer weiteren Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration. Zusätzlich hat eine erhöhte Herzfrequenz zur Folge, dass für die diastolische Ca^{2+} -Elimination weniger Zeit besteht. Die durch Ca^{2+} aktivierte Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Proteinkinase II δ (CaMKII δ) führt zu einer Phosphorylierung von PLB. Hierdurch wird die inhibitorische Wirkung von PLB auf die Ca^{2+} -Pumpe SERCA aufgehoben. Resultierend ist ein höherer SR- Ca^{2+} -Gehalt (10). All diese Prozesse führen zu einer erhöhten intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration sowie einer gesteigerten SR- Ca^{2+} -Beladung. Hierdurch steht mehr Ca^{2+} für den Querbrückenzyklus zur Verfügung, die Kontraktionskraft steigt.

1.4.3 Post-Pause-Verhalten

Das Post-Pause-Verhalten gibt Aufschluss über den SR- Ca^{2+} -Gehalt und ist somit ein Indikator für Störungen im SR- Ca^{2+} -Handling. Es beschreibt das Verhältnis der ersten Kontraktion nach einer Stimulationspause zu der letzten Kontraktion vor der Stimulationspause (40). In dieser Arbeit wurde mit einer Unterbrechung der elektrischen Stimulation von 30 Sekunden gearbeitet.

Die Stimulationspause ist die Phase der zytosolischen Ca^{2+} -Elimination. Hierbei spielen v.a. die SERCA und der NCX eine tragende Rolle. Im gesunden Myokard kommt es nach der Pause zu einer vermehrten Freisetzung von Ca^{2+} aus dem sarkoplasmatischen Retikulum. Folglich besteht eine positive Post-Pause-Beziehung (41, 42).

Kommt es allerdings aufgrund pathologischer Prozesse zu einer geringeren Aufnahme von Ca^{2+} via SERCA ins SR, zu erhöhter Elimination nach extrazellulär via NCX oder zu diastolischen Ca^{2+} -Leckströmen aus dem SR via RyR2, wie dies beispielsweise beim insuffizienten Herzen und auch bei SBAS bereits beschrieben wurde, so reduziert sich das verfügbare Ca^{2+} für die nächste Kontraktion (41, 43). Die Post-Pause-Beziehung ist folglich negativ.

1.4.4 Stimulation durch das sympathische Nervensystem

Eine weitere Möglichkeit zur Modulation der myokardialen Kontraktionskraft besteht in der Aktivierung des sympathischen Nervensystems. Über Noradrenalin oder Adrenalin werden β_1 -Rezeptoren des Herzens aktiviert. Der β_1 -Rezeptor zählt zu den

Adrenorezeptoren und ist G-Protein-gekoppelt. Im Verlauf der Signalkaskade erfolgt die Aktivierung der Adenylatzyklase, welche zur Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration führt. Durch den second-messenger cAMP wird die Proteinkinase A (PKA) stimuliert, welche mittels Phosphorylierung verschiedene Schlüsselenzyme und Transporter steuert. Durch Phosphorylierung des L-Typ- Ca^{2+} -Kanals und einer resultierenden erhöhten Leitfähigkeit, kommt es zu einem verstärkten Ca^{2+} -Einstrom sowie einer erhöhten Ca^{2+} -induzierten Ca^{2+} -Freisetzung aus dem SR (positiv inotrop) (44). Gleichzeitig steigt die Offenwahrscheinlichkeit des Ryanodinrezeptors, wodurch in der Systole mehr Ca^{2+} ins Zytosol gelangt (positiv inotrop) (44, 45). Durch Phosphorylierung von PLB entfällt die inhibitorische Wirkung auf die SERCA, dem SR werden konsekutiv mehr Ca^{2+} -Ionen zugeführt und somit kann bei folgenden Kontraktionen mehr Ca^{2+} freigesetzt werden (indirekt positiv inotrop und positiv lusitrop) (28, 46).

1.5 Schlafbezogene Atemstörungen

1.5.1 Allgemeines

Die schlafbezogenen Atemstörungen (SBAS) sind charakterisiert durch nächtliche Atemereignisse, sogenannte Apnoen und Hypopnoen, die zu einer Störung des nächtlichen Schlafrhythmus führen (47, 48).

Eine Apnoe ist dabei definiert als eine Reduktion des aufgezeichneten Luftflusses um mindestens 90% ($\geq 90\%$), die mindestens 10 Sekunden andauert (49).

Eine Hypopnoe liegt dagegen bei einer Verminderung des Atemzugvolumens um 30% bis 90% ($\geq 30\text{-}90\%$) für mindestens 10 Sekunden vor. Zusätzlich muss es entweder zu einem Abfall der Sauerstoffsättigung (SO_2) um mindestens 3% kommen oder ein Zusammenhang des Ereignisses mit einem Arousal (Aufwachreaktion des Körpers) bestehen (49).

Aus diesen nächtlichen Schlafereignissen lässt sich der Schweregrad der vorliegenden Atemstörung ableiten. Er wird durch den Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI) ausgedrückt und beschreibt die Anzahl der aufgetretenen Apnoen und Hypopnoen pro einer Stunde Schlaf. Dadurch lässt sich die schlafbezogene Atemstörung in 3 Grade einteilen:

<u>Apnoe/Hypopnoe-Index (Ereignisse/Stunde)</u>	<u>Schweregrad der SBAS</u>
5 - <15	Leichtgradiges Schlafapnoe-Syndrom
15 - <30	Mittelgradiges Schlafapnoe-Syndrom
≥ 30	Schwergradiges Schlafapnoe-Syndrom

Tabelle 3: Einteilung des Schweregrads der schlafbezogenen Atemstörung anhand des AHI (50).

Bei der Klassifikation der schlafbezogenen Atemstörungen lassen sich zwei Arten unterscheiden. Ein obstruktives Schlafapnoesyndrom (OSAS) und ein zentrales Schlafapnoesyndrom (ZSAS), wobei die obstruktive Form deutlich häufiger ist (51, 52). Gemeinsam haben beide, dass es zur Ausbildung von Apnoen und Hypopnoen kommt, in ihrer Pathophysiologie dagegen unterscheiden sie sich grundlegend.

1.5.2 Zentrale Schlafapnoe

Die zentrale Form der schlafbezogenen Atemstörungen ist durch eine mangelnde Stimulation des zentralen Atemzentrums mit Ausbleiben des Atemantriebs gekennzeichnet. Es kommt zu Apnoe- und Hypopnoe-Ereignissen, allerdings fehlt jegliche Atemanstrengung und es ist keine Obstruktion der oberen Atemwege vorhanden (im Gegensatz zum OSAS) (53). Definiert ist die ZSA durch das Auftreten von mindestens 5 zentralen Ereignissen (Apnoen und Hypopnoen) pro Stunde Schlaf (54). Die zentrale Schlafapnoe kann auch gleichzeitig mit einer Cheyne-Stokes-Atmung auftreten. Charakteristisch ist hierbei ein klassisches „Crescendo-Decrescendo-Muster“ der Atmung (49, 52). Assoziiert mit dem Auftreten einer ZSA mit und ohne Cheyne-Stokes-Atmung sind kardiale Komorbiditäten, v.a. Herzinsuffizienz und Vorhofflimmern. Weitere Risikofaktoren sind männliches Geschlecht, Alter, Niereninsuffizienz und Schlaganfall (55–57). In der „Sleep Heart Health Studie“, welche die Prävalenz und Charakteristika von ZSA vergleichend zu OSA in einer Kohorte von 5804 Patienten untersuchte, zeigte sich eine Prävalenz der ZSA von 0,9% unter den 40-Jährigen und älter (52).

1.5.3 Obstruktive Schlafapnoe

Die obstruktive Form der schlafbezogenen Atemstörungen geht mit einer repetitiven Obstruktion der oberen Atemwege durch Kollaps der Pharynxmuskulatur während des Schlafes einher. Apnoe- und Hypopnoephasen sind die Folge, welche wiederum in Hypoxie und Hyperkapnie resultieren. Da allerdings, im Vergleich zur zentralen Form, der Atemantrieb erhalten ist, sind Atemanstrengungen detektierbar (50, 58). Als wichtigster Risikofaktor für die Entstehung einer OSA wird Übergewicht beschrieben. Fetteinlagerungen im Halsbereich führen zu einer Halsumfangsvermehrung und konsekutiv zu Obstruktionen der oberen Atemwege (59, 60). Weitere begünstigende Faktoren sind Alter, männliches Geschlecht, positive Familienanamnese und eine prädisponierende Anatomie (z.B. Tonsillenhypertrophie, Septumdeviation) (55, 61). Dies führt zu Symptomen wie Schnarchen, Tagesschläfrigkeit, morgendliche Kopfschmerzen, Konzentrationsschwierigkeiten und sog. „Arousals“. Diese Arousals stellen Aufwachreaktionen des Körpers und somit Unterbrechungen der Schlafphase dar, was in einer Verringerung der Lebensqualität resultiert (50).

1.5.4 Diagnostik und Therapie

Besteht aufgrund einer schlafmedizinischen Anamnese der Verdacht auf eine schlafbezogene Atemstörung, so wird eine Schlafuntersuchung durchgeführt. Hierbei erhält der Patient zunächst eine Polygraphie, welche ambulant durchgeführt werden kann. Die folgenden Parameter können dabei erfasst werden: Atemfluss, Atempausen, Sauerstoffsättigung im Blut, Atembewegungen von Thorax und Bauch, Schnarchgeräusche und Schlafdauer. Wird dadurch der Verdacht auf eine SBAS bestätigt, erfolgt eine Polysomnographie im Schlaflabor. Bei dieser Untersuchung können zusätzlich EEG-Daten zur Einteilung in Schlafphasen, EOG-Daten zur Erfassung der REM-Phasen, EMG-Daten zur Detektion der Muskelaktivität im Schlaf, sowie EKG- und Blutdruckdaten erhoben werden (50, 62).

Werden bei SBAS-Patienten $\geq 50\%$ zentrale Ereignisse detektiert, so wird eine zentrale Schlafapnoe diagnostiziert. Liegen $< 50\%$ zentrale Apnoen vor, so erfolgt die Zuteilung zur Gruppe der obstruktiven Schlafapnoe (63).

Im Zentrum der Therapie steht die Behandlung der Grunderkrankung. Zudem stellt die Reduzierung von Risikofaktoren, insbesondere die Gewichtsreduktion, einen weiteren wichtigen Therapiebaustein dar. Auch Nikotin- und Alkoholkarenz sowie Schlafhygiene

spielen eine wichtige Rolle (64). Aktueller Goldstandard der Therapie des OSAS ist die Überdruckbehandlung mittels nCPAP (nasal continuous positive airway pressure). Hierbei werden die oberen Atemwege durch Drücke zwischen 4 bis 20 cm H₂O offengehalten (65). Für den Therapieerfolg ist die Patientencompliance von enormer Wichtigkeit. Diese ist allerdings aufgrund von Nebenwirkungen und Störfaktoren teilweise eher gering (8, 66, 67).

1.6 Vorhofflimmern und zelluläre Arrhythmogenese

1.6.1 Vorhofflimmern

Das Vorhofflimmern wird durch ungeordnete Vorhofkontraktionen charakterisiert und ist die am häufigsten auftretende Herzrhythmusstörung. In Deutschland sind etwa 2,5% der Menschen im Alter von 35 bis 74 Jahren betroffen, wobei die Prävalenz mit steigendem Alter zunimmt. Männer sind dabei häufiger betroffen als Frauen (68). Die demographische Entwicklung zu einer immer älter werdenden Gesellschaft und das vermehrte Auftreten von Risikofaktoren, wie Übergewicht, Diabetes und Bluthochdruck, führen zu einer insgesamt steigenden Prävalenz von Vorhofflimmern in der Bevölkerung (69, 70).

Die Klassifikation des Vorhofflimmerns erfolgt anhand von Häufigkeit und Dauer des Auftretens in die folgenden fünf Kategorien:

Kategorie	Beschreibung
erstdiagnostiziert	VHF zuvor unbekannt, unabhängig von Dauer und Symptomen
paroxysmal	innerhalb von 48 Stunden bis maximal 7 Tagen in den Sinusrhythmus konvertiert, spontan oder durch Kardioversion
persistierend	länger als 7 Tage andauernd, spontan oder durch Kardioversion in den Sinusrhythmus konvertiert
langanhaltend persistierend	länger als 1 Jahr andauernd, bevor Entscheidung über Rhythmuskontrolle erfolgt
permanent	anhaltendes, therapieresistentes Vorhofflimmern

Tabelle 4: Klassifikation des Vorhofflimmerns (70).

In der Klinik zeigen sich 1/3 der Patienten asymptomatisch, bei den restlichen 2/3 sind Palpitationen und unregelmäßiger Puls, Belastungsdyspnoe, Müdigkeit und Benommenheit die klassischen Symptome (70, 71).

Bei der Diagnostik spielt vor allem die Untersuchung mittels EKG eine zentrale Rolle. Charakteristisch sind hierbei fehlende P-Wellen mit stattdessen auftretenden Flimmerwellen, unregelmäßige RR-Intervalle („Arrhythmia absoluta“) und schmale QRS-Komplexe (70).

Bei der Therapie stehen drei Prinzipien im Vordergrund. Primär gilt es, potenzielle thromboembolische Ereignisse zu verhindern, indem Maßnahmen zur Thromboembolieprophylaxe ergriffen werden. Aufgrund der durch ineffektive Kontraktionen des linken Vorhofs resultierenden turbulenten Strömung wird eine Thrombenbildung in diesem Bereich begünstigt. In der Folge kann es zur Einschwemmung eines Thrombus ins Gehirn kommen, was wiederum zu einem ischämischen Schlaganfall führen kann. Nach Bewertung des Schlaganfallrisikos durch den CHA₂DS₂-VASc-Score wird bei einer positiven Einschätzung in der Regel eine Antikoagulation, heute meist mit direkten oralen Antikoagulanzen (DOAKs), durchgeführt (70, 72).

Als zweites Therapieprinzip gilt die Frequenzkontrolle. Hierbei wird verzichtet, das Vorhofflimmern zu beenden, es wird vielmehr auf die Umwandlung in ein normofrequentes Flimmern abgezielt. Mittel der 1. Wahl sind β -Blocker, welche negativ dromotrop am AV-Knoten wirken (70, 72).

Die Rhythmuskontrolle ist das dritte Therapieprinzip, welches anstrebt, das bestehende Vorhofflimmern in den Sinusrhythmus zu konvertieren. Man unterscheidet die elektrische Rhythmuskontrolle von der medikamentösen Rhythmuskontrolle. Es muss darauf geachtet werden, dass die Konversion von VHF in den Sinusrhythmus ein Triggerereignis für Thromboembolien darstellt (70, 72).

Als zusätzlicher Pfeiler der Therapie gilt die Modifikation von Risikofaktoren. Dazu gehören unter anderem Bluthochdruck, Diabetes mellitus, Übergewicht und auch schlafbezogene Atemstörungen (70, 72, 73).

1.6.2 Zelluläre Arrhythmogenese

Herzrhythmusstörungen, wie dem Vorhofflimmern, liegen Störungen in der regelrechten Erregungsbildung und Erregungsleitung zugrunde. Verursacht werden

diese zum einen durch strukturell inaktive Myokardanteile (z.B. Narbe nach Myokardinfarkt) und zum anderen durch elektrophysiologische Dysregulationen, wie beispielsweise einer Veränderung der Aktionspotentialdauer oder der Ca^{2+} - und Na^{+} -Homöostase (74, 75).

1.6.2.1 Arrhythmogenität des SR- Ca^{2+} -Lecks

Als SR- Ca^{2+} -Leck werden Ca^{2+} -Freisetzungen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum während der Diastole bezeichnet. Dieser Prozess ist abhängig von der Öffnungswahrscheinlichkeit des Ryanodinrezeptors (RyR2) (76). Das SR- Ca^{2+} -Leck hat sowohl Auswirkungen auf die Kontraktilität, da in der Systole weniger Ca^{2+} vorhanden ist, als auch auf die Arrhythmogenese. Diesbezüglich konnte bereits gezeigt werden, dass diastolische SR- Ca^{2+} -Verluste eine wesentliche Rolle bei der Pathophysiologie des Vorhofflimmerns spielen (77, 78).

Im Detail bedeutet dies, dass durch den diastolischen Ca^{2+} -Verlust aus dem SR die diastolische Ca^{2+} -Konzentration im Zytosol erhöht ist. In Folge kommt es zu einem arrhythmogenen transienten Einwärtsstrom (transient inward current). Für diesen hauptverantwortlich ist der Na^{+} - Ca^{2+} -Austauscher (NCX) (79). Im Vorwärtsmodus transportiert dieser ein Ca^{2+} -Ion im Austausch gegen 3 Na^{+} -Ionen nach extrazellulär, sodass es zu einem Einwärtsstrom positiver Ladungen kommt (elektrogener Transport). Es konnte bereits gezeigt werden, dass die NCX-Aktivität bei Vorhofflimmern erhöht ist (77). Somit erhöht sich NCX-vermittelt der transiente Einwärtsstrom und es kann zur Depolarisation der Zelle kommen. Diese fällt in die Phase nach abgeschlossener Repolarisation der Zelle, man spricht deshalb von einer späten Nachdepolarisation (delayed afterdepolarization, DAD). DADs gelten somit als Trigger für irreguläre APs und fokale Arrhythmien (77).

1.6.2.2 Arrhythmogenität eines erhöhten $I_{\text{Na, late}}$

Ein weiterer Aspekt, der zu einer erhöhten Arrhythmogenität im Vorhof beiträgt, ist der späte Na^{+} -Strom ($I_{\text{Na, late}}$). Dieser bezeichnet einen konsistenten Na^{+} -Strom in die Zelle über die komplette Dauer des Aktionspotentials (75, 80, 81). Er führt so zu einer Verlängerung des Aktionspotentials und erhöht die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von frühen Nachdepolarisationen (early afterdepolarizations, EADs). Dies

sind Nachdepolarisationen, die in die Phase der Repolarisation fallen (82, 83). Gleichzeitig führt ein erhöhter später Na^+ -Strom zu einer Erhöhung der intrazellulären Na^+ -Konzentration. Über den Rückwärtsmodus (reverse mode) des NCX kommt es zu einer Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration (Ca^{2+} -Überladung). Das im Zytosol befindliche Ca^{2+} induziert über eine erhöhte Offenwahrscheinlichkeit des RyR2 arrhythmogene Ca^{2+} -Freisetzungen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum (Ca^{2+} -induzierte Ca^{2+} -Freisetzung). Es kommt zu einer indirekten Vergrößerung des SR- Ca^{2+} -Lecks, was den depolarisierenden Einwärtsstrom fördert und zur Entwicklung von späten Nachdepolarisationen (DADs) beiträgt (77, 84, 85).

1.7 Interaktion SBAS mit Vorhofflimmern

Es konnte bereits gezeigt werden, dass Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen vermehrt zur Entwicklung von Vorhofflimmern neigen (6). Zusätzlich kommt es bei unbehandelten SBAS zu einer erhöhten Rate an wiederkehrendem Vorhofflimmern nach erfolgter elektrischer Kardioversion oder Pulmonalvenenisolation (86). Prinzipiell gibt es verschiedene Charakteristika bei SBAS, welche Arrhythmien begünstigen können.

Zum einen führen die wiederkehrenden Phasen von obstruktiven Apnoen und Hypopnoen zu intrathorakalen Druckschwankungen. Der Körper versucht den kollabierten oberen Atemwegen durch den vermehrten Einsatz der Atemhilfsmuskulatur entgegenzuwirken. Die dadurch erhöhten negativen intrathorakalen Druckverhältnisse führen zu einem gesteigerten venösen Rückfluss zum Herzen und einer erhöhten atrialen Vorlast. Konsekutiv erhöht sich somit die transmurale Wandspannung (87, 88).

Zum anderen kommt es durch die rezidivierenden Apnoen und Hypopnoen zu Aufwachreaktionen (sog. Arousals), welche durch einen erhöhten Sympathikotonus charakterisiert sind. Der gesteigerte Sympathikus fällt dabei nicht nur bei einer Schlafapnoe-Episode, sondern auch tagsüber auf (88–90).

Ein weiterer Mechanismus besteht in der intermittierenden Hypoxie. Zyklische Phasen von Hypoxie mit anschließender Reoxygenierung führen zur Ausbildung von freien Sauerstoffradikalen (ROS, reactive oxygen species) als Marker für oxidativen Stress (88, 91).

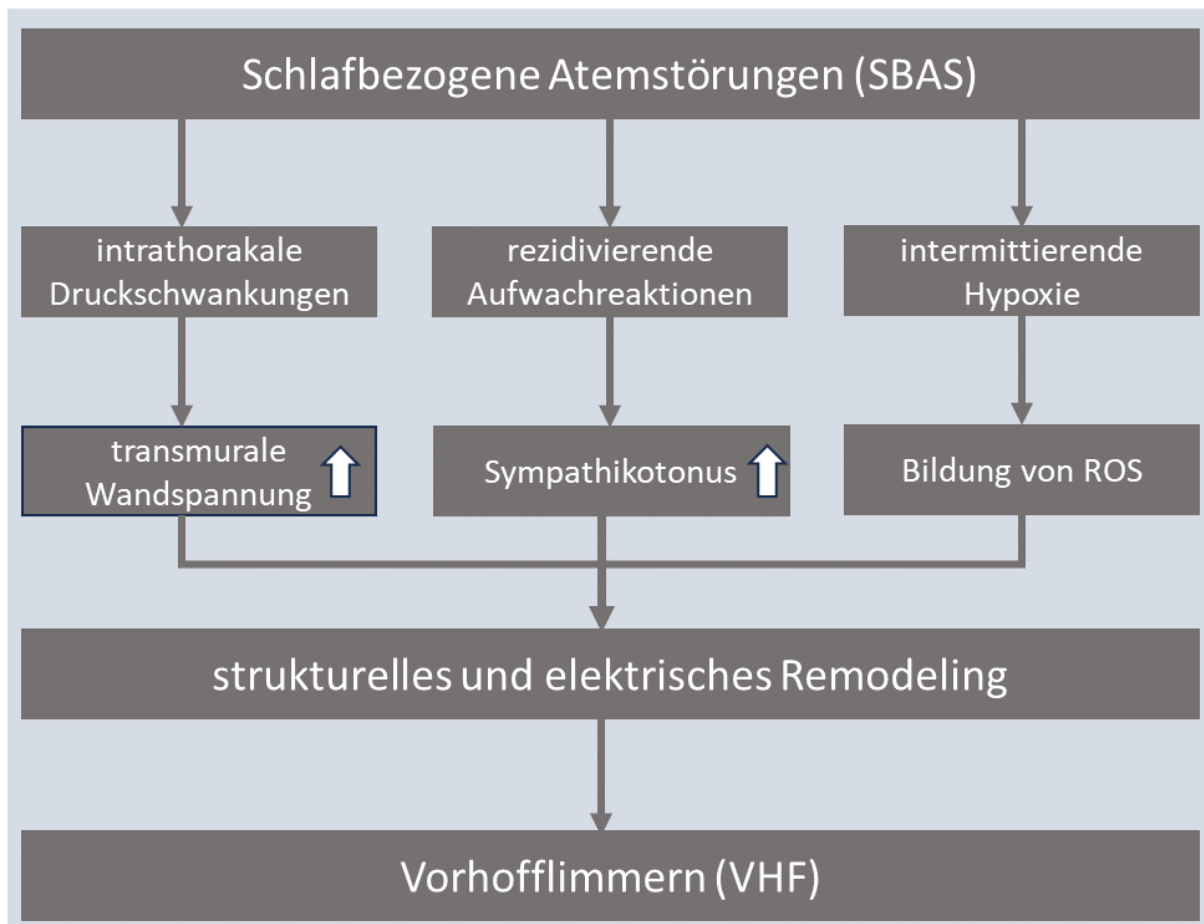


Abbildung 5: Interaktion zwischen SBAS und VHF. Charakteristische Mechanismen bei schlafbezogenen Atemstörungen, die Vorhofflimmern begünstigen können.

Die repetitiven obstruktiven Ereignisse und die damit einhergehenden Apnoen bzw. Hypopnoen können langfristig über wiederholte Vorhofdehnung zu Myokardschäden führen. Gleichzeitig triggern reaktive Sauerstoffspezies die Entstehung von Gefäßentzündungen (92, 93). Folglich können sich langfristig erneut Myokardschäden entwickeln. Zusammenfassen lassen sich diese Entwicklungen unter dem Begriff des strukturellen Remodelings. Bekanntermaßen geht dies mit einem erhöhten Risiko für Vorhofflimmern einher (94).

Ein Remodeling findet auch auf elektrophysiologischer Ebene statt. Von besonderem Interesse ist hierbei die Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Proteinkinase II δ (CaMKII δ), ein Schlüsselenzym der elektromechanischen Kopplung (95). Interessanterweise führen alle im oberen Abschnitt genannten Mechanismen zu einer gesteigerten CaMKII δ -Aktivität (96, 97). Folglich zeigte sich auch eine signifikant erhöhte CaMKII δ -Aktivität bei Patienten mit SBAS im Vergleich zu Patienten ohne SBAS (43). Eine gesteigerte

CaMKII δ -Aktivität führt über ein vermehrtes Auftreten von EADs, DADs sowie einem vergrößertem SR-Ca²⁺-Leck zu atrialen Arrhythmien (43, 78). Genauere pathophysiologische Prozesse einer erhöhten CaMKII δ -Aktivität werden im Kapitel 1.8.4 behandelt. Abbildung 5 fasst die wichtigsten Mechanismen zusammen.

1.8 Die Ca²⁺/Calmodulin-abhängige Proteinkinase II

1.8.1 Allgemeines und Struktur

Die Ca²⁺/Calmodulin-abhängige Proteinkinase II δ (CaMKII δ) ist eine Serin-Threonin-Proteinkinase, die in zahlreiche Stoffwechselforgänge des Körpers involviert ist. Sie existiert in vier verschiedenen Isoformen (α , β , γ , δ), wobei insbesondere die δ -Form (CaMKII δ) im Herzen vorherrscht (98, 99).

Die Struktur des Enzyms besteht aus zwei aufeinander liegenden hexameren Ringen. Jeder Ring wiederum setzt sich aus sechs Untereinheiten zusammen. Jede Untereinheit besteht aus drei verschiedenen Domänen: einer katalytischen Domäne am N-Terminus, gefolgt von einer regulatorischen Domäne und einer am C-Terminus lokalisierten Assoziationsdomäne. Die katalytische und die regulatorische Domäne sind nach außen gerichtet, während die Assoziationsdomänen nach innen zeigen und gemeinsam den hexameren Ring bilden (99, 100).

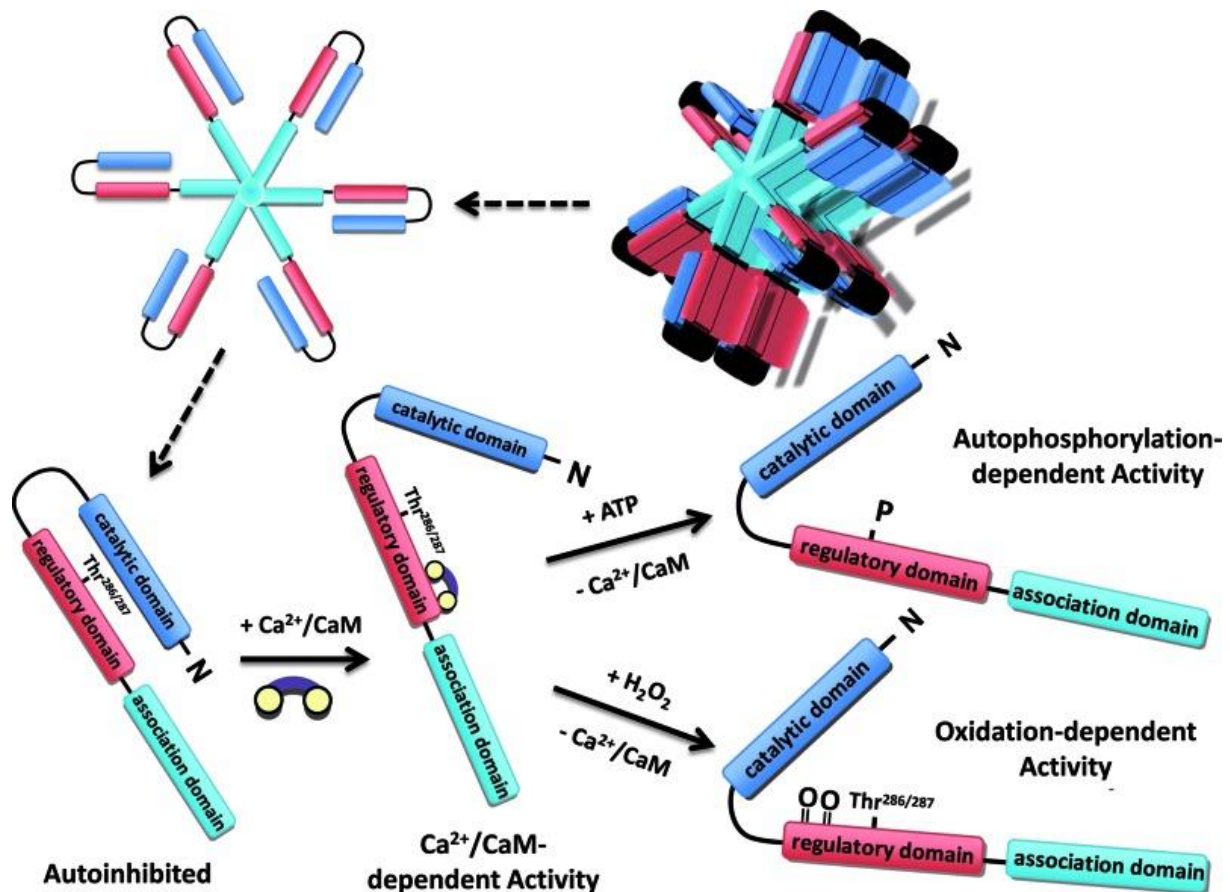


Abbildung 6: Struktur und Aktivierungswege der CaMKIIδ (100).

1.8.2 Regulation

Im **Grundzustand** ist die CaMKIIδ durch Autoinhibition inaktiv. Dies entspricht der Bindung der regulatorischen Domäne an die katalytische Domäne (99).

Eine **Aktivierung** der CaMKIIδ erfolgt durch Ca²⁺/Calmodulin-Bindung. Der Komplex bindet an die regulatorische Domäne und bewirkt so eine Konformationsänderung. Die katalytische Untereinheit löst sich von der regulatorischen Untereinheit und ist so in der Lage andere Proteine zu phosphorylieren. Die Ca²⁺/Calmodulin-abhängige Kinase ist nun aktiv (99).

Die Aktivierung der CaMKIIδ ist also in großem Maße vom Ca²⁺-Gehalt der Zelle abhängig.

Dennoch gibt es weitere Aktivierungswege, die eine Aufrechterhaltung der Aktivierung auch nach dem Abdissoziieren des Ca²⁺/Calmodulin-Komplexes ermöglichen. Aufgrund der engen Verbindung der katalytischen Domänen der verschiedenen

Untereinheiten des Enzyms können sich diese gegenseitig an Threonin 287 phosphorylieren (Autophosphorylierung von Threonin 287). Es besteht auch die Möglichkeit, die CaMKII δ durch Oxidation an Methionin 281 und 282 zu aktivieren. Dies tritt in Gegenwart von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) im Rahmen von oxidativem Stress auf (96, 101).

Ein weiterer wichtiger Aktivierungsweg ist die β -adrenerge Aktivierung. β -Agonisten führen zu einer Aktivierung der Adenylatcyclase. Über einen gesteigerten cAMP-Spiegel wird die Proteinkinase A aktiviert, welche durch Phosphorylierung von PLB, RyR und L-Typ-Ca²⁺-Kanälen zu einem gesteigerten Ca²⁺-Einstrom in die Zelle führt. Ein erhöhtes Ca²⁺-Angebot in der Zelle führt zur Aktivierung der CaMKII δ (97, 102). Allen Aktivierungswegen gemein ist die Blockade der autoinhibitorischen Bindungsstelle und dem daraus resultierenden Bestehenbleiben der Aktivierung.

Die **Inaktivierung** der CaMKII δ erfolgt durch Phosphatasen (Aufhebung der Phosphorylierung) und durch die Methionin-Sulfoxid-Reduktase A (Aufhebung der Oxidation). Zudem ist es möglich die CaMKII δ durch Phosphorylierung des Enzyms an Threonin 306 zu inaktivieren. Die CaMKII δ wird dadurch insensitiv gegenüber einer Ca²⁺/Calmodulin-Bindung (98, 99).

Eine pharmakologische Inhibition ist zum Beispiel mit KN93 oder mit AIP über eine kompetitive Inhibition der CaMKII δ möglich. AIP scheint dabei ein deutlich spezifischerer und potenterer Inhibitor im Vergleich zu KN93 zu sein (103).

1.8.3 Funktion

Die CaMKII δ ist von zentraler Bedeutung für den Zellstoffwechsel des Körpers und agiert durch Phosphorylierung zahlreicher Proteine. Die Proteinkinase nimmt Einfluss auf die Regulation der elektromechanischen Kopplung sowie auf zahlreiche Ionenkanäle. Dadurch beeinflusst sie den Ca²⁺-Haushalt, den Na⁺-Haushalt und auch den K⁺-Haushalt (99, 104).

Im Ca²⁺-Haushalt phosphoryliert die CaMKII δ den sarkolemmalen L-Typ-Ca²⁺-Kanal an verschiedenen Stellen und führt so zu einem erhöhten Ca²⁺-Einstrom (I_{Ca}) in die Zelle. Ferner wird der Ryanodin-Rezeptor des SR beeinflusst. Die CaMKII δ -abhängige Phosphorylierung an Serin 2814 führt zu einer erhöhten diastolischen Offenwahrscheinlichkeit des Kanals und somit zu einer erhöhten zytosolischen Ca²⁺-

Konzentration. Des Weiteren interagiert die Proteinkinase mit PLB. Der inhibitorischen Wirkung von PLB auf die SERCA wird durch CaMKII δ -Phosphorylierung entgegengewirkt. Durch gesteigerte Aktivität der SERCA kommt es zur erhöhten Wiederaufnahme von Ca²⁺ in das SR und somit zu einer beschleunigten Relaxation (99, 105).

Neben den beschriebenen Auswirkungen der CaMKII δ auf den Ca²⁺-Haushalt hat das Enzym ebenso Einfluss auf weitere Ionenkanäle der Zellmembran. Über Phosphorylierung spannungsgesteuerter Na⁺-Kanäle hat es Auswirkungen auf den Na⁺-Haushalt. Und auch von einer Beeinflussung des K⁺-Haushalts und somit Einwirkung auf die Repolarisation der Herzmuskelzelle ist auszugehen (98).

1.8.4 Pathophysiologie

Kommt es aufgrund pathologischer Prozesse im Herzen zu einer erhöhten CaMKII δ -Expression bzw. -Aktivität, so laufen die unter Punkt 1.8.3 erläuterten Mechanismen in einem pathologischen Ausmaß ab. Die Folge sind ein gestörter Ca²⁺-, Na⁺- und K⁺-Haushalt sowie eine erhöhte Neigung zur Ausbildung und Aufrechterhaltung von Arrhythmien (104).

Durch die erhöhte Offenwahrscheinlichkeit des RyR2 kommt es zum sog. SR-Ca²⁺-Leck (siehe Kapitel 1.6.2.1) und einer konsekutiv erhöhten zytosolischen Ca²⁺-Konzentration, welche durch die gesteigerte Aktivierung des L-Typ-Ca²⁺-Kanals durch die CaMKII δ noch verstärkt wird. Durch den veränderten intrazellulären Ca²⁺-Spiegel wird der elektrogene NCX aktiviert, der die Ca²⁺-Ionen im Austausch gegen Na⁺-Ionen aus der Zelle befördert. Dies kann zu der Entstehung von späten Nachdepolarisationen (DADs) und Arrhythmien beitragen (98, 99).

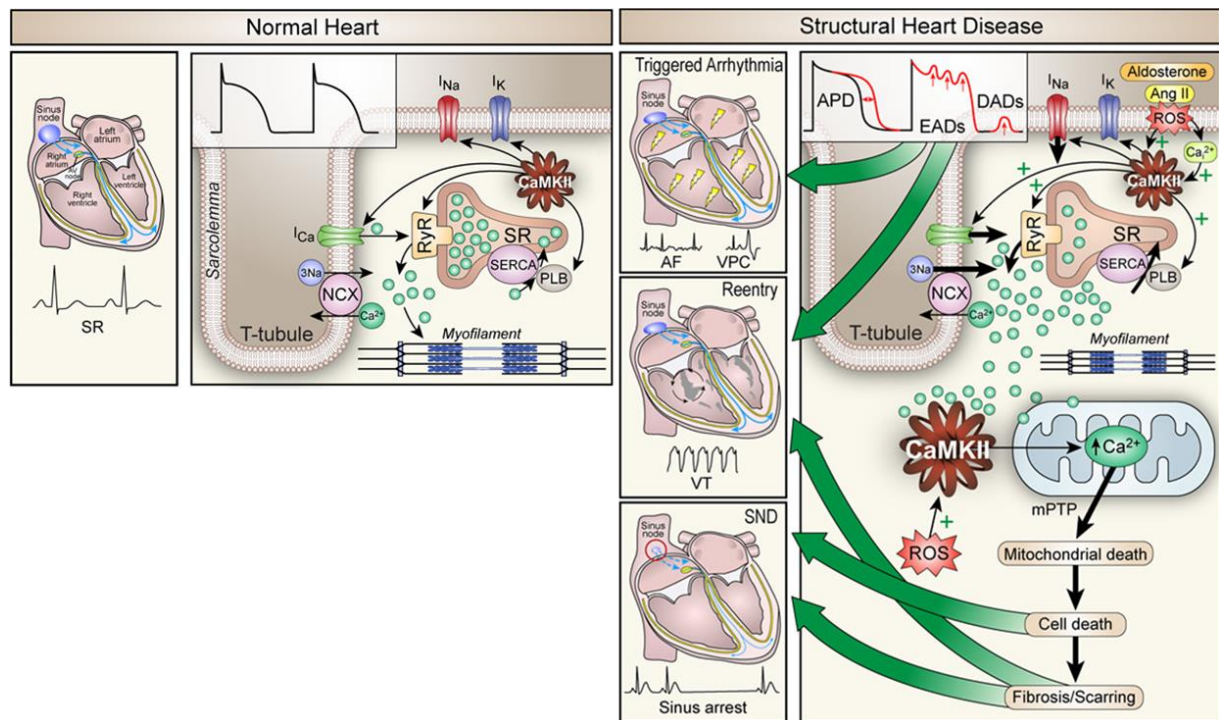


Abbildung 7: Einflusswege der CaMKIIδ. Der Rolle der CaMKIIδ im gesunden Herzen und im pathologisch veränderten Herzen (99).

Durch die Phosphorylierung des spannungsgesteuerten Na^+ -Kanals Nav1.5 durch die CaMKIIδ kommt es zu einem gesteigerten $I_{Na, late}$ (siehe Kapitel 1.6.2.2). Dieser wirkt über die Entstehung von frühen Nachdepolarisationen (EADs) sowie über die Verlängerung der Aktionspotentialdauer arrhythmogen. Gleichzeitig triggert die durch den erhöhten $I_{Na, late}$ entstehende erhöhte intrazelluläre Na^+ -Konzentration über den „reverse mode“ des NCX die bereits erläuterten Mechanismen der zytosolischen Ca^{2+} -Überladung der Zelle (106).

Interessanterweise konnte kürzlich gezeigt werden, dass auch der neuronale Na^+ -Kanal Nav1.8 im Herzen präsent ist. Dieser trägt ebenfalls CaMKIIδ-abhängig zum $I_{Na, late}$ und somit auch zur Arrhythmogenese bei (85, 107).

Auch beim K^+ -Haushalt lassen sich Effekte einer pathologisch erhöhten CaMKIIδ-Expression feststellen. Der I_{to} , ein K^+ -Kanal, der zur frühen AP-Repolarisation beiträgt, und der I_{K1} , ein K^+ -Kanal, der das Ruhemembranpotential stabilisiert, werden beide durch die CaMKIIδ in Richtung proarrhythmogener Aktivität beeinflusst (98).

Die durch die Überaktivierung der CaMKIIδ verursachte erhöhte Konzentration von Ca^{2+} im Zytosol führt zusätzlich zu einer verstärkten Aufnahme von Ca^{2+} in die Mitochondrien. Dies wiederum resultiert in einem Absterben der Mitochondrien und letztendlich im Zelltod. Der Ersatz der toten Zellen durch Narbengewebe beeinträchtigt

jedoch die elektrische Weiterleitung und trägt somit zu einer erhöhten Arrhythmie neigung bei (99, 108).

Eine CaMKII δ -Überexpression bzw. -Überaktivität konnte bisher mit dem pathologischen Umbau des Herzens im Rahmen fortschreitender Herzinsuffizienz sowie Vorhofflimmern assoziiert werden (77, 78, 98, 107).

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass auch Patienten mit SBAS eine erhöhte CaMKII δ -Expression und -Aktivität aufweisen (43).

1.8.5 CaMKII δ und SBAS

SBAS sind, wie im Kapitel 1.7 beschrieben, assoziiert mit intrathorakalen Druckschwankungen, wiederkehrenden Aufwachreaktionen und intermittierender Hypoxie, resultierend in einer erhöhten β -adrenergen Aktivierung sowie einer erhöhten ROS-Produktion. Diese Faktoren konnten bereits mit einer gesteigerten CaMKII δ -Aktivität in Verbindung gebracht werden (96, 97).

In einer aktuellen Studie von LEBEK et al. wurde eine erhöhte CaMKII δ -Expression und -Aktivität in Vorhofmyokardproben von Patienten mit SBAS im Vergleich zu Patienten ohne SBAS nachgewiesen. Gleichzeitig konnte eine gesteigerte ROS-Produktion als ein wesentlicher auslösender Faktor bei SBAS-Patienten festgestellt werden. Beide, CaMKII δ -Expression und ROS-Produktion, korrelierten unabhängig von bereits bestehender Herzinsuffizienz oder Vorhofflimmern mit dem Schweregrad der SBAS (43).

Die im Abschnitt 1.8.4 erläuterten pathologischen Prozesse, die mit einer erhöhten CaMKII δ -Aktivität einhergehen, treten im Kollektiv der schlafbezogenen Atemstörungen also verstärkt auf und tragen so wesentlich zur gesteigerten Arrhythmie neigung dieser Patienten bei.

1.9 Na⁺-Stoffwechsel des Herzens

Der Na⁺-Stoffwechsel eines Kardiomyozyten ist von essenzieller Bedeutung für die Generierung des Aktionspotentials sowie für die Weiterleitung elektrischer Impulse. Durch den durch die Na⁺/K⁺-ATPase aufrecht erhaltenen Konzentrationsgradienten stellt der Na⁺-Stoffwechsel zudem eine wichtige Triebkraft für zahlreiche Transportmechanismen und somit für die Aufrechterhaltung der Zellfunktion dar. Die

enge Verknüpfung des Na^+ -Stoffwechsels mit dem Ca^{2+} -Stoffwechsel, v.a. durch die Wirkung des NCX, wurde in dieser Arbeit bereits erläutert (10, 31).

1.9.1 Relevante Na^+ -Ströme des Herzens

Über die Öffnung von spannungsabhängigen Na^+ -Kanälen beim Eintreffen eines Aktionspotentials kommt es zum Einstrom von Na^+ -Ionen in die Zelle, was zu ihrer Depolarisation führt. In Kardiomyozyten sind während des gesamten Aktionspotentials in erster Linie 2 Na^+ -Ströme relevant.

Führt ein AP zur Öffnung der Kanalporen, so kommt es aufgrund des hohen Konzentrationsgefälles für Na^+ zu einem raschen Einstrom in die Zelle. Dieser schnelle und rasch wieder inaktivierte (ca. 1-10 ms) Na^+ -Strom wird als **Spitzen- Na^+ -Strom ($I_{\text{Na, peak}}$)** bezeichnet und ist verantwortlich für den schnellen Aufstrich des Aktionspotentials. Der $I_{\text{Na, peak}}$ wird größtenteils durch den spannungsgesteuerten Na^+ -Kanal Nav1.5 generiert und nimmt durch das schnelle Schließen der Kanäle bei fortschreitender Depolarisation schnell wieder ab (10, 104).

Ein kleiner Anteil an Na^+ -Kanälen bleibt über das gesamte AP hinweg aktiv. Dieser in seiner Amplitude deutlich kleinere, aber zeitlich deutlich längere (ca. 300-400 ms) Na^+ -Strom wird **später Na^+ -Strom ($I_{\text{Na, late}}$)** genannt (109, 110). Obwohl der $I_{\text{Na, late}}$ unter physiologischen Bedingungen weniger als 1% des gesamten I_{Na} ausmacht, trägt er aufgrund seiner langen Dauer dennoch maßgeblich zur intrazellulären Na^+ -Konzentration bei (110, 111). Unter diversen pathologischen Bedingungen ist der $I_{\text{Na, late}}$ stark erhöht, was zu einer Verlängerung des AP und einer erhöhten intrazellulären Na^+ -Konzentration führt (104, 112). Diese Mechanismen wirken, wie bereits beschrieben, proarrhythmogen.

1.9.2 Spannungsabhängige Na^+ -Kanäle des Herzens

Spannungsgesteuerte Na^+ -Kanäle (Nav-Kanäle) sind Transmembranproteine, welche durch ihre schnelle spannungsabhängige Aktivierung, ihre schnelle Inaktivierung und ihre hohe Selektivität für Na^+ -Ionen gekennzeichnet sind (113). Sie bestehen aus mehreren Untereinheiten. Die α -Untereinheit stellt dabei die Pore dar, durch welche Na^+ -Ionen von extrazellulär nach intrazellulär fließen können. Zusätzlich liegen eine oder mehrere β -Untereinheiten vor. Diese sind für die Funktion des Kanals nicht

zwingend erforderlich, haben jedoch eine regulatorische Wirkung auf die α -Untereinheit (114, 115).

Beim Menschen sind bisher 9 verschiedene Nav-Kanäle bekannt (Nav1.1 – Nav1.9). Die Gene *SCN1A-5A*, *SCN8A-11A* codieren dabei für die jeweilige α -Untereinheit. Als Klassifizierungsmerkmal der jeweiligen Nav-Kanäle gilt die Sensitivität gegenüber dem Kugelfischtoxin Tetrodotoxin (TTX) (116, 117).

1.9.2.1 Nav1.5

Der spannungsgesteuerte Na⁺-Kanal Nav1.5 wird durch das Gen *SCN5A* codiert und ist der prädominante Nav-Kanal im Herzen. Er gilt als TTX-insensitiv (116, 117).

Die α -Untereinheit des Nav1.5 besteht aus 4 homologen Domänen (I-IV). Jede Domäne beinhaltet 6 α -Helix-Segmente (S1-S6). Die Segmente S5 und S6 bilden dabei die Ionen-durchlässige Pore. Daran assoziiert sind die extrazellulären P-Segmente, welche den Ionenselektivitätsfilter des Kanals darstellen. Das S4-Segment enthält positive Ladungen und fungiert als Spannungssensor, der bei Depolarisation die Kanalaktivierung induziert. Aufgrund des vorherrschenden Ruhemembranpotenzials von -85 mV ist das positiv geladene S4-Segment nach intrazellulär gerichtet. Ändert sich bei Membran-Depolarisation die Spannung, wird der Spannungssensor nach extrazellulär gezogen und induziert durch diese Konformationsänderung die Öffnung der Pore (Segment 5 und 6). Die schnelle Inaktivierung des Nav1.5 erfolgt über die sog. IFM-Region. Diese liegt zwischen Domäne III und IV. Über die Bindung an die Pore verschließt sie diese von intrazellulär und unterbricht so den Ioneneinstrom (114–116).

Die β -Untereinheit des Nav1.5 besteht aus einem kleinen intrazellulären C-Terminus, einem transmembranen Mittelteil sowie einem großen extrazellulären N-Terminus. Durch ihre räumliche Nähe interagiert sie mit den Domänen I und VI der α -Untereinheit und hat eine modulatorische Wirkung auf diese. An der Bildung des Porenkomplexes ist sie allerdings nicht beteiligt (118).

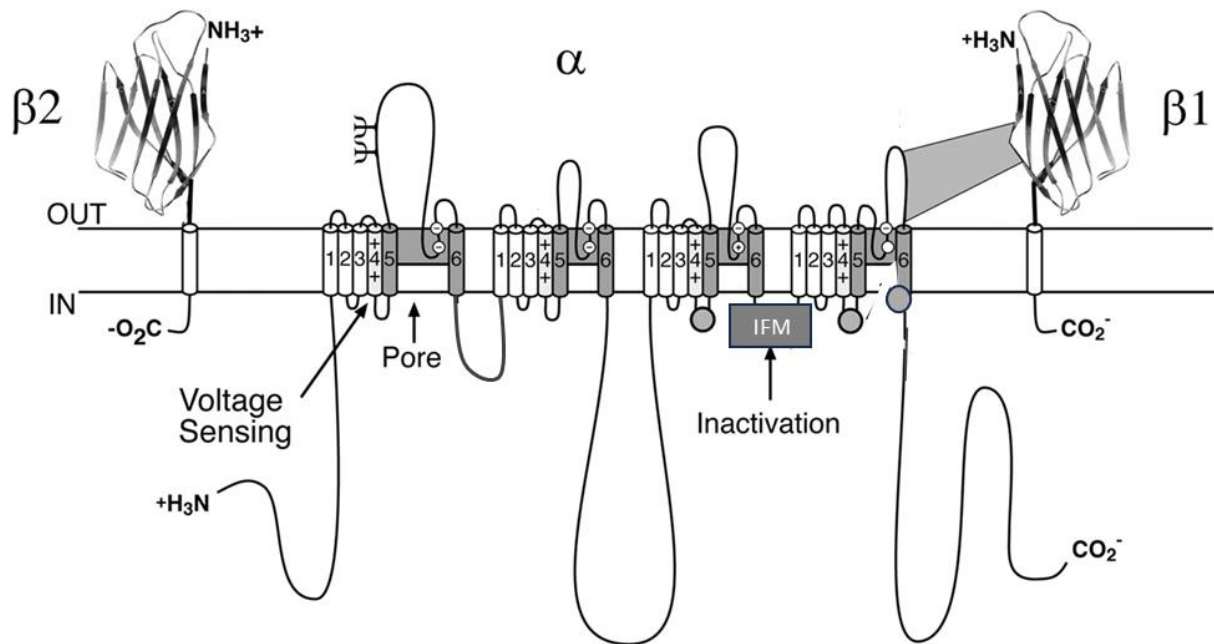


Abbildung 8: Aufbau des spannungsabhängigen Na⁺-Kanals Nav1.5, nach (116).

1.9.2.2 Nav1.8

Der spannungsgesteuerte Na⁺-Kanal Nav1.8 wird durch das *SCN10A*-Gen codiert. Sein Aufbau gleicht dem des Nav1.5. Die Nav-Isoform dominiert in afferenten Neuronen der Hinterwurzelganglien. Sie ist TTX-resistent und der vorherrschende Na⁺-Kanaltyp in Schmerzfasern vom Typ A δ und C (114, 119, 120).

Kürzlich konnte eine *SCN10A*-mRNA-Expression auch im Zusammenhang mit der atrialen Erregungsleitung im Kardiomyozyten nachgewiesen werden (121). Im Rahmen von humanen kardialen Pathologien zeigte sich der Nav1.8 hochreguliert, sowohl auf mRNA-Ebene als auch auf Proteinebene. Im Kontext der ventrikulären Herzhypertrophie als auch der Herzinsuffizienz zeigten sich in linksventrikulären Gewebeproben ein erhöhter $I_{Na, late}$, ein vergrößertes SR-Ca²⁺-Leck, eine verlängerte Aktionspotentialdauer sowie weitere proarrhythmische Trigger (spontane Ca²⁺-Freisetzungen, Ca²⁺-Waves). Durch selektive Nav1.8-Inhibition mit PF-01247324 (in Folge PF) konnten all diese Faktoren signifikant reduziert werden. In Übereinstimmung konnten in *SCN10A*^{-/-}-Knockoutmäusen bzw. in PF-intervenierten murinen Kardiomyozyten gleiche Ergebnisse erzielt werden (122, 123). Auch BENGEL et al.

zeigte entsprechende Resultate an strukturell gesunden Kardiomyozyten, indem er durch Anemonen-Toxin II (ATX-II) einen Zustand von erhöhtem $I_{Na, late}$ schaffte, welcher sich dann durch Nav1.8-Inhibition reduzieren ließ (124). Des Weiteren konnte auch an humanem Vorhofmyokard gezeigt werden, dass der Nav1.8 zu den beiden proarrhythmogenen Faktoren gesteigerter $I_{Na, late}$ und erhöhtes SR- Ca^{2+} -Leck signifikant beiträgt. Im Mausmodell schützte der genetische Knockout von Nav1.8 (*SCN10A^{-/-}*) vor der Entstehung von atrialen Arrhythmien (85). Kürzlich konnte auch eine direkte Interaktion zwischen der CaMKII δ und dem Nav1.8 bewiesen werden (107).

1.9.3 Na⁺-Stoffwechsel bei Patienten mit SBAS

Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen zeigen eine erhöhte Neigung zur Entwicklung von Vorhofflimmern (6). Wie bereits erläutert, spielt die Ca^{2+} /Calmodulin-Kinase δ eine zentrale Rolle bei diesem Pathomechanismus. LEBEK et al. konnte zeigen, dass die CaMKII δ -abhängige Dysregulation des Na⁺-Stoffwechsels, im Speziellen des spannungsabhängigen Na⁺-Kanals Nav1.5, zu proarrhythmischen Vorgängen im atrialen Myokard von Patienten mit SBAS führt. Durch die CaMKII δ -abhängige gesteigerte Phosphorylierung des Nav1.5 kommt es zu einem erhöhten $I_{Na, late}$. Des Weiteren konnte ein erhöhtes SR- Ca^{2+} -Leck bei Patienten mit SBAS festgestellt werden. Im Einklang damit ließ sich auch eine erhöhte CaMKII δ -abhängige Phosphorylierung des RyR2 zeigen. All diese Faktoren haben gemeinsam, dass sie zur Entstehung von EADs, DADs und im Allgemeinen zu einer gesteigerten proarrhythmischen Aktivität im Vorhof von Patienten mit SBAS beitragen (43).

Gleichzeitig zeigte sich eine reduzierte *SCN5A*-mRNA-Expression, was in einer CaMKII δ -abhängig gesteigerten Steady-State-Inaktivierung und folglich einem erniedrigten $I_{Na, peak}$ bei Patienten mit SBAS resultierte (43).

Diese Tatsache wirft die Frage auf, ob nicht auch andere Isoformen zum erhöhten $I_{Na, late}$ und somit zur proarrhythmischen Aktivität bei SBAS-Patienten beitragen.

Der ebenso im Herzen exprimierte spannungsabhängige Na⁺-Kanal Nav1.8 zeigte eine erhöhte Aktivität im Rahmen von strukturellen kardialen Erkrankungen (122, 123). Er konnte kürzlich mit der Entstehung des $I_{Na, late}$ in Verbindung gebracht werden und wird auch von der CaMKII δ gesteigert aktiviert (85, 107). Eine Beteiligung des Nav1.8 an

der Arrhythmogenese bei Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen, bei der es ebenfalls zu einer gesteigerten Aktivität der CaMKII δ kommt, liegt deshalb nahe.

1.10 Zielsetzung und Fragestellung dieser Arbeit

Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen zeigen über Mechanismen, wie intrathorakale Druckschwankungen, Sympathikusaktivierung und intermittierende Hypoxie, eine erhöhte Neigung zu proarrhythmischer Vorhofaktivität, verursacht durch strukturelles und elektrisches atriales Remodeling (87–93). Eine in diesem Zusammenhang festgestellte erhöhte CaMKII δ -Aktivität führt über eine Dysregulation des Na⁺-Stoffwechsels zu einem gesteigerten $I_{Na, late}$ sowie einem gesteigerten diastolischen SR-Ca²⁺-Leck (43, 78). Diese Faktoren gelten als proarrhythmogen. Detaillierte Mechanismen, wie SBAS das kardiovaskuläre System beeinflussen, sind allerdings weiterhin Gegenstand aktueller Forschung.

Bei Patienten mit SBAS konnte neben einem erhöhten $I_{Na, late}$ gleichzeitig auch eine verringerte Expression des im Herzen dominierenden Na⁺-Kanals Nav1.5 und folglich ein reduzierter Spitzen-Na⁺-Strom gezeigt werden (43). Dies legt die Vermutung nahe, dass weitere Nav-Isoformen in der Arrhythmogenese bei SBAS-Patienten involviert sind.

Interessanterweise zeigte sich eine gesteigerte Aktivität des im Herzen ebenso exprimierten Na⁺-Kanals Nav1.8 bei diversen kardialen Pathologien (122, 123). Eine Nav1.8-Inhibition führte zu einer Verringerung der proarrhythmogenen Faktoren $I_{Na, late}$ und SR-Ca²⁺-Leck (85, 107).

Folglich scheint eine erhöhte *SCN10A*-mRNA-Expression bei SBAS-Patienten und dementsprechend eine Beteiligung an proarrhythmischen Prozessen durch Dysregulation des Na⁺-Stoffwechsels naheliegend zu sein.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Rolle des Nav1.8 bei der Dysregulation des Na⁺-Stoffwechsels sowie der Arrhythmogenese bei SBAS-Patienten genauer zu untersuchen. Dabei soll in einem ersten Schritt die *SCN10A*-mRNA-Expression bei SBAS-Patienten im Vergleich zu Nicht-SBAS-Patienten untersucht werden. Ferner soll die Auswirkung einer Nav1.8-Inhibition als mögliches antiarrhythmisches Therapiekonzept auf die proarrhythmischen Faktoren, SR-Ca²⁺-Leck, $I_{Na, late}$ und trabekuläre Arrhythmien als Surrogat für multizelluläre Arrhythmien, untersucht werden.

2 Material und Methoden

2.1 CONSIDER-AF

2.1.1 Studientitel und Studiendesign

Im Rahmen der Studie, „Impact of sleep-disordered breathing on atrial fibrillation and perioperative complications in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery – a prospective observational study“, kurz CONSIDER-AF, wurden Patienten ausgewählt, die die vorgegebenen Einschlusskriterien erfüllten (siehe Tabelle 5) und somit für die Untersuchung der genannten Fragestellungen geeignet waren.

Wie aus dem Titel bereits erkennbar, handelt es sich um eine klinisch-prospektive Beobachtungsstudie, die es sich zum Ziel gemacht hat, das peri- und postoperative Management von Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen zu optimieren.

Die Studie begann im Juli 2016 und soll noch mindestens bis in das Jahr 2024 weiterlaufen. Es sollen ca. 1200 Probanden an ihr teilnehmen (63).

2.1.2 Patientenrekrutierung

Jeder Patient der am Universitätsklinikum Regensburg für eine elektive ACB-Operation (ACB=aortokoronarer Bypass) geplant war, wurde auf Ein- und Ausschlusskriterien der Studie geprüft. Die Probanden wurden folgendermaßen selektiert:

<u>Einschlusskriterien</u>	<u>Ausschlusskriterien</u>
Alter zwischen 18-85 Jahre	Inotrope Medikation
Elektive ACB-Operation am Universitätsklinikum Regensburg	Schwergradige chronisch obstruktive Lungenerkrankung (ab Grad III nach GOLD)
Schriftliche Einverständniserklärung des Patienten	Sauerstoff- oder nCPAP-Therapie
	Intraaortale Ballongegenpulsation
	Bereits behandeltes Schlafapnoesyndrom (eine unbehandelte Schlafapnoe ist <u>kein</u> Ausschlusskriterium)

Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien der CONSIDER-AF-Studie (63).

Konnte so ein potenzieller Studienpatient identifiziert werden, wurde dieser auf Station visitiert. In einem ausführlichen Gespräch wurde dem Probanden die Studie an sich, der Studienablauf und die Bestandteile der Studie (Schlafapnoescreening mittels Polygraphie, Blut- und Urindatenbank, Vorhofgewebebiopsie) erläutert. Bei Einverständnis des Patienten erfolgte die Anamnese mittels eines standardisierten Fragebogens. Dieser enthielt neben allgemeinen Angaben (Alter, Geschlecht, ethnische Herkunft) auch Fragen zu bestehenden kardiopulmonalen Vorerkrankungen, zur Familienanamnese sowie Fragen zur Erhebung der NYHA- und CCS-Klassifikation. Es folgte eine kurze körperliche Untersuchung, bei der Gewicht, Größe, Hüft- und Bauchumfang, Herzfrequenz, Blutdruck und der Mallampati-Score erhoben wurde.

Im weiteren Verlauf wurden noch bestehende Fragen des Probanden geklärt. Zudem wurden die beiden Formulare „Einwilligungserklärung“ und „Patienteninformation“ gemeinsam mit dem Patienten für die spätere Aufklärung durch den Prüfarzt vorbereitet.

2.1.3 Polygraphiedatenerhebung

Patienten, die der Teilnahme an der CONSIDER-AF-Studie zugestimmt hatten, erhielten in der präoperativen Nacht ein Schlafapnoescreening mittels Polygraphie. Hierzu wurde das portable Gerät „Alice NightOne“ (Philips Respironics, Murrysville, USA) verwendet, welches in der folgenden Abbildung dargestellt ist:



Abbildung 9: Alice NightOne Polygraphiegerät der Firma Philips Respironics (125).

Der Luftfluss durch die Nase konnte dabei durch eine Nasenbrille festgestellt werden, die Sauerstoffsättigung im Blut wurde durch Pulsoxymetrie mittels Fingerclip bestimmt und Atemanstrengungen wurden über Thoraxbewegungen durch die sog. respiratorische induktive Plethysmographie detektiert.

Die erfassten Ereignisse wurden anhand eines Scores (AASM-Score), der auf einem Manual der American Academy of Sleep Medicine basiert, in Apnoen und Hypopnoen klassifiziert (49). Der Schweregrad der schlafbezogenen Atemstörung (SBAS) wurde über den Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI) bestimmt. Die Diagnose SBAS wurde bei einem AHI von ≥ 15 pro Stunde festgelegt (63).

Diese Definition erlaubte es, die ausgewählten Patienten und deren untersuchte Vorhofbiopsien in zwei Gruppen zu unterteilen: Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen (AHI ≥ 15 /Stunde) und Patienten ohne schlafbezogene Atemstörungen (AHI < 15 /Stunde). Diese beiden Gruppen konnten im weiteren Verlauf hinsichtlich der Ergebnisse der funktionellen Experimente miteinander verglichen werden.

2.2 Gewinnung humaner atrialer Myokardproben

In Zusammenarbeit mit der Klinik für Herz-Thorax-Chirurgie des Universitätsklinikums Regensburg konnten atriale Gewebeproben der Patienten gewonnen werden, die am präoperativen Tag im Rahmen der bereits beschriebenen CONSIDER-AF-Studie rekrutiert wurden. Bei der erfolgten Operation handelte es sich immer um aortokoronare Bypässe (ACB). Diese Operationen werden am ruhenden Herzen vorgenommen. Durch die Verwendung einer Kardioplegie-Lösung tritt ein vorübergehender Herzstillstand auf. Um eine fortlaufende Kreislaufaktivität zu gewährleisten, wird anschließend eine Herz-Lungen-Maschine eingesetzt. Die Maschine übernimmt dabei den Gasaustausch, die Pumpfunktion und die Temperaturregelung während der Zeit, in der am offenen Herzen operiert wird. Im Rahmen des Operationsablaufes wird beim Anschluss der Herz-Lungen-Maschine der rechte Vorhof für die Verbindung mit dem venösen System kanüliert. Hierbei wurde ein Teil des rechten Vorhofohres entnommen. Dieses kann nun durch das am präoperativen Tag eingeholte Einverständnis des Patienten zu Forschungszwecken dienen.

Nach Absprache mit dem OP-Team wurde das Gewebestück direkt nach Entnahme im Operationssaal entgegengenommen und in gekühlter kardioprotektiver Lösung (Custodiol + 2g BDM, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH) auf Eis in das Labor transportiert.

Die Forschung an den humanen atrialen Gewebeproben erfolgte nach dem Grundsatz der Deklaration von Helsinki. Ein positives Votum der Ethikkommission der Universität Regensburg lag vor (15-101-0238, Projektnummer: 36 43 420).

2.3 mRNA-Analyse mittels qPCR

2.3.1 RNA-Isolierung und Transkription in cDNA

Das RNeasy Mini Kit (Qiagen, Katalognummer 74106) wurde gemäß dem Herstellerprotokoll zur Isolierung von RNA aus Biopsien des rechten Vorhofohres verwendet. *Random Primers* (Promega, Katalognummer C1181), PCR-Nukleotidmischung (Promega, Katalognummer C1145), RNasin® Ribonuklease-Inhibitor (Promega, Katalognummer N2115), Reverse Transkriptase (Promega, Katalognummer M170B) und Reverse Transkriptase 5x Reaktionspuffer (Promega, Katalognummer M531A) wurden verwendet, um 1 µg RNA in cDNA revers zu transkribieren (1 h bei 37° C) (1).

2.3.2 Quantifizierung der *SCN10A* mRNA-Expression

Das *SCN10A*-Gen kodiert für den Nav1.8. Die *SCN10A*-mRNA-Expression wurde im menschlichen rechtsatrialen Myokard durch Echtzeit-qPCR mit cDNA (siehe oben, ViiA 7 Echtzeit-PCR-System, Applied Biosystems) unter Verwendung des TaqMan™ Fast Advanced Master Mix (Applied Biosystems) quantifiziert.

Die PCR wurde wie folgt durchgeführt:

- initiale Uracil-N-Glykosylase-Inkubation bei 50° C (2 min),
- Polymeraseaktivierung bei 95° C (2 min),
- gefolgt von 40 Zyklen mit 95° C (1 s) und 60° C (20 s).

Vorgefertigte TaqMan® Genexpressions-Assays (Applied Biosystems) wurden für die Quantifizierung von *SCN10A* (Assay-ID Hs01045137_m1) und β -Actin (Assay-ID Hs00357333_g1) verwendet. Jede Probe wurde dreimal gemessen, um den

durchschnittlichen Schwellenwertzyklus (Ct) zu bestimmen, der für die vergleichende Ct-Analysemethode zur relativen Quantifizierung verwendet wurde. (126) Für jede Patientenprobe wurde der mittlere *SCN10A*-Ct-Wert vom mittleren Ct-Wert des Housekeepers β -Actin subtrahiert, um den individuellen Delta-Ct-Wert (dCt) zu erhalten. Die relative *SCN10A* mRNA-Expression (in % von β -Actin) wurde mit der Formel $2^{-dCt} \times 100$ berechnet (1).

2.4 Pharmakologische Interventionen

2.4.1 PF-01247324 (PF)

PF-01247324 (Molekülformel: $C_{13}H_{10}Cl_3N_3O$; molekulare Masse: 330,60 g/mol; 875051-72-2; Sigma-Aldrich, USA) wurde in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und in einer Stock-Konzentration von 1mmol/l bei -20 °C lichtgeschützt gelagert. Für die Versuchsdurchführung wurde mit einer finalen Konzentration von 1 μ mol/l gearbeitet. Hierzu wurde der Stock mit der am Versuchstag frisch hergestellten Krebs-Henseleit-Lösung (siehe Kapitel 2.5.2) weiter verdünnt. PF ist ein selektiver Inhibitor des neuronalen Na^+ -Kanals Nav1.8.

2.4.2 Isoproterenol/Isoprenalin (ISO)

Isoprenalin-Hydrochlorid (Molekülformel: $C_{11}H_{17}NO_3 \cdot HCl$; molekulare Masse: 247,72 g/mol; 51-30-9; Sigma-Aldrich, USA) wurde in ASC-Tyrode (siehe Tabelle 6) gelöst und in einer Stock-Konzentration von 10 μ mol/l bei -20 °C lichtgeschützt gelagert. Für die Versuchsdurchführung wurde mit einer finalen Konzentration von 100 nmol/l gearbeitet. Hierzu wurde der Stock mit der am Versuchstag frisch hergestellten Krebs-Henseleit-Lösung (siehe Kapitel 2.5.2) weiter verdünnt. Isoproterenol ist ein selektiver β -Rezeptor-Agonist und wurde zur β -adrenergen Stimulation der Muskeltrabekel verwendet.

<p style="text-align: center;"><u>ASC-Tyrode</u></p> <p>1l Normal-Tyrode mit Glucose (1fach); 50mg Ascorbinsäure; 5µl HCl („rauchend“ = 32%) → Einstellung auf pH=7,4 bei 37 °C mit 1 M NaOH</p>	<p style="text-align: center;"><u>Stamm I</u></p> <p>74,31 mg Isoprenalin-Hydrochlorid in 30 ml ASC-Tyrode (Konz.: 10 mM)</p>
	<p style="text-align: center;"><u>Stamm II</u></p> <p>10 µl Stamm I – Lösung in 10 ml ASC-Tyrode (Konz.: 10µM)</p>

Tabelle 6: ASC-Tyrode und Stammlösungen von Isoproterenol.

2.5 Muskelstreifenexperimente

2.5.1 Reinigung der Gewebeprobe und Präparation der Muskeltrabekel

Für die Präparation der Muskeltrabekel wurde die Myokardbiopsie mitsamt der kardioprotektiven Transportlösung aus dem Transportbehältnis in eine Petrischale mit Silikonboden (wichtig für die folgende Präparation) überführt. Zunächst wurde die Vorhofprobe von bestehenden Blutrückständen mittels einer Pasteurpipette gesäubert. Des Weiteren wurden Fett- und Bindegewebsreste vorsichtig entfernt, um die folgende Präparation zu erleichtern.

Die Präparation erfolgte die ganze Zeit über auf Eis, um die Biopsie möglichst lange vital zu halten und zu schonen. Die Präparationsschale wurde nun unter ein Binokularmikroskop mit einstellbarer Vergrößerung gestellt. Mittels feinem Präparationsbesteck (2 Pinzetten, 1 Schere, mehrere Fixierungsnadeln) wurde das Präparieren begonnen. Zunächst wurde sich ein Überblick über das Gewebestück verschafft. Oft zeigten sich oberflächliche Trabekel angeschnitten, sodass es nötig war, in die Tiefe zu präparieren. Ziel war es rosige und möglichst freischwebende, d.h. nicht verwachsene, Muskeltrabekel zu identifizieren und in Folge aus dem umliegenden Gewebe heraus zu präparieren. An den Rändern des Trabekels wurde jeweils ein größeres Myokardstück (sog. „meat-end“) belassen. Dies ist ein präparierter Gewebeanteil, welcher zur späteren Aufhängung in die Muskelstreifenanlage dienen soll. Wichtig war es, diese großzügig zu präparieren, um ein späteres Herauslösen aus der Messvorrichtung zu verhindern. Die wichtigsten Präparationsprinzipien sind in folgenden Stichpunkten zusammengefasst:

- immer auf Eis präparieren
- mechanischen Stress, Dehnung und Stauchung vermeiden
- Präparationszeit möglichst kurzhalten
- Muskelstreifen selbst nicht mit den Instrumenten berühren



Abbildung 10: Präparation der Trabekel auf Eis unter Sicht durch ein Binokularmikroskop.

Nach erfolgter Präparation wurden die Standardokulare durch skalierte Messokulare ersetzt. Bei einer Vergrößerung von 1,0 konnte der Durchmesser des Muskelstreifens in zwei Ebenen (D_a und D_b) erfasst werden. Gemessen wurde jeweils in der Mitte des Muskeltrabekels. Es konnte so die Querschnittsfläche eines jeden Streifens mit Hilfe der Ellipsenformel und der ausgemessenen Diameter ermittelt werden:

$$A = \pi * (D_a/2) * (D_b/2)$$

Formel 1: Fläche der Ellipse. A=Fläche, D_a =Diameter 1, D_b =Diameter 2.

Dies diente zur Normalisierung der Kraft auf die unterschiedlichen Querschnittsflächen der jeweiligen Trabekel.

2.5.2 Krebs-Henseleit-Lösung

Für die Muskelstreifenexperimente wurde eine Pufferlösung, die sog. Krebs-Henseleit-Lösung, verwendet. Zunächst wurde eine 10-fach-Stammlösung hergestellt (siehe

Tabelle 7), welche lange haltbar war und immer vorrätig bei +4°C gelagert wurde. Die Substanzen wurden mit bidestilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1 Liter aufgefüllt.

<u>Substanz</u>	<u>Molekulargewicht</u> <u>[g/mol]</u>	<u>Konzentration</u> <u>[mmol/l]</u>	<u>10-fach Menge</u> <u>[g]</u>
NaCl	58,44	116	67,790
KCl	74,55	5	3,728
NaH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	156,01	2	3,120
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	203,31	1,2	2,440
Na ₂ SO ₄	142,04	1,2	1,704

Tabelle 7: 10-fach-Stammlösung der Krebs-Henseleit-Lösung.

Für die Experimente, bei denen die Muskeltrabekel kontinuierlich mit Krebs-Henseleit-Lösung superfundiert wurden, musste aus der 10-fach-Stammlösung eine 1-fach-Versuchslösung hergestellt werden. Dies geschah an jedem Versuchstag vor der Versuchsdurchführung. Hierbei wurden zu 200 ml der 10-fach-Stammlösung folgende Substanzen hinzugegeben:

<u>Substanz</u>	<u>Molekulargewicht</u> <u>[g/mol]</u>	<u>Konzentration</u> <u>[mmol/l]</u>	<u>Menge</u>
D-Glucose	180,16	10	3,603 g
NaHCO ₃	84,01	20	3,360 g
1M CaCl ₂ in Wasser		0,25	500 µl

Tabelle 8: 1-fach-Versuchslösung der Krebs-Henseleit-Lösung.

Die abgewogenen Substanzen wurden mit bidestilliertem Wasser auf insgesamt 2 Liter Volumen aufgefüllt und anschließend für 20 Minuten mit Carbogengas (95% O₂, 5% CO₂) versetzt. Nach dieser Zeit wurde der pH-Wert der Krebs-Henseleit-Lösung mittels NaOH auf einen physiologischen Wert von 7,4 bei 37 °C konstant eingestellt.

2.5.3 Aufbau der Messanlage

Die Messanlage, welche für die Muskelstreifenexperimente verwendet wurde, besaß als zentrales Element zwei Organbäder, in denen jeweils ein präparierter Muskeltrabekel gemessen werden konnte.

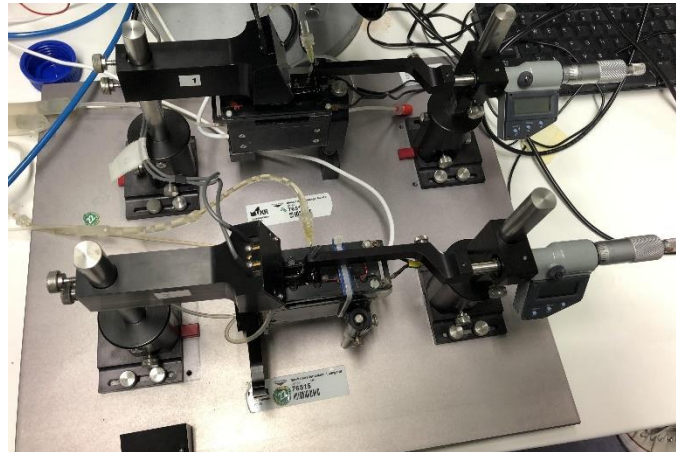


Abbildung 11: Originalbild der Messanlage für Muskelstreifenexperimente.

Die beiden Organbäder waren jeweils an ein Perfusionssystem angeschlossen. Dies garantierte die ständige Lösungszirkulation der Krebs-Henseleit-Lösung im Organbad. Die Experimentierlösung befand sich in einem Erlenmeyerkolben und wurde durch eine Walzenpumpe und ein entsprechendes Schlauchsystem zum Organbad hin angesaugt. Nachdem dieses durchflossen wurde, wurde die Lösung zur Rückführung in den Erlenmeyerkolben wieder abgesaugt. So entstand ein stetiger Fluss der Versuchslösung. Die beiden Organbadgefäße waren zusätzlich mit einem zweiten Zirkulationssystem verbunden, welches über das Gegenstromprinzip im Inneren der beiden Gefäße dazu führte, dass die im Äußeren zirkulierende Krebs-Henseleit-Lösung konstant 37 °C warmgehalten wurde. Des Weiteren wurde die im Erlenmeyerkolben befindliche Versuchslösung kontinuierlich mit Carbogengas, bestehend aus 5 Volumenanteilen Kohlenstoffdioxid und 95 Volumenanteilen Sauerstoff, begast. Mit der Erwärmung der zirkulierenden Lösung, der Begasung mit Carbogen und der vorherigen pH-Wert-Einstellung der Versuchslösung bei 37 °C unter Begasung konnten so optimale physiologische Bedingungen für die Durchführung des Versuchs geschaffen werden.

Weiterhin bestand die Messanlage aus einer Stimulationselektrode, die im Organbad angebracht war und mit dem Stimulator (Scientific Instruments, Heidelberg,

Deutschland) verbunden war. Die Aufhängungsvorrichtung für die präparierten Muskeltrabekel enthielt auf der einen Seite einen Fixationshaken. An diesem war eine Mikrometerschraube angebracht, mit der der Muskelstreifen im Organbad vorgedehnt werden konnte. Auf der anderen Seite der Vorrichtung befand sich der Kraftaufnehmer (Scientific Instruments, Heidelberg, Deutschland). Dieser war auch mit einem feinen Haken zum Einspannen der Muskelstreifen ausgestattet. Kleinste Kontraktionen des Muskeltrabekels und somit kleinste Auslenkungen des Kraftaufnehmers konnten so detektiert werden, wurden in Folge durch einen Transducer (Scientific Instruments, Heidelberg, Deutschland) verstärkt und über einen AD-Wandler von einem analogen Spannungssignal in ein digitales Signal umgewandelt. Die digitalen Informationen konnten dann auf dem Computerbildschirm eingesehen werden. Mit dem Programm LabScribe3 wurden die Versuche gesteuert sowie Daten aufgenommen und analysiert.

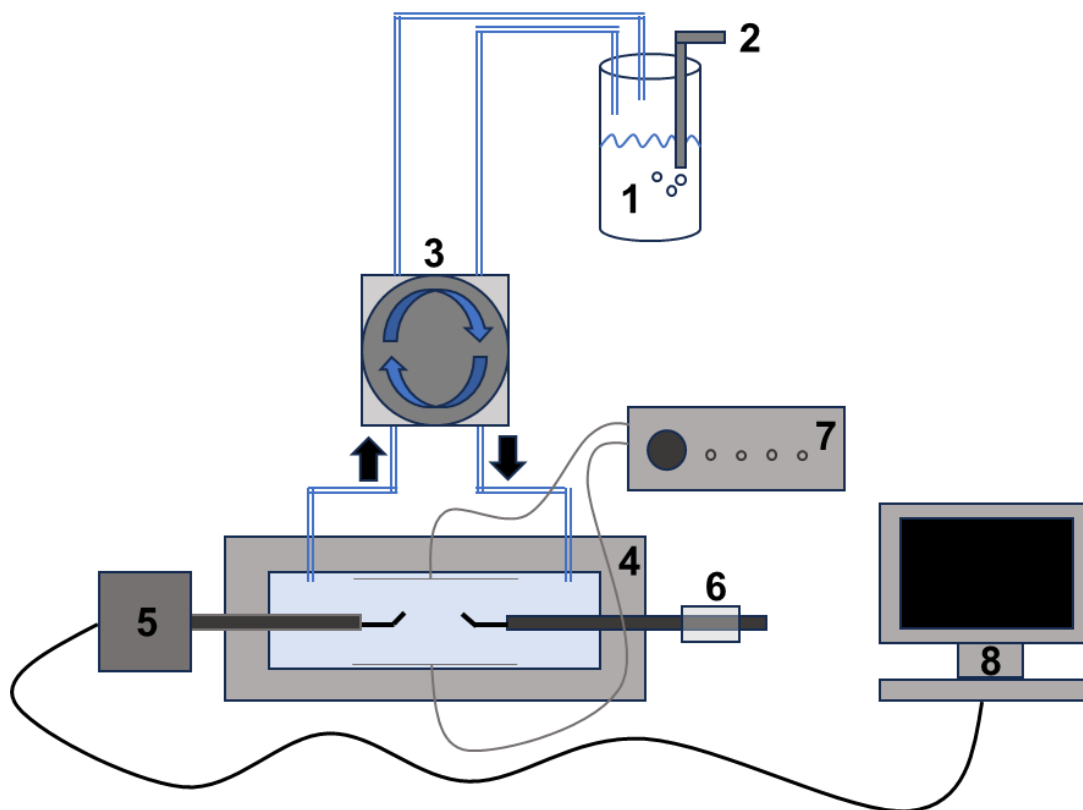


Abbildung 12: Messanlage für Muskelstreifenexperimente (schematische Darstellung).

Die Versuchslösung befindet sich in einem Messzylinder (1) und wird in diesem mit Carbogas versetzt (2). Die Walzenpumpe (3) befördert die Lösung in das Organbad (4), hier wird sie auf 37 °C erwärmt. Im Organbad befinden sich der Kraftabnehmer (5) und die Mikrometerschraube (6), welche jeweils mit einer Fixationsnadel für den Muskelstreifen ausgestattet sind. Über den Lösungsabfluss gelangt die Versuchslösung durch die Walzenpumpe wieder zurück in den Messzylinder, sodass ein Kreislauf entsteht (Pfeile). Im Organbad werden die eingespannten Muskelstreifen über Stimulationselektroden stimuliert (7). Messeinstellungen und Datenumwandlungen finden am mit dem Kraftabnehmer verbundenen Computersystem (8) statt.

2.5.4 Versuchsdurchführung

2.5.4.1 Kalibrierung der Messanlage

Vor jeder Messung wurden die beiden Kraftaufnehmer der Messanlage zunächst kalibriert. Dies erfolgte mithilfe eines Testgegenstands, dessen Gewicht zuvor präzise bestimmt wurde. Im Rahmen der Experimente war dies eine 0,579 g schwere Büroklammer.

2.5.4.2 Vorphase

Die präparierten und vermessenen Muskeltrabekel wurden, immer noch auf Eis befindlich, zur Messanlage befördert. Hier wurden die Muskelstreifen in die Aufhängevorrichtung, bestehend aus Kraftaufnehmer und Fixationshaken mit Mikrometerschraube, eingespannt. Dabei war zu beachten, die Trabekel nur an den „meat-ends“ zu berühren und den Muskeltrabekel so einzuhängen, dass zwischen den beiden Fixationshaken nur der reine Muskelstreifen fixiert war. Dieser sollte nicht zu sehr gespannt sein, aber auch nicht durchhängen. Der Abstand der beiden Fixationshaken ließ sich mit Hilfe der Mikrometerschraube adjustieren.

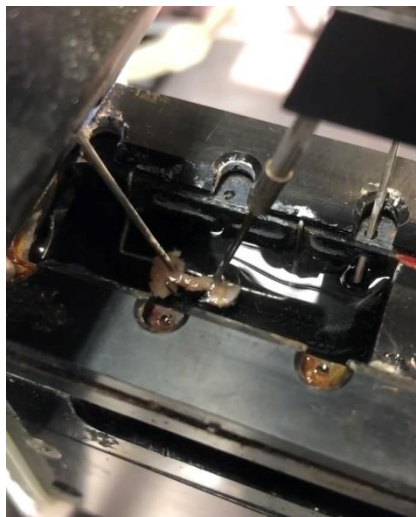


Abbildung 13: Muskelstreifen zwischen Fixationshaken (rechts) und Kraftaufnehmer (links).

Waren die Trabekel korrekt fixiert, wurde begonnen, die Custodiol-BDM-Lösung aus dem Messsystem auszuwaschen. Hierfür wurde das Organbad für ca. 8-10 Minuten mit 50 ml bereits vorbereiteter Krebs-Henseleit-Lösung superfundiert. Anschließend wurde die Ansaugung auf 50 ml „frische“ Krebs-Henseleit-Lösung umgestellt. Sobald

die im Schlauchsystem verbliebenen 25 ml der „alten“ Lösung (Anlage besitzt 25 ml Zirkulationsvolumen) herausgespült worden waren, wurde der Perfusionskreislauf wieder geschlossen.

Es wurde nun begonnen, die Trabekel mit einer Frequenz von 1 Hz zu stimulieren. Gleichzeitig startete auch der Ca^{2+} -Aufbau. Hierbei wurde in 7 Schritten alle 2 Minuten 12,5 μl einer 1M- CaCl_2 -Lösung in den Erlenmeyerkolben mit Krebs-Henseleit-Lösung hinzupipettiert. Die anfängliche Ca^{2+} -Konzentration von 0,25 mmol/l wurde so schrittweise auf eine Endkonzentration von 2 mmol/l angehoben.

Im weiteren Verlauf wurde das Zirkulationsvolumen von den ursprünglichen 50 ml auf 200 ml erhöht. Hierzu wurden die 50 ml Krebs-Henseleit-Lösung zu 150 ml „neuer“ Versuchslösung mit bereits bestehender Ca^{2+} -Konzentration von 2 mmol/l hinzugegeben. Zur Äquilibration der Muskelstreifen folgte eine Einschlagphase von ca. 30 Minuten bei weiterhin laufender Stimulation von 1 Hz.

Im Anschluss erfolgte die Vordehnung der Muskeltrabekel. Ziel war es hierbei, die maximale Länge (L_{max}) zu erreichen. Es wurde dabei langsam und vorsichtig an der Mikrometerschraube gedreht und der Streifen so gedehnt. Das Kontraktionsverhalten konnte am Monitor beobachtet werden. Im Idealfall erfolgte eine Zunahme der entwickelten Kraft (=Amplitude) bis zum Erreichen der maximalen Länge L_{max} . Zeichen einer Überdehnung waren das unverhältnismäßige Absinken der diastolischen Spannung (=Baseline) und die Verschmälerung der Amplitude. Im Fall einer Überdehnung konnte die Vordehnung an der Mikrometerschraube leicht reduziert werden und die Entwicklung so abgefangen werden. Es folgte eine weitere Äquilibrationsphase von ca. 5 Minuten bis zum Erreichen eines „steady-state“ der Amplituden. Durch die Normalisierung der Kraft auf die individuelle Querschnittsfläche des Streifens und die Vordehnung eines jeden Muskelstreifens bis zur maximalen Länge (L_{max}) konnte somit gewährleistet werden, dass die Ergebnisse der jeweiligen Experimente vergleichbar waren.

Nach Abschluss der Vordehnung wurde entschieden, ob sich die Trabekelkontraktionen für einen Start der Messprotokolle eigneten. Wichtige Kriterien waren:

- gutes Signal-Rausch-Verhältnis (Hauptkriterium)
- Amplitude im Idealfall $>1\text{mN/mm}^2$
- Muskelstreifen zeigt keinen Abfall in Baseline und Amplitude

Wurde sich für die Weiterführung der Experimente entschieden, wurde ein Kontrollspeicherpunkt im Programm LabScribe3 gesetzt und mit den Messprotokollen begonnen.

2.5.4.3 Ablauf der Muskelstreifenmessungen

Zu Beginn wurde die Stimulation für 5 Minuten bei 1 Hz belassen und dann schrittweise auf 2 Hz (für 5 Minuten) und 4 Hz (für 5 Minuten) gesteigert. Zwischen den einzelnen Schritten fand jeweils ein Post-Pause-Test für 30 Sekunden (siehe Kapitel 1.4.3) statt. Das Post-Pause-Verhalten ist dabei ein Indikator für das Vorhandensein bzw. für das Ausmaß des SR-Ca²⁺-Lecks. Der erste Kontraktionsschlag nach der 30-sekündigen Stimulationspause wurde relativ zum letzten Kontraktionsschlag vor der Pause betrachtet. Dieses Verhältnis gab Aufschluss über den Pause-abhängigen diastolischen SR-Ca²⁺-Verlust (je kleiner der Schlag nach der Pause, desto größer der Ca²⁺-Verlust) (43). Anschließend wurde eine Versuchslösung bestehend aus „normaler“ Ca²⁺-Konzentration (2 mmol/l) und dem selektiven Nav1.8-Inhibitor PF (1 µmol/l) eingewaschen, um den basalen Einfluss einer Nav1.8-Inhibitor zu untersuchen. Auch hier folgten Analysen des Post-Pause-Verhaltens.

Im alternativen „Arrhythmienprotokoll“ wurde nach dem initialen Einschlagen des Muskelstreifens eine Versuchslösung bestehend aus erhöhter Ca²⁺-Konzentration (3,5 mmol/l) und dem β-adrenergen Stimulator Isoproterenol (100 nmol/l) eingewaschen (ISO+Ca). Nach einer Äquilibrationsphase von 30 Minuten wurde der spezifische Nav1.8-Inhibitor PF (1 µmol/l) hinzugegeben und für weitere 30 Minuten inkubiert (ISO+Ca+PF). Da unter basalen Bedingungen innerhalb eines kurzen Beobachtungszeitraums nicht zwangsläufig Arrhythmien beobachtet werden können, wurden die Trabekel mit ISO+Ca stimuliert, um die Häufigkeit der Arrhythmien bzw. vorzeitiger Kontraktionen (premature atrial contractions = PACs) zu erhöhen. Die Schwere der PACs wurde mit einem „Severity Score“ (siehe Tabelle 9) klassifiziert und dieser als Maß für die Schwere der Arrhythmien verwendet.

<u>Score</u>	<u>Anzahl bzw. Beschreibung der PACs</u>
0	Keine PACs
1	1-3 PACs innerhalb von 5 Minuten
2	>3 PACs innerhalb von 5 Minuten
3	Anhaltender Bigeminus für mindestens 10 Sekunden
4	Anhaltender Bigeminus für mindestens 2 Minuten
5	Salve oder nicht-anhaltende irreguläre Kontraktionen für mindestens 10 Sekunden

Tabelle 9: Arrhythmia-Severity-Score (ARS) zur Beurteilung der Schwere der PACs.

Durch die nachfolgende Hinzugabe von PF sollte getestet werden, ob die induzierten PACs durch Hemmung des Nav1.8 in ihrer Schwere reduziert bzw. ganz verhindert werden konnten.

Die Muskelstreifen wurden nach Abschluss der funktionellen Experimente aus dem Organbad entnommen und bei einer Temperatur von -80°C weggefroren, um sie für potenzielle zukünftige Untersuchungen bereitzuhalten.

2.6 Datenauswertung und Statistik

2.6.1 Auswertung der Muskelstreifenexperimente

Mit dem Programm Labscribe3 (iWorx Systems Inc, USA) wurden die Muskelstreifenexperimente aufgezeichnet und abgespeichert. Die entwickelte Kontraktionskraft wurde auf die ermittelten Trabekelparameter normalisiert und in der Einheit mN/mm^2 angegeben.

Anschließend wurden die so gesammelten Daten in das Programm Labchart8 (ADInstruments, Neuseeland) importiert. Mittels „Peak Analysis“ wurden die einzelnen Schläge im Hinblick auf die entwickelte Kraft analysiert.

Die ermittelten Werte wurden anschließend in eine Excel-Tabelle zur weiteren Analyse und Statistik eingepflegt. Zudem wurden in Labchart8 die Muskelstreifen hinsichtlich des Auftretens von Arrhythmien untersucht. Ein Extraschlag galt dabei als Arrhythmie, wenn seine Amplitude mindestens 5 % der „steady-state“-Amplitude betrug sowie mindestens eine Kraft von $0,05 \text{ mN}/\text{mm}^2$ entwickelte. Diese harten Kriterien ermöglichten die objektive Unterscheidung zwischen Arrhythmien und unspezifischem

Hintergrund. Die so detektierten Arrhythmien wurden mit Hilfe des „Arrhythmia-Severity-Score“ (siehe Tabelle 9) nach ihrer Schwere beurteilt und anschließend in die bereits genannte Excel-Tabelle eingepflegt.

2.6.2 Statistische Auswertung

Die Experimente wurden den klinischen Daten gegenüber verblindet durchgeführt und analysiert. Wurden bei Vorhandensein von viel Gewebematerial Messprotokolle an den Vorhofproben eines Patienten mehrmals durchgeführt, so wurde zunächst ein Mittelwert gebildet, um genau einen Wert für jeden Patienten zu erhalten.

Die statistische Auswertung und die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism 6 (GraphPad Software Inc., USA). Alle Ergebnisse werden als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM) dargestellt. Der Standardfehler wurde folgendermaßen berechnet:

$$SEM = \sqrt{\frac{\sigma^2}{n}} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Formel 2: Berechnung des Standardfehlers (SEM). σ^2 =Varianz, σ =Standardabweichung, n =Stichprobengröße.

Für die statistische Auswertung wurde der ungepaarte Student t Test für den Vergleich zweier Gruppen verwendet. Im Falle von mehreren Gruppen erfolgte die Auswertung mittels einseitiger Varianzanalyse (one-way ANOVA) mit Holm-Sidak's Post-hoc Korrektur. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen.

Für die multivariaten Regressionsanalysen wurden folgende mögliche klinische Einflussgrößen bzw. Störvariablen definiert: Alter, Body Mass Index, bestehende arterielle Hypertonie, bestehende Herzinsuffizienz, bestehendes Vorhofflimmern, stattgefundenen Schlaganfall, Diabetes mellitus und Kreatinin. Es wurden univariate und multivariate Regressionsanalysen mittels IBM SPSS Statistics 25 (IBM, USA) durchgeführt, um den Einfluss dieser möglichen Störvariablen zu überprüfen. Für jede Variable wurde dabei der Regressionskoeffizient B mit 95% Konfidenzintervall angegeben. Auch hier galt ein P-Wert $< 0,05$ als statistisch signifikant.

3 Ergebnisse

3.1 Patientencharakteristika

Ein Großteil der hier vorgestellten Daten konnte bereits in dem Artikel „Voltage-Gated Sodium Channel NaV1.8 Dysregulates Na and Ca, Leading to Arrhythmias in Patients with Sleep-Disordered Breathing“ 2022 im *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (Impact Faktor: 24,7) veröffentlicht werden (1).

Die klinischen Charakteristika der Patienten, die die Einschlusskriterien der CONSIDER-AF-Studie erfüllten, sind in folgender Tabelle (siehe Tabelle 10) dargestellt.

Insgesamt sind 37 rechtsatriale Gewebeproben in die endgültige Ergebnisauswertung dieser Doktorarbeit eingegangen. Die für den Großteil der funktionellen Experimente wichtige Unterteilung in die beiden Gruppen „SBAS“ und „kein SBAS“ konnte jedoch nur bei 29 Patienten vollzogen werden, da bei den restlichen 8 Patienten der AHI durch mangelnde Polygraphiedaten (vorzeitiger Abbruch der Polygraphie durch den Patienten) nicht berechnet werden konnte. Insgesamt zeigte sich ein typisches kardiovaskuläres Hochrisiko-Kollektiv – typisch für Patienten, die sich einer aortokoronaren Bypass-Operation unterzogen.

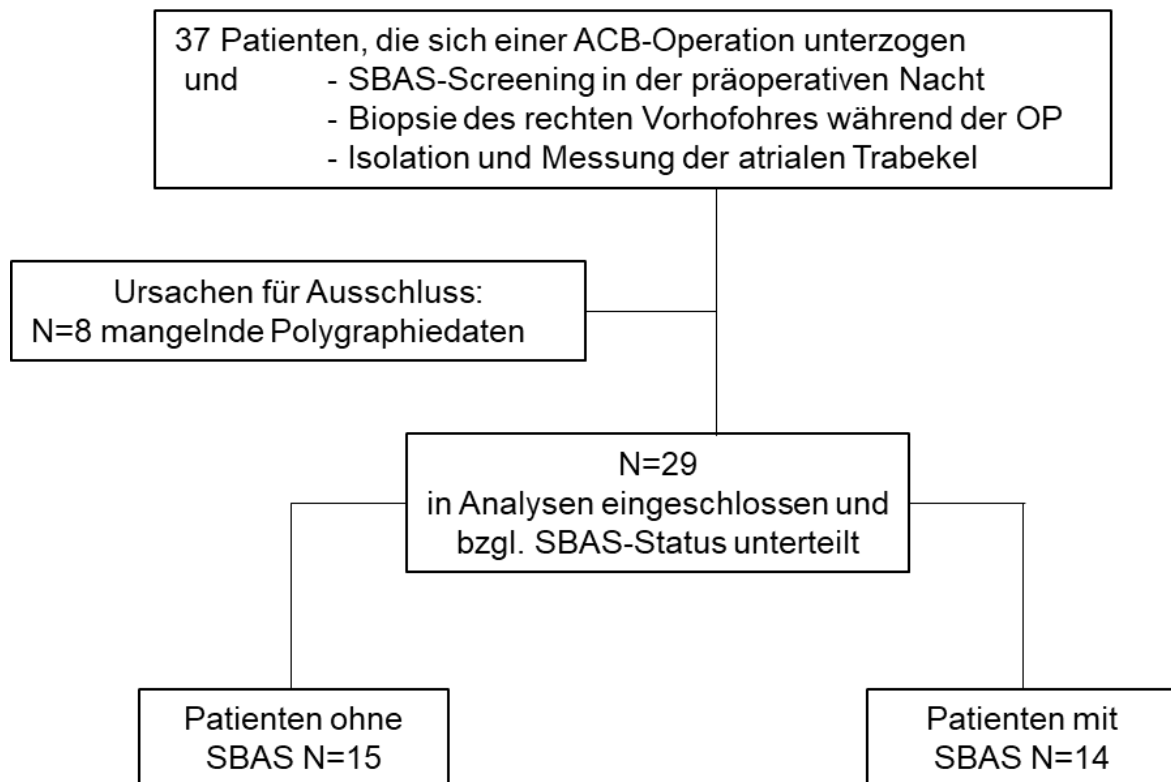


Abbildung 14: Patienten-Flowchart. Nach dem Ausschluss von 8 Patienten aufgrund fehlender Polygraphiedaten, wurden 29 Patienten in die Analysen miteinbezogen.

Eine moderate bis schwere schlafbezogene Atemstörung (SBAS), definiert durch einen $AHI \geq 15/h$, konnte in 48,3 % der Patienten mit durchgeführter Polygraphie festgestellt werden.

Parameter	Gesamtkohorte (N=37)	Kein SBAS (N=15)	SBAS (N=14)	P-Wert
Alter, MW±SEM, Jahre	63,0 ± 8,9	62,7 ± 8,4	65,6 ± 6,7	0,305 ^T
Männliches Geschlecht, N (%)	35 (94,6%)	14 (93,3%)	14 (100%)	0,326 ^{Chi}
BMI, MW±SEM, kg/m ²	28,8 ± 4,5	27,4 ± 3,3	29,4 ± 5,3	0,432 ^{MW}
<u>Kardiovaskuläre Risikofaktoren</u>				
Arterielle Hypertonie, N (%)	32 (86,5%)	13 (86,7%)	12 (85,7%)	0,941 ^{Chi}
Diabetes mellitus, N (%)	14 (37,8%)	5 (33,3%)	8 (57,1%)	0,198 ^{Chi}
Vorhofflimmern, N (%)	5 (13,5%)	1 (6,7%)	3 (21,4%)	0,249 ^{Chi}
Schlaganfall, N (%)	2 (5,4%)	0 (0%)	1 (7,1%)	0,292 ^{Chi}
<u>Herz- und Nierenfunktion</u>				
Herzinsuffizienz, N (%)	7 (18,9%)	2 (13,3%)	3 (21,4%)	0,564 ^{Chi}
NT-pro BNP, MW±SEM, pg/ml	1044,6 ± 1595,6	431,7 ± 397,3	1811,7 ± 2366,4	0,163 ^{MW}
LVEF, %, MW±SEM	52,6 ± 10,6	55,5 ± 9,5	49,4 ± 12,2	0,238 ^{MW}
Kreatinin, MW±SEM, mg/dl	1,01 ± 0,23	0,97 ± 0,13	1,00 ± 0,18	0,760 ^{MW}

Tabelle 10: Patientencharakteristika. Dargestellt sind die klinischen Parameter der eingeschlossenen Patienten, unterteilt in die Gruppen Gesamtkohorte, kein SBAS und SBAS. Die Werte sind entweder die Anzahl der Patienten (relativer Prozentsatz in Klammern) oder Mittelwert ± Standardabweichung (MW±SEM). T= Student T-Test; Chi= Chi-Square Test; MW= Mann-Whitney Test.

Abkürzungen: BMI = Body-Mass-Index; NT-pro BNP = N-Terminal Pro B-Typ natriuretisches Peptid; LVEF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion

3.2 SCN10A-mRNA-Expression in humanen atrialen Myokardproben

In Vorarbeiten der Arbeitsgruppe konnte bereits gezeigt werden, dass posttranslationale Modifikationen am spannungsabhängigen Na⁺-Kanal Nav1.5 im Sinne einer vermehrten Phosphorylierung an Serin 571 durch die CaMKII δ eine entscheidende Rolle bei der Entstehung des gesteigerten späten Na⁺-Stroms (I_{Na, late}) bei Patienten mit SBAS spielen. Gleichzeitig fand sich allerdings ein signifikant reduzierter Na⁺-Spitzenstrom und eine reduzierte SCN5A-mRNA-Expression (43).

Diese Diskrepanz legt nahe, dass möglicherweise andere Nav-Isoformen, wie der in dieser Arbeit untersuchte Nav1.8, an arrhythmogenen Prozessen bei SBAS beteiligt sind.

Deshalb wurden die Gewebeproben mittels real-time qPCR hinsichtlich der *SCN10A*-mRNA-Expression untersucht. Es zeigte sich dabei, dass Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen eine erhöhte *SCN10A*-mRNA-Expression (in % von β -Aktin) aufweisen im Vergleich zu Patienten ohne SBAS (siehe Abbildung 15; $0,017 \pm 0,003$ vs. $0,008 \pm 0,002$ $p=0,026$).

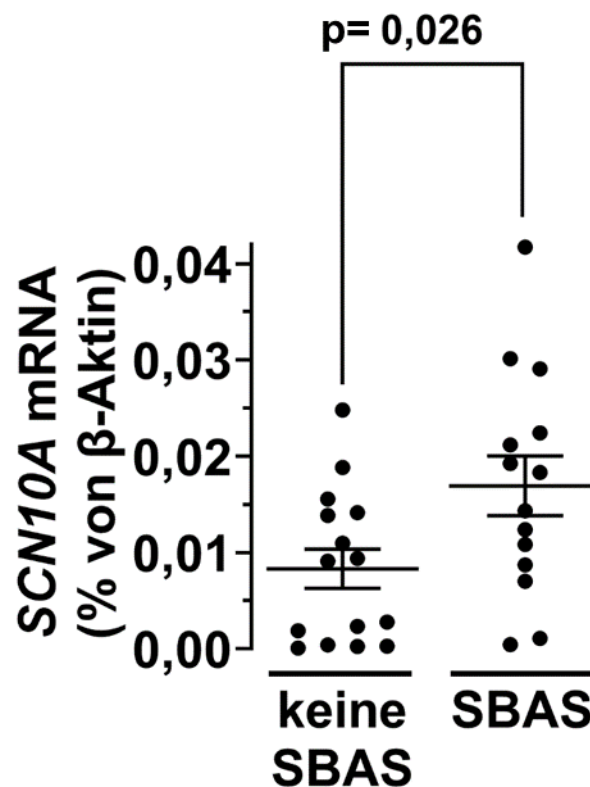


Abbildung 15: *SCN10A*-Expression bei schlafbezogener Atemstörung. *SCN10A*-mRNA-Expressionsdaten (in % von β -Aktin) verglichen zwischen keine SBAS und SBAS; Patienten mit SBAS zeigen dabei erhöhte Expressionswerte.

Es ist festzustellen, dass Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen eine Überexpression des spannungsabhängigen Na^+ -Kanals Nav1.8 aufweisen. Dies deutet darauf hin, dass der Nav1.8 möglicherweise an der Entstehung des erhöhten späten Na^+ -Stroms beteiligt ist und einen Beitrag zur Arrhythmogenese in diesem Patientenkollektiv leistet.

Zudem wurde eine signifikant positive Korrelation zwischen der *SCN10A*-mRNA-Expression (in % von β -Aktin) und der Schwere der zugrunde liegenden

schlafbezogenen Atemstörung, repräsentiert durch den AHI (in Ereignisse/h), nachgewiesen (siehe Abbildung 16, $p=0,003$, $R^2=0,29$).

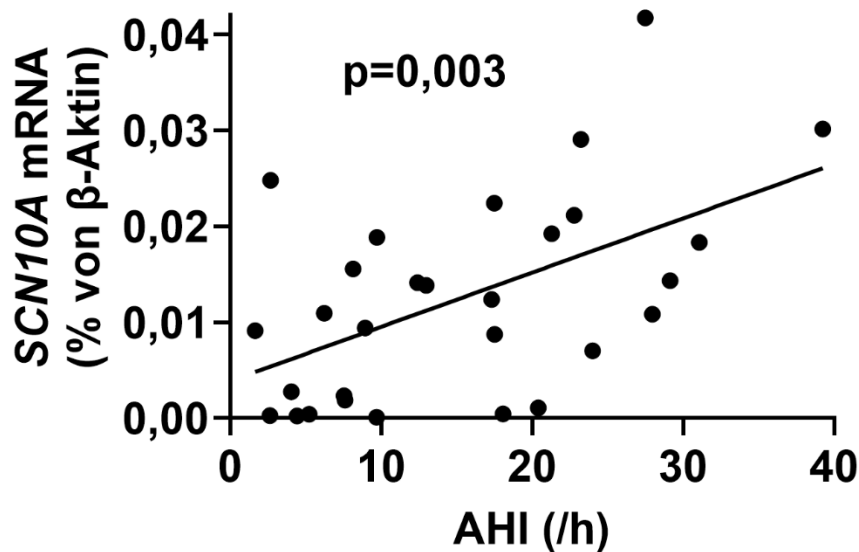


Abbildung 16: Lineare Regression zwischen Genexpression und AHI. Es zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen SCN10A-mRNA-Expression (in % von β -Aktin) und der Schwere der Erkrankung (AHI in Ereignisse/h).

Es zeigt sich demnach, dass eine schwerwiegendere Ausprägung der Erkrankung mit einer gesteigerten SCN10A-mRNA-Expression assoziiert ist.

3.3 Die Rolle des Nav1.8 bei der Entstehung des diastolischen SR-Ca²⁺-Lecks

Es ist bereits bekannt, dass der späte Na⁺-Strom ($I_{Na, late}$) eine erhöhte Ca²⁺-Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum während der Diastole triggern kann. Dies wiederum kann zu proarrhythmischer Aktivität im Vorhof führen (78, 84). Bei Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen wurde bereits ein erhöhtes SR-Ca²⁺-Leck gezeigt, welches durch Inhibition der CaMKII δ mit KN93 auf ein annähernd gleiches Niveau wie bei Patienten ohne SBAS gesenkt werden konnte (43).

Um die Beteiligung des spannungsabhängigen Na⁺-Kanals Nav1.8 am SR-Ca²⁺-Leck bei Schlafapnoe-Patienten besser zu verstehen, wurde das Verhalten der Post-Pause-Kontraktilität in humanen Vorhoftrabekeln als Indikator für den SR-Ca²⁺-Verlust

analysiert. Dabei wurde untersucht, ob die Inhibition von Nav1.8 durch PF das SR-Ca²⁺-Leck reduzieren kann.

Anhand von Originalabbildungen (siehe Abbildung 17) ließ sich dabei ein deutlich verbessertes Post-Pause-Verhalten durch die pharmakologische Intervention mit dem selektiven Nav1.8 Inhibitor PF zeigen.

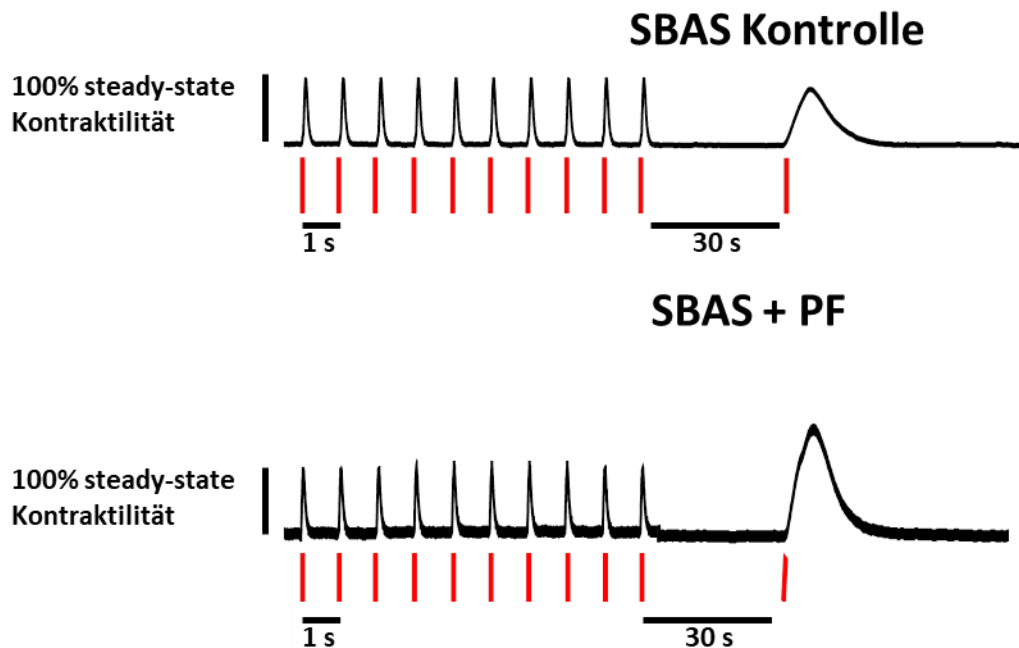


Abbildung 17: Originalabbildung Post-Pause-Verhalten. Die Kontraktionen der stimulierten atrialen Trabekel (1 Hz, rote Linien kennzeichnen die Stimulationen) zeigen ein deutlich verbessertes Post-Pause-Verhalten durch PF-Intervention. Gemessen wurden jeweils die Kontraktionen vor und nach einer 30s Stimulationspause (=Post-Pause-Verhalten).

Vergleich man den relativen Zuwachs der Post-Pause-Kontraktilität der beiden Patientengruppen unter PF-Intervention, so zeigte sich eine signifikant größere Zunahme bei Patienten mit SBAS im Vergleich zu denen ohne (siehe Abbildung 18; $0,90 \pm 0,25$ vs. $0,29 \pm 0,12$; $p=0,035$).

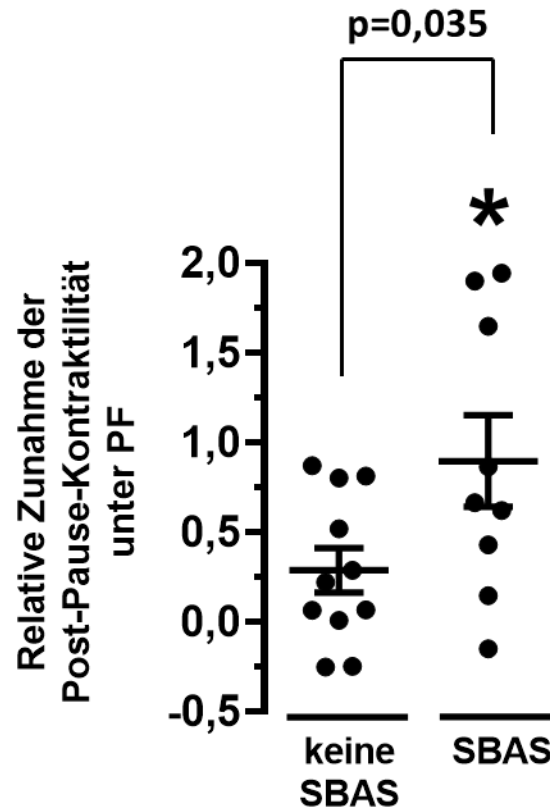


Abbildung 18: Post-Pause-Verhalten der Vorhoftrabekel. Relative Zunahme der Post-Pause-Kontraktilität unter PF-Intervention bei 2 Hz.

Die Daten deuten darauf hin, dass Patienten mit SBAS in stärkerem Maße auf den Inhibitor PF ansprechen, was sich in einer signifikant größeren Zunahme des Post-Pause-Verhaltens manifestiert.

Die Verknüpfung dieser Ergebnisse mit der *SCN10A*-mRNA-Expression ergab eine signifikante Korrelation zwischen den beiden Parametern (siehe Abbildung 19; $p=0,028$; $R^2=0,17$). Demnach war eine höhere Expression von *SCN10A*-mRNA in einer Probe mit einer stärkeren Zunahme der Post-Pause-Kontraktilität nach PF-Intervention verbunden.

Und auch die Schwere der Erkrankung zeigte eine signifikante Korrelation mit der relativen Zunahme der Post-Pause-Kontraktilität unter PF (siehe Abbildung 20; $p=0,047$; $R^2=0,19$).

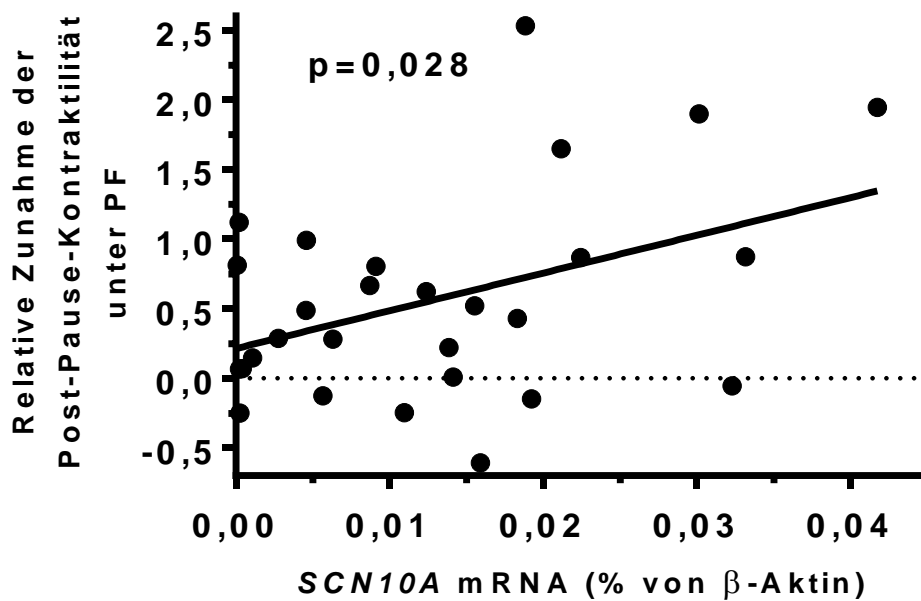


Abbildung 19: Lineare Regression zwischen Genexpression und Post-Pause-Verhalten unter PF. Es zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen der SCN10A-mRNA (in % von β-Aktin) und der relativen Zunahme der Post-Pause Kontraktilität unter PF.

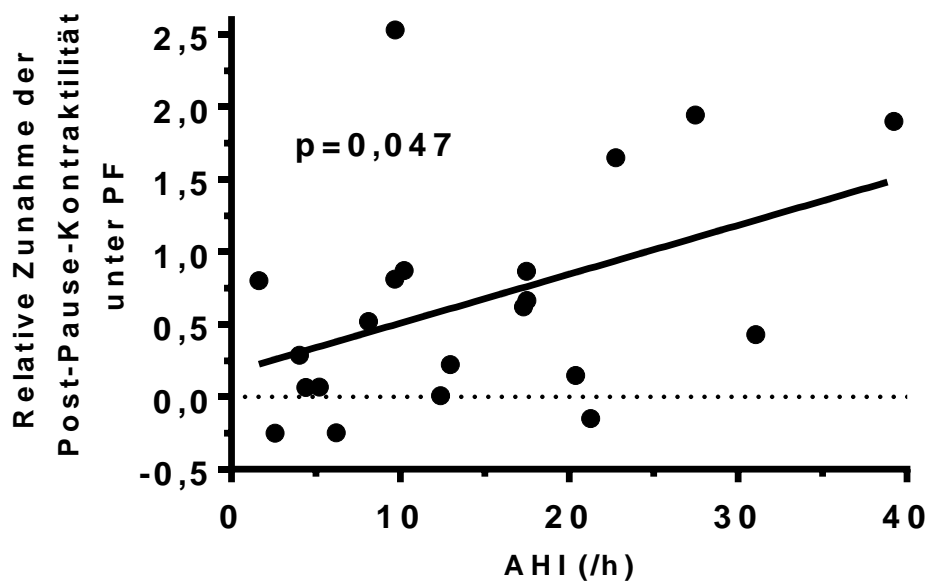


Abbildung 20: Lineare Regression zwischen AHI und Post-Pause-Verhalten unter PF. Es zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen der Schwere der Erkrankung (AHI in Ereignisse/h) und der relativen Zunahme der Post Pause Kontraktilität unter PF.

3.4 Die Rolle des Nav1.8 für das Auftreten von trabekulären Arrhythmien

Frühzeitige Vorhofkontraktionen (=PACs) der gemessenen humanen atrialen Trabekel gelten als Surrogat für multizelluläre Arrhythmien. Mithilfe des „Arrhythmia Severity Score“ (siehe Tabelle 9) konnten die detektierten Arrhythmien hinsichtlich Schwere und Häufigkeit eingeteilt werden und ließen sich somit gut vergleichen.

Es ist bereits bekannt, dass Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen eine erhöhte Prävalenz solcher PACs aufweisen. Dies zeigte sich sowohl unter basalen Bedingungen als auch bei der Stimulation mit Isoproterenol (100 nmol/l, ISO) und erhöhter Ca^{2+} -Konzentration (3,5 mmol/l) (43).

In den Ergebnissen dieser Arbeit bestätigten sich ebenfalls diese Beobachtungen.

Originalabbildungen (siehe Abbildung 21) zeigen exemplarisch den Unterschied in der Entstehung von Arrhythmien zwischen SBAS-Patienten und solchen ohne SBAS unter Kontrollbedingungen sowie die Reduzierung dieser Arrhythmien durch die Nav1.8 Blockade mittels PF.

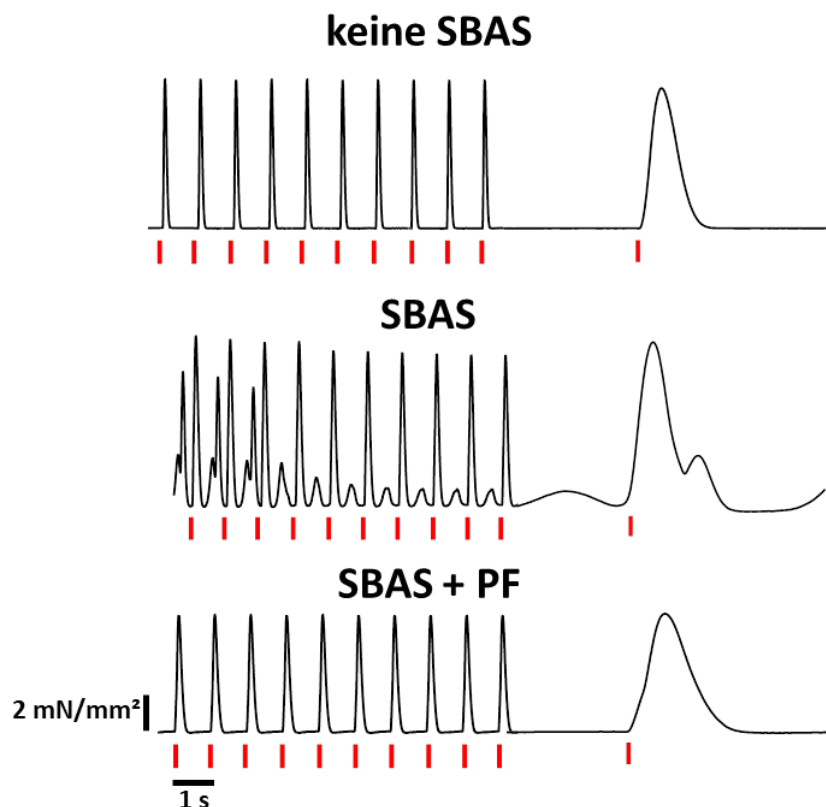


Abbildung 21: Originalabbildung PACs. Die hier dargestellten Kontraktionen von stimulierten atrialen Trabekeln (1 Hz, rote Linien kennzeichnen die Stimulationen) zeigen, dass Patienten mit SBAS unter Kontrollbedingungen mehr Arrhythmien aufweisen als Patienten ohne SBAS. Durch PF-Intervention können diese Arrhythmien abgeschwächt werden.

Patienten mit SBAS zeigten unter Kontrollbedingungen (ISO+Ca) signifikant mehr Arrhythmien als Patienten ohne SBAS (siehe Abbildung 22; $2,21 \pm 0,52$ vs. $1,00 \pm 0,49$, $p=0,026$).

Um eine Aussage über die Rolle des spannungsabhängigen Na^+ -Kanal Nav1.8 in der Arrhythmogenese tätigen zu können, wurde im Anschluss der Nav1.8-spezifische Inhibitor PF eingewaschen. Die unter Kontrollbedingungen beobachtete Häufigkeit und Schwere der Arrhythmien bei Patienten mit SBAS konnte durch diese pharmakologische Intervention signifikant von $2,21 \pm 0,52$ auf $0,25 \pm 0,18$ abgeschwächt werden (siehe Abbildung 22; $p=0,001$).

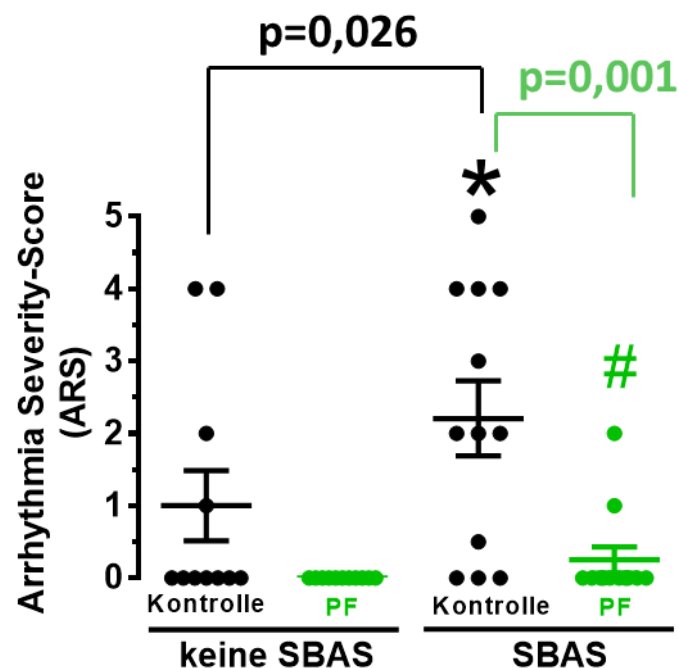


Abbildung 22: ARS bei schlafbezogenen Atemstörungen. Vergleich von Auftreten und Schweregrad der Arrhythmien zwischen Patienten mit und ohne schlafbezogenen Atemstörungen. Patienten mit SBAS zeigten dabei unter Kontrollbedingungen signifikant (* - vs. Patienten ohne SBAS) mehr und schwerere Arrhythmien im Vergleich zu Patienten ohne SBAS. Durch PF-Intervention erfolgte eine signifikante (# - vs. SBAS-Patienten ohne PF) Reduzierung des ARS bei SBAS-Patienten.

Interessanterweise zeigte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen dem Schweregrad der Arrhythmien, dargestellt durch den ARS, und dem Schweregrad der schlafbezogenen Atemstörung, repräsentiert durch den AHI (siehe Abbildung 23; $p=0,010$; $R^2=0,28$). Dies deutet darauf hin, dass Patienten mit schwerer SBAS im Durchschnitt auch vermehrt und stärker ausgeprägte Arrhythmien aufweisen als Patienten mit leichter oder moderater SBAS. Durch die selektive Nav1.8-Blockade

mittels PF konnte diese Korrelation komplett aufgehoben werden. Getestet wurde dies mittels einer Interaktionsanalyse. Es wurde ein Interaktionsterm berechnet, um zu überprüfen, ob sich die Korrelation zwischen dem AHI und dem ARS in PF- und Kontrollexperimenten signifikant unterscheidet. Hierfür wurde der AHI entweder mit 0 (Abwesenheit von PF) oder mit 1 (Anwesenheit von PF) multipliziert. In der anschließenden multivariaten Regression zeigte sich eine signifikant negative Assoziation zwischen dem Interaktionsterm und dem ARS, was darauf hinweist, dass die Korrelation zwischen dem Schweregrad der SBAS und dem Schweregrad der Arrhythmien durch PF-Intervention signifikant abgeschwächt wird (siehe Tabelle 11; $p=0,022$).

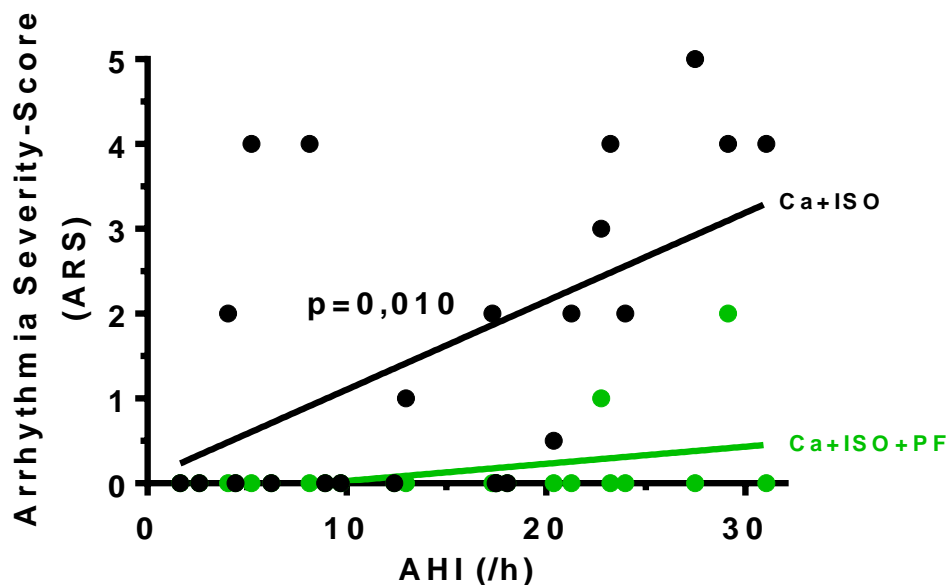


Abbildung 23: Lineare Regression zwischen AHI und ARS. Es zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Arrhythmia Severity Score (ARS) und dem Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI in Ereignisse/h) unter Kontrollbedingungen. Durch Intervention mit PF konnte diese Korrelation aufgehoben werden.

N=23 Variable: Schweregrad der Arrhythmien	Univariate lineare Regressionsanalyse		Multivariate lineare Regressionsanalyse R ² =0,417	
	B (95% KI)	P- Wert	B (95% KI)	P-Wert
AHI (/h)	0,062 (0,015; 0,110)	0,011	0,104 (0,050; 0,159)	<0,001
Nav1.8-Inhibition	-1,500 (-2,274; -0,726)	<0,001	-0,237 (-1,583; 1,108)	0,724
Interaktionsterm	-0,051 (-0,094; -0,008)	0,022	-0,084 (-0,161; -0,007)	0,034

Tabelle 11: Interaktionsanalyse bei PF-Intervention. Die Korrelation zwischen Schweregrad der SBAS und dem Schweregrad der Arrhythmien wird durch PF-Intervention signifikant abgeschwächt.

Im Einklang mit der bereits gezeigten erhöhten *SCN10A*-mRNA-Expression und einem damit einhergehenden erhöhten Risiko für Nav1.8-abhängige trabekuläre Arrhythmien bei SBAS-Patienten konnte auch eine signifikant positive Korrelation zwischen der *SCN10A*-mRNA-Expression und dem entsprechenden Schweregrad der Arrhythmie (ARS) dargestellt werden (siehe Abbildung 24; $p=0,035$; $R^2=0,22$).

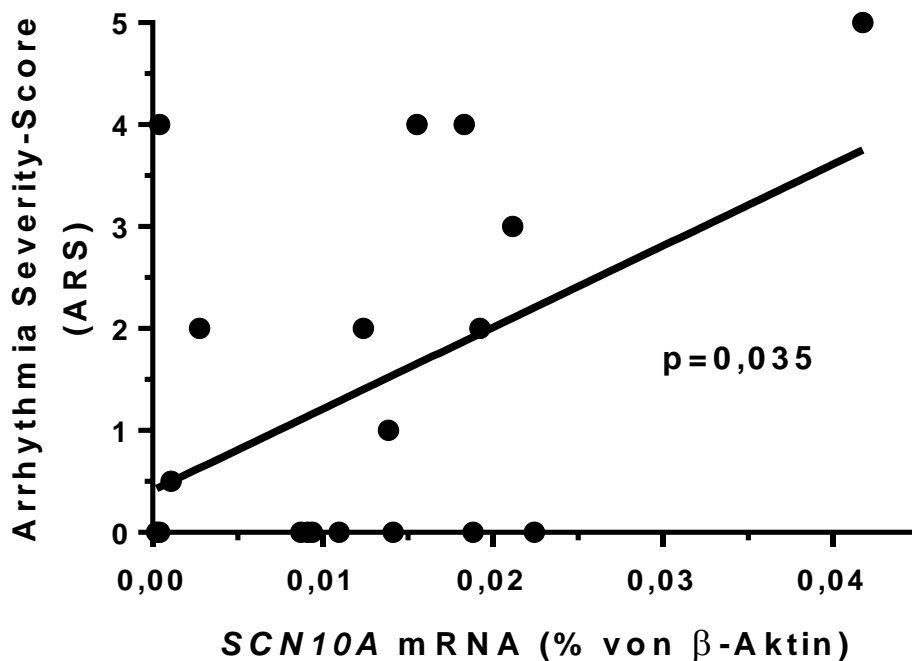


Abbildung 24: Lineare Regression zwischen Genexpression und ARS. Es zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen der Schwere der Arrhythmien (ARS) und der *SCN10A*-mRNA-Expression (in % von β -Aktin).

3.5 Klinische Komorbiditäten des Patientenkollektivs

Wie bereits aus Tabelle 10 ersichtlich ist, litten die untersuchten Patienten nicht ausschließlich an SBAS, sondern hatten oft weitere multiple Vorerkrankungen vorzuweisen. Es ist möglich, dass auch diese klinischen Komorbiditäten eine erhöhte CaMKII δ -Aktivität und eine Entwicklung von proarrhythmischen Prozessen zur Folge haben könnten. Deshalb wurden die wichtigsten der oben beschriebenen Ergebnisse auf das Vorhandensein potenzieller Confounder getestet. Dies erfolgte mittels multivariater Regressionsanalysen. Als Kovariablen wurden dabei Alter, Body Mass Index, bestehende arterielle Hypertonie, bestehende Herzinsuffizienz, bestehendes Vorhofflimmern, stattgefundenen Schlaganfall, Diabetes mellitus und Kreatinin hinzugezogen. Zunächst wurden dann die einzelnen Kovariablen univariat gegenüber der abhängigen Variable getestet. Ein P-Wert < 0,2 galt hierbei als Einschlusskriterium für die folgende multivariate Regression.

Es zeigte sich, dass der Schweregrad der schlafbezogenen Atemstörung sowohl unabhängig mit der *SCN10A*-mRNA-Expression (siehe Tabelle 12; $p=0,028$), als auch mit einer verbesserten Post-Pause-Kontraktilität unter PF (siehe Tabelle 13; $p=0,006$) korreliert.

N=29 Variable: <i>SCN10A</i> - mRNA- Expression	Univariate lineare Regressionsanalyse		Multivariate lineare Regressionsanalyse R ² = 0,259	
	B (95% KI)	P-Wert	B (95% KI)	P-Wert
AHI (/h)	0,001 (0,000; 0,001)	0,019	0,000 (0,000; 0,001)	0,028
Alter (Jahre)	0,000 (0,000; 0,001)	0,605		
Body Mass Index (kg/m ²)	0,001 (0,000; 0,001)	0,257		
Arterielle Hypertonie	0,001 (-0,011; 0,014)	0,818		
Herzinsuffizienz	0,000 (-0,011; 0,010)	0,954		
Vorhofflimmern	-0,004 (-0,017; 0,008)	0,470		
Schlaganfall	-0,004 (-0,021; 0,013)	0,614		
Diabetes mellitus	0,005 (-0,003; 0,014)	0,188	0,005 (-0,004; 0,013)	0,265
Kreatinin (mg/dL)	-0,009 (-0,026; 0,008)	0,304		

Tabelle 12: Lineare Regressionsanalysen zwischen AHI und *SCN10A*-mRNA-Expression.

N=23 Variable: relative Zunahme der Post- Pause-Kontraktilität unter PF	Univariate lineare Regressionsanalyse		Multivariate lineare Regressionsanalyse R ² =0,527	
	B (95% KI)	P- Wert	B (95% KI)	P-Wert
AHI (/h)	0,036 (0,015; 0,057)	0,002	0,040 (0,013; 0,068)	0,006
Alter (Jahre)	-0,021 (-0,048; 0,005)	0,104	-0,030 (-0,058; -0,001)	0,042
Body Mass Index (kg/m ²)	0,048 (0,001; 0,096)	0,045	0,010 (-0,041; 0,062)	0,682
Arterielle Hypertonie	-0,190 (-0,884; 0,503)	0,579		
Herzinsuffizienz	0,173 (-0,383; 0,730)	0,529		
Vorhofflimmern	-0,101 (-0,797; 0,595)	0,768		
Schlaganfall	0,329 (-0,612; 1,271)	0,480		
Diabetes mellitus	0,498 (0,054; 0,942)	0,029	0,074 (-0,395; 0,544)	0,743
Kreatinin (mg/dL)	0,370 (-0,657; 1,397)	0,467		

Tabelle 13: Lineare Regressionsanalysen zwischen AHI und relativer Zunahme der Post-Pause-Kontraktilität unter PF.

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit untersucht die Rolle des neuronalen Na⁺-Kanals Nav1.8 im Zusammenhang mit der Entstehung von Arrhythmien bei Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen (SBAS). Hierzu wurden Gewebeproben aus dem rechten Vorhof von Patienten analysiert, die sich einer aortokoronaren Bypass-Operation unterzogen hatten.

Die Ergebnisse der Studie zeigen erstmals eine erhöhte Expression von *SCN10A*-mRNA im Vorhofmyokard von SBAS-Patienten, welches unabhängig von potenziellen klinischen Störvariablen war. Dies führte zu einem erhöhten Auftreten und einer erhöhten Schwere von trabekulären Arrhythmien (vgl. PACs) bei SBAS-Patienten.

Interessanterweise konnten die proarrhythmischen Prozesse durch die selektive Inhibition von Nav1.8 mithilfe von PF effektiv unterbunden werden. Dies deutet darauf hin, dass die gezielte Hemmung dieses Na⁺-Kanals eine potenzielle therapeutische Strategie für atriale Arrhythmien bei SBAS-Patienten darstellen könnte. Dieser Ansatz könnte somit einen neuen Weg für die Behandlung von Herzrhythmusstörungen bei Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen eröffnen.

4.1 Die Entstehung von Arrhythmien bei SBAS-Patienten

Schlafbezogene Atemstörungen gewinnen zunehmend an sozioökonomischer Bedeutung und stellen eine Erkrankung dar, die mit zahlreichen Komorbiditäten verbunden ist. Eine häufige Begleiterscheinung sind atriale Arrhythmien, insbesondere das Vorhofflimmern (VHF), welches einen wesentlichen Einfluss auf die Morbidität und Mortalität dieses Patientenkollektivs hat (2, 6, 127). Obwohl bereits viele Mechanismen identifiziert wurden, die zu dieser Assoziation beitragen, sind die detaillierten Interaktionen noch nicht ausreichend verstanden.

Das strukturelle Remodeling, das durch aufkommende Myokardschäden gekennzeichnet ist (siehe Kapitel 1.7), spielt eine bedeutende Rolle im Zusammenhang zwischen schlafbezogenen Atemstörungen (SBAS) und Vorhofflimmern (VHF). Ebenso von essenzieller Bedeutung ist das charakteristische elektrische Remodeling. Ein zentrales Element in diesem Zusammenhang ist die gesteigerte Expression und Aktivität der Ca²⁺/Calmodulin-abhängigen Proteinkinase II

δ (CaMKII δ), bei der eine erhöhte Neigung zu proarrhythmischer Aktivität festgestellt werden konnte (77, 78).

Im Kontext der schlafbezogenen Atemstörungen wurden verschiedene Mechanismen identifiziert, die zu einer gesteigerten Aktivität der Ca^{2+} /Calmodulin-abhängigen Proteinkinase II δ (CaMKII δ) führen. Dazu gehören die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies durch intermittierende Hypoxie, β -adrenerge Stimulation infolge wiederholter Aufwachreaktionen sowie eine erhöhte transmurale Wandspannung aufgrund von intrathorakalen Druckschwankungen und Atemwegsobstruktion (87–91). Kürzlich konnte unsere Forschungsgruppe eine gesteigerte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) sowie folglich gesteigerte CaMKII δ -Aktivität in humanen Vorhofbiopsien von Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen nachweisen (43). In einer weiteren Studie konnten wir herausfinden, dass Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen eine verminderte Expression von Connexin-43 im Vorhofmyokard aufweisen. Diese verminderte Expression steht in Zusammenhang mit dem Auftreten von postoperativem Vorhofflimmern (128). Dieser Befund verdeutlicht am Beispiel eines weiteren proarrhythmischen Substrats die Vielzahl von Mechanismen, die in der Arrhythmogenese bei SBAS-Patienten eine Rolle spielen. Die bereits erwähnte Studie von Lebek et al. zeigte zusätzlich einen gesteigerten späten Na^+ -Einstrom ($I_{\text{Na, late}}$) bei gleichzeitig vermindertem Spitzen- Na^+ -Strom und reduzierter Expression des im Herzen vorherrschenden Na^+ -Kanals Nav1.5 (43). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass weitere Na^+ -Kanal-Isoformen an der Entstehung von Arrhythmien bei SBAS-Patienten beteiligt sein könnten. Interessanterweise wurde der neuronale Na^+ -Kanal Nav1.8 kürzlich auch im Herzen nachgewiesen und zeigte bei verschiedenen kardialen Pathologien wie Herzhypertrophie oder Herzinsuffizienz eine gesteigerte Expression, was zu einer proarrhythmogenen Dysregulation der myokardialen Na^+ - und Ca^{2+} -Homöostase führte (122, 123).

In dieser Dissertation konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen, neben einer erhöhten CaMKII δ -Aktivität und einem gesteigerten $I_{\text{Na, late}}$, auch eine erhöhte *SCN10A*-mRNA-Expression (siehe Abbildung 15) vorweisen. Diese zeigt sich unabhängig von potenziellen klinischen Komorbiditäten, wie z.B. Herzinsuffizienz oder Vorhofflimmern (siehe Tabelle 12). Die genauen Regulationsmechanismen dieser erhöhten Expression der Nav1.8-Isoform in Vorhofbiopsien von SBAS-Patienten sind allerdings noch unbekannt. Weitergehende Untersuchungen sind demnach dringend erforderlich.

4.2 Proarrhythmogene Nav1.8-abhängige Dysregulation des Na⁺-Haushalts

4.2.1 Beitrag des späten Na⁺-Stroms I_{Na, late}

Der Na⁺-Strom, der über die Zellmembran fließt und für die Generierung des Aktionspotentials verantwortlich ist, wird in einer gesunden Myokardzelle normalerweise innerhalb weniger Millisekunden inaktiviert (104). Wenn jedoch pathologische Prozesse zu einer verlängerten Aktivierung von spannungsabhängigen Na⁺-Kanälen führen, entsteht ein vergrößerter später Na⁺-Strom (I_{Na, late}) (104). Dieser führt zu einer Dysregulation des Na⁺-Stoffwechsels in der Zelle und beeinflusst folglich auch den eng verknüpften Ca²⁺-Stoffwechsel. Beides wird als Auslöser für Arrhythmien betrachtet (96, 106).

Ein gesteigerter später Na⁺-Einstrom (I_{Na, late}) wurde bereits mit der Arrhythmogenese bei zahlreichen kardialen Erkrankungen in Verbindung gebracht, darunter Pathologien wie Vorhofflimmern, Herzhypertrophie und Herzinsuffizienz (122, 123, 129). Kürzlich wurde auch eine Verbindung zwischen einem erhöhten I_{Na, late} und schlafbezogenen Atemstörungen (SBAS) hergestellt (43). In mehreren aktuellen Studien wurde ebenfalls gezeigt, dass der neuronale Na⁺-Kanal Nav1.8 maßgeblich zur Entstehung des I_{Na, late} und somit zur Generierung von Arrhythmien beiträgt (85, 107, 122–124).

Diese beiden Aspekte legen die Vermutung nahe, dass auch im Patientenkollektiv der SBAS die Isoform Nav1.8 zum erhöhten I_{Na, late} beitragen könnte.

Die in dieser Arbeit angewandte Methode, Vorhoftrabekel in einer Muskelstreifenanlage zu untersuchen, ist zur direkten Messung des späten Na⁺-Stroms nicht geeignet.

In weiterführenden Untersuchungen der Studie, in dessen Rahmen diese Dissertation verfasst wurde, konnte ein gesteigerter I_{Na, late} bei SBAS-Patienten nachgewiesen werden (1). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Vorarbeiten der Arbeitsgruppe, bei denen gleichzeitig eine verminderte *SCN5A*-mRNA-Expression bei Patienten mit SBAS auffiel (43). Die in dieser Dissertation zum ersten Mal gezeigte erhöhte *SCN10A*-mRNA-Expression bei Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen legt nahe, dass Nav1.8 maßgeblich zum I_{Na, late} bei SBAS-Patienten beiträgt. Tatsächlich wurde im Rahmen weiterführender Untersuchungen gezeigt, dass eine Inhibition des SBAS-abhängig gesteigerten I_{Na, late} durch die selektive Nav1.8-Inhibition mittels PF zu einer signifikanten Reduktion des späten Na⁺-Stroms führte (1). Der

spannungsabhängige Na^+ -Kanal $\text{Nav}1.8$ trägt somit signifikant zum erhöhten $I_{\text{Na, late}}$ bei SBAS bei.

4.2.2 Beitrag des SR- Ca^{2+} -Leck

Wie bereits mehrfach betont wurde, sind der Na^+ -Stoffwechsel und der Ca^{2+} -Stoffwechsel im Herzen eng miteinander verbunden. Ein erhöhter $I_{\text{Na, late}}$ fungiert über die Entstehung von frühen und späten Nachdepolarisationen (EADs und DADs) als proarrhythmischer Trigger (78, 106, 129). Genauer gesagt, führt eine erhöhte zytosolische Na^+ -Konzentration über den reverse mode des $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers (NCX) zu einer gesteigerten zytosolischen Ca^{2+} -Konzentration. Ein erhöhter Ca^{2+} -Spiegel führt zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für spontane Ca^{2+} -Freisetzungen aus dem SR, sowie zu einer erhöhten CaMKII δ -Aktivität. Diese erhöhte Aktivität führt zu einer gesteigerten Phosphorylierung des kardialen Ryanodinrezeptors (RyR2) und zu einer weiteren Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum (77, 79, 99, 105). All diese Faktoren tragen zu einem gesteigerten SR- Ca^{2+} -Leck bei. In diversen Arbeiten konnte bereits gezeigt werden, dass ein erhöhtes SR- Ca^{2+} -Leck einen nennenswerten Anteil an der Arrhythmogenese bei verschiedenen kardialen Pathologien hat. Eine entscheidende Rolle scheint dabei auch hier der neuronale Na^+ -Kanal $\text{Nav}1.8$ zu spielen (85, 107, 122, 124). Unter Beachtung der engen Verknüpfung von Na^+ -und Ca^{2+} -Stoffwechsel und der daraus folgenden Verbindung von erhöhtem $I_{\text{Na, late}}$ mit erhöhtem SR- Ca^{2+} -Leck scheint dies naheliegend.

Kürzlich konnten auch die schlafbezogenen Atemstörungen mit einem vergrößerten SR- Ca^{2+} -Leck in Verbindung gebracht werden (43). In aktuellen Arbeiten sollten nun die $\text{Nav}1.8$ -abhängigen Effekte auf den Ca^{2+} -Stoffwechsel, im Speziellen auf das SR- Ca^{2+} -Leck, bei SBAS-Patienten näher beleuchtet werden. Über die hier verwendete Methode wurden Post-Pause-Tests durchgeführt, welche der näherungsweisen Bestimmung des SR- Ca^{2+} -Lecks dienen. Interessanterweise zeigte sich eine signifikant größere Zunahme der Post-Pause-Kontraktilität nach selektiver $\text{Nav}1.8$ -Inhibition mittels PF bei SBAS-Patienten. Bei Patienten ohne SBAS zeigte sich dagegen kein Effekt. Dies lässt auf ein signifikant besseres Ansprechen des SBAS-Patientenkollektivs auf den $\text{Nav}1.8$ -Inhibitor schließen. Unterstrichen wurden diese Ergebnisse mittels positiver Korrelationen zwischen der PF-vermittelten Verbesserung

der Post-Pause-Kontraktilität mit sowohl dem AHI als auch der *SCN10A*-mRNA Expression.

In weiterführenden Untersuchungen der Arbeitsgruppe wurden Methoden zur direkten Messung des SR- Ca^{2+} -Lecks bei Patienten mit SBAS im Vergleich zu Patienten ohne SBAS verwendet. Es konnten sowohl eine erhöhte Frequenz an Ca^{2+} -Sparks, als auch ein erhöhter nicht-stimulierter Austritt von Ca^{2+} -Ionen aus dem SR bei SBAS-Patienten detektiert werden. Beides ist vereinbar mit einem erhöhten SR- Ca^{2+} -Leck und zeigte sich unabhängig von klinischen Komorbiditäten (1). SBAS scheint also ein Risikofaktor für ein gesteigertes SR- Ca^{2+} -Leck, unabhängig von Faktoren wie Herzinsuffizienz oder Vorhofflimmern, zu sein. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit Vorarbeiten der Forschungsgruppe, in denen eine erhöhte CaMKII δ -abhängige Phosphorylierung des Ryanodinrezeptors RyR2 an Serin 2814 bei Patienten mit SBAS gezeigt werden konnte (43). Eine erhöhte Ca^{2+} -Spark-Frequenz konnte auch in einer weiteren Arbeit der Arbeitsgruppe bewiesen werden. Hier fiel auch eine gesteigerte Oxidation der CaMKII δ bei SBAS-Patienten auf, welche in einer gesteigerten CaMKII δ -Aktivität resultierte und mit der Schwere der Erkrankung (vgl. AHI) korrelierte (130). Zusätzlich liegen Informationen über eine schädliche proarrhythmogene Interaktion zwischen der CaMKII δ und dem Nav1.8 bei Patienten mit Herzinsuffizienz vor (107).

LEBEK und HEGNER et al. konnten durch selektive Nav1.8-Inhibition eine signifikante Reduktion des SR- Ca^{2+} -Lecks bei SBAS-Patienten nachweisen und unterstrichen somit die auch in dieser Dissertation festgestellte proarrhythmogene Relevanz des Nav1.8 im Rahmen der schlafbezogenen Atemstörungen (1).

4.2.3 Beitrag der PACs

Die beiden oben bereits erläuterten, eng miteinander verknüpften, proarrhythmogenen Faktoren, $I_{\text{Na, late}}$ und SR- Ca^{2+} -Leck, gelten als wichtige Trigger für die Entstehung von multizellulären Arrhythmien (43, 78, 85). Diese wurden durch vorzeitige Vorhofkontraktionen (PACs=premature atrial contractions) repräsentiert und durch den „Arrhythmia Severity Score“ (ARS) klassifiziert. Ein gleiches Prinzip wurde bereits in Vorarbeiten der Arbeitsgruppe publiziert und für diese Dissertation als etabliert vorausgesetzt (43). Die Messung der PACs von atrialen Trabekeln gilt als Bestätigung der beiden auf die Zellebene bezogenen proarrhythmogenen Faktoren, $I_{\text{Na, late}}$ und SR- Ca^{2+} -Leck, im Zellverband. Dies stellte das zentrale Element dieser Doktorarbeit dar.

Aufgrund der bereits erläuterten Nav1.8-abhängigen proarrhythmogenen Dysregulation des Na⁺- und Ca²⁺-Stoffwechsels bei schlafbezogenen Atemstörungen scheint es logisch, dass SBAS-Patienten eine erhöhte Häufigkeit und Schwere von trabekulären Arrhythmien aufweisen. In der Tat zeigten sich im Kontext der SBAS signifikant mehr und schwerwiegendere Arrhythmien, welche mit der Schwere der zugrundeliegenden Erkrankung (vgl. AHI) korrelierten. Diese Ergebnisse stehen in Übereinkunft mit einer bereits veröffentlichten Studie der Arbeitsgruppe, welche die CaMKII δ -Inhibition als antiarrhythmischen Ansatz in der Arrhythmogenese bei SBAS-Patienten untersuchte (43). Neu hinzugewonnene Erkenntnisse dieser Arbeit sind, dass die selektive Nav1.8-Inhibition mittels PF zu einer signifikanten Reduktion der Arrhythmien bei SBAS-Patienten und zu einer Auflösung der Korrelation zwischen ARS und AHI führt. Zusätzlich konnte in dieser Arbeit zum ersten Mal eine signifikant positive Korrelation zwischen dem ARS und der *SCN10A*-mRNA gezogen werden. Dies deutet darauf hin, dass die PF-Inhibition als selektive antiarrhythmische Strategie bei Patienten mit SBAS in Frage kommen könnte.

4.3 Nav1.8-Inhibition als neue antiarrhythmische Möglichkeit bei SBAS

Aktuell ist die Therapie mit CPAP (= „continuous positive airway pressure“) das Mittel der Wahl bei der Behandlung von SBAS-abhängigen Arrhythmien. Anders als ursprünglich gedacht, zeigen neue Erkenntnisse jedoch, dass eine CPAP-Behandlung bei SBAS-Patienten mit paroxysmalem Vorhofflimmern nicht zwangsläufig zu einer Reduzierung der Belastung durch VHF führt (130). Zusätzlich sind interventionelle Therapien, wie die kathetergestützte Pulmonalvenenisolation, mit erhöhten Risiken verbunden (131). Auch die Compliance für die CPAP-Therapie, gerade bei oligosymptomatischen Patienten, zeigte sich niedrig (8). Zudem konnten sogar Hinweise gegeben werden, dass Patienten mit HFrEF (Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion) und zentraler Schlafapnoe (ZSA) unter ASV-Therapie (adaptive Servoventilation) eine erhöhte kardiovaskuläre sowie Gesamtmortalität zeigen (9). All diese Faktoren legen nahe, dass neue antiarrhythmische Möglichkeiten bei SBAS-Patienten dringend benötigt werden. Dies erfordert einen tiefgreifenden Einblick in die zugrundeliegenden Pathomechanismen.

Wie oben bereits dargestellt, sind $I_{Na, late}$ und SR- Ca^{2+} -Leck wesentliche Triggerfaktoren für die Entstehung von multizellulären Arrhythmien, gemessen und dargestellt durch PACs (43, 78, 85). In Vorarbeiten wurde dieser Aspekt unter dem Gesichtspunkt der CaMKII δ -Inhibition als potenzielle antiarrhythmische Herangehensweise an die Behandlung von Arrhythmien bei SBAS-Patienten beleuchtet (43). Einige CaMKII δ -Inhibitoren befinden sich bereits in präklinischer Prüfung (132–135). Darunter auch der ATP-kompetitive CaMKII δ -Inhibitor GS-680. Dieser reduzierte sowohl multizelluläre Arrhythmien, EADs und DADs, als auch das SR- Ca^{2+} -Leck in rechtsatrialen Biopsien von Patienten, die sich einem herzchirurgischen Eingriff unterzogen (136). Leider gestaltet sich eine CaMKII δ -Inhibition sehr schwierig. Durch mangelnde Bioverfügbarkeit und Schwierigkeiten in der CaMKII δ -Isoform-Spezifität sowie der Substrat-Spezifität der jeweiligen Inhibitoren gibt es zum jetzigen Zeitpunkt keine klinisch verfügbare Substanz (137, 138).

Daher ist es wichtig, alternative Möglichkeiten eines antiarrhythmischen Therapieansatzes bei SBAS-Patienten zu untersuchen. Die in dieser Arbeit gezeigte signifikante Reduktion der Häufigkeit und Schwere von trabekulären Arrhythmien bei SBAS-Patienten mittels selektiver Nav1.8-Inhibition durch PF liefert eine vielversprechende Option diesem Ziel nachzukommen. PF gilt dabei als hochselektiver Inhibitor des spannungsabhängigen Na^+ -Kanals Nav1.8 und wirkt damit nur auf den $I_{Na, late}$ (123).

Kürzlich konnte BENGEL et al. eine direkte Interaktion zwischen der CaMKII δ und dem Nav1.8 beweisen. In einem Mausmodell mit CaMKII δ -Überexpression konnte durch selektive Nav1.8-Inhibition ein erhöhter $I_{Na, late}$ sowie ein erhöhtes SR- Ca^{2+} -Leck signifikant reduziert werden. Ein durch CRISPR-Cas9 generierter genetischer Knockout des Nav1.8 schützte vor Arrhythmien und reduzierte eine durch CaMKII δ -Überexpression hervorgerufene erhöhte Mortalität (107).

Dies unterstreicht ebenfalls die Ergebnisse dieser Arbeit hinsichtlich der Nav1.8-Inhibition als möglichen Therapieansatz für die Behandlung von Arrhythmien bei Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen. Vor einer möglichen klinischen Studie werden jedoch noch weitere Forschungsarbeiten benötigt, wie zum Beispiel tiefere pharmakologische Analysen und die *in vivo* Untersuchung einer Nav1.8-Inhibition im Tiermodell mit schlafbezogenen Atemstörungen.

5 Zusammenfassung

Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen (SBAS) entwickeln häufig Vorhofflimmern (VHF). In Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass ein verstärkter später Na^+ -Strom ($I_{\text{Na, late}}$), verursacht durch eine erhöhte Phosphorylierung des spannungsabhängigen Na^+ -Kanals $\text{Nav}1.5$ durch die Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Kinase II δ (CaMKII δ), zu proarrhythmischer Aktivität im Vorhof bei Patienten mit SBAS beiträgt. Interessanterweise legen aktuelle Daten nahe, dass auch der $\text{Nav}1.8$ -abhängige $I_{\text{Na, late}}$ an der Entwicklung von VHF bei SBAS-Patienten beteiligt sein könnte.

Es wurde somit die Hypothese aufgestellt, dass die *SCN10A*-mRNA-Expression und die daraus resultierenden $\text{Nav}1.8$ -abhängigen proarrhythmischen Prozesse bei Patienten mit SBAS erhöht sein könnten.

Biopsien des rechten Vorhofohres von insgesamt 29 Patienten, welche sich einer aortokoronaren Bypass-Operation unterzogen, wurden gesammelt. Während der präoperativen Nacht wurden diese mittels Polygraphie auf das Vorliegen einer SBAS untersucht, wobei das Vorliegen der Erkrankung durch einen Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI) $\geq 15/\text{h}$ definiert wurde. Durch elektrische Feldstimulation (bei 1 Hz, 5 V für 50 ms, bei 37 °C) wurden Kontraktionen in isolierten atrialen Trabekeln ausgelöst, um die Kontraktilität und die proarrhythmische Aktivität zu analysieren. Anschließend wurde das atriale Myokard für die qPCR verwendet, um funktionale und expressionsbezogene Daten für jeden einzelnen Patienten korrelieren zu können. Auffälligerweise zeigte sich eine Zunahme der *SCN10A*-mRNA-Expression bei Patienten mit SBAS, die signifikant positiv mit der Schwere der Erkrankung (AHI) korrelierte. Die Kontraktilität nach einer Stimulationspause von 30 Sekunden im Vergleich zur Kontraktilität vor der Pause (Post-Pause-Kontraktilität) wurde untersucht, um das SR- Ca^{2+} -Leck näherungsweise abzuschätzen. Die selektive Hemmung von $\text{Nav}1.8$ durch Exposition gegenüber PF führte bei Patienten mit SBAS zu einem signifikant größeren Anstieg der Kontraktilität nach der Pause im Vergleich zu Patienten ohne SBAS und zu einer signifikant positiven Korrelation mit dem AHI. Darüber hinaus korrelierte der durch PF bedingte Anstieg der Post-Pause-Kontraktilität signifikant positiv mit der *SCN10A*-mRNA-Expression. In Übereinstimmung damit zeigte sich die RT90 (Zeit bis zu 90%iger Relaxation der Muskeltrabekel) bei Exposition gegenüber PF bei Patienten mit SBAS signifikant reduziert, während bei

Patienten ohne SBAS keine Wirkung beobachtet wurde. Trabekuläre Arrhythmien wurden durch Isoproterenol bei erhöhter Ca^{2+} -Konzentration induziert und die Schwere der Arrhythmien wurde mittels eines „Arrhythmia Severity Score“ (ARS) von 0 Punkten (keine Arrhythmien) bis 5 Punkte (Salve) bewertet. Die Schwere der Arrhythmien bei Patienten mit SBAS war signifikant erhöht und konnte durch die selektive Nav1.8-Blockade mit PF signifikant reduziert werden. In Übereinstimmung damit wurde die signifikante positive Korrelation zwischen der Schwere der trabekulären Arrhythmien und dem AHI durch PF vollständig aufgehoben.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die *SCN10A*-mRNA-Expression bei Patienten mit SBAS erhöht ist. Durch die selektive Hemmung des Nav1.8 konnte die atriale proarrhythmische Aktivität bei Patienten mit SBAS reduziert werden, was zu einem neuen therapeutischen Ansatz führen könnte.

6 Literaturverzeichnis

1. Lebek S, Hegner P, Hultsch R, Rohde J, Rupprecht L, Schmid C et al. Voltage-Gated Sodium Channel NaV1.8 Dysregulates Na and Ca, Leading to Arrhythmias in Patients with Sleep-Disordered Breathing. *Am J Respir Crit Care Med* 2022; 206(11):1428–31. doi: 10.1164/rccm.202205-0981LE.
2. Benjafield AV, Ayas NT, Eastwood PR, Heinzer R, Ip MSM, Morrell MJ et al. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: a literature-based analysis. *Lancet Respir Med* 2019; 7(8):687–98. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30198-5.
3. Pengo MF, Soranna D, Giontella A, Perger E, Mattaliano P, Schwarz EI et al. Obstructive sleep apnoea treatment and blood pressure: which phenotypes predict a response? A systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 2020; 55(5). doi: 10.1183/13993003.01945-2019.
4. Lebek S, Hegner P, Tafelmeier M, Rupprecht L, Schmid C, Maier LS et al. Female Patients With Sleep-Disordered Breathing Display More Frequently Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Front Med (Lausanne)* 2021; 8:675987. doi: 10.3389/fmed.2021.675987.
5. Buchner S, Eglseer M, Debl K, Hetzenecker A, Luchner A, Husser O et al. Sleep disordered breathing and enlargement of the right heart after myocardial infarction. *Eur Respir J* 2015; 45(3):680–90. doi: 10.1183/09031936.00057014.
6. Gami Apoor S., Hodge Dave O., Herges Regina M., Olson Eric J., Nykodym Jiri, Kara Tomas et al. Obstructive Sleep Apnea, Obesity, and the Risk of Incident Atrial Fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology* 2007; 49(5):565–71. doi: 10.1016/j.jacc.2006.08.060.
7. Linz D, McEvoy RD, Cowie MR, Somers VK, Nattel S, Lévy P et al. Associations of Obstructive Sleep Apnea With Atrial Fibrillation and Continuous Positive Airway Pressure Treatment: A Review. *JAMA Cardiol* 2018; 3(6):532–40. doi: 10.1001/jamacardio.2018.0095.

8. McEvoy RD, Antic NA, Heeley E, Luo Y, Ou Q, Zhang X et al. CPAP for Prevention of Cardiovascular Events in Obstructive Sleep Apnea. *N Engl J Med* 2016; 375(10):919–31. doi: 10.1056/NEJMoa1606599.
9. Cowie MR, Woehrle H, Wegscheider K, Angermann C, d'Ortho M-P, Erdmann E et al. Adaptive Servo-Ventilation for Central Sleep Apnea in Systolic Heart Failure. *N Engl J Med* 2015; 373(12):1095–105. doi: 10.1056/NEJMoa1506459.
10. Bers DM. Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force. Dordrecht: Springer Netherlands; 2001. (Bd. 237).
11. Welsch U, Deller T, Kummer W. Lehrbuch Histologie. 4. Auflage. München: Elsevier Urban & Fischer; 2014.
12. Squire JM. Muscle contraction: Sliding filament history, sarcomere dynamics and the two Huxleys. *Glob Cardiol Sci Pract* 2016; 2016(2):e201611. doi: 10.21542/gcsp.2016.11.
13. Mukund K, Subramaniam S. Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2020; 12(1):e1462. doi: 10.1002/wsbm.1462.
14. Huxley HE. The mechanism of muscular contraction. *Science* 1969; 164(3886):1356–65. doi: 10.1126/science.164.3886.1356.
15. Borrmann CM, Grund C, Kuhn C, Hofmann I, Pieperhoff S, Franke WW. The area composita of adhering junctions connecting heart muscle cells of vertebrates. II. Colocalizations of desmosomal and fascia adhaerens molecules in the intercalated disk. *Eur J Cell Biol* 2006; 85(6):469–85. doi: 10.1016/j.ejcb.2006.02.009.
16. Mello WC de. Intercellular communication in cardiac muscle. *Circ Res* 1982; 51(1):1–9. doi: 10.1161/01.RES.51.1.1.
17. Severs NJ. The cardiac muscle cell. *Bioessays* 2000; 22(2):188–99. doi: 10.1002/(SICI)1521-1878(200002)22:2<188::AID-BIES10>3.0.CO;2-T.
18. Unwin PN, Zampighi G. Structure of the junction between communicating cells. *Nature* 1980; 283(5747):545–9. doi: 10.1038/283545a0.

19. Junqueira LC, Carneiro J. Histologie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1996.
20. Barth E, Stämmler G, Speiser B, Schaper J. Ultrastructural quantitation of mitochondria and myofilaments in cardiac muscle from 10 different animal species including man. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 1992; 24(7):669–81. Verfügbar unter: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002228289293381S>.
21. Fozzard HA, Sheu SS. The resting potential in heart muscle. *Adv Myocardiol* 1982; 3:125–33. doi: 10.1007/978-1-4899-5561-6_14.
22. Vassalle M. Contribution of the Na⁺/K⁺-pump to the membrane potential. *Experientia* 1987; 43(11-12):1135–40. doi: 10.1007/bf01945511.
23. Eisner DA, Caldwell JL, Kistamás K, Trafford AW. Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. *Circ Res* 2017; 121(2):181–95. doi: 10.1161/circresaha.117.310230.
24. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* 1983; 245(1):C1-14. doi: 10.1152/ajpcell.1983.245.1.C1.
25. Kirschenlohr HL, Grace AA, Vandenberg JI, Metcalfe JC, Smith GA. Estimation of systolic and diastolic free intracellular Ca²⁺ by titration of Ca²⁺ buffering in the ferret heart. *Biochem J* 2000; 346 Pt 2(Pt 2):385–91. Verfügbar unter: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10677357>.
26. Bremel RD, Weber A. Cooperation within actin filament in vertebrate skeletal muscle. *Nat New Biol* 1972; 238(82):97–101. doi: 10.1038/newbio238097a0.
27. Huxley HE. Muscular contraction and cell motility. *Nature* 1973; 243(5408):445–9. doi: 10.1038/243445a0.
28. James P, Inui M, Tada M, Chiesi M, Carafoli E. Nature and site of phospholamban regulation of the Ca²⁺ pump of sarcoplasmic reticulum. *Nature* 1989; 342(6245):90–2. doi: 10.1038/342090a0.
29. Kim HW, Steenaart NA, Ferguson DG, Kranias EG. Functional reconstitution of the cardiac sarcoplasmic reticulum Ca²⁺(+)-ATPase with phospholamban in phospholipid vesicles. *J Biol Chem* 1990; 265(3):1702–9.

30. Bassani RA, Bassani JW, Bers DM. Relaxation in ferret ventricular myocytes: unusual interplay among calcium transport systems. *J Physiol* 1994; 476(2):295–308. doi: 10.1113/jphysiol.1994.sp020131.
31. Shattock MJ, Ottolia M, Bers DM, Blaustein MP, Boguslavskiy A, Bossuyt J et al. Na⁺/Ca²⁺ exchange and Na⁺/K⁺-ATPase in the heart. *J Physiol* 2015; 593(6):1361–82. doi: 10.1113/jphysiol.2014.282319.
32. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* 2002; 415(6868):198–205. doi: 10.1038/415198a.
33. Gordon AM, Huxley AF, Julian FJ. The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *J Physiol* 1966; 184(1):170–92. doi: 10.1113/jphysiol.1966.sp007909.
34. Konhilas JP, Irving TC, Tombe PP de. Frank-Starling law of the heart and the cellular mechanisms of length-dependent activation. *Pflugers Arch* 2002; 445(3):305–10. doi: 10.1007/s00424-002-0902-1.
35. ALLEN D, KENTISH J. The cellular basis of the length-tension relation in cardiac muscle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 1985; 17(9):821–40. doi: 10.1016/s0022-2828(85)80097-3.
36. Boyett MR, Frampton JE, Harrison SM, Kirby MS, Levi AJ, McCall E, Milner DR, Orchard CH., Hrsg. The role of intracellular calcium, sodium and ph in rate-dependent changes of cardiac contractile force. In: "The interval-force relationship of the heart:: Bowditch revisited. Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press; 1992.
37. Alpert NR, Leavitt BJ, Ittleman FP, Hasenfuss G, Pieske B, Mulieri LA. A mechanistic analysis of the force-frequency relation in non-failing and progressively failing human myocardium. *Basic Research in Cardiology* 1998; 93 Suppl 1:23–32. doi: 10.1007/s003950050200.
38. Brixius K, Pietsch M, Schwinger RH. The intracellular Ca²⁺-homeostasis influences the frequency-dependent force-generation in man. *Basic Research in Cardiology* 1999; 94(3):152–8. doi: 10.1007/s003950050138.

39. 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. doi: 10.1161/01.cir.93.1.120.
40. KOCH-WESER J, BLINKS JR. THE INFLUENCE OF THE INTERVAL BETWEEN BEATS ON MYOCARDIAL CONTRACTILITY. *Pharmacol Rev* 1963; 15:601–52.
41. Pieske B, Sütterlin M, Schmidt-Schweda S, Minami K, Meyer M, Olschewski M et al. Diminished post-rest potentiation of contractile force in human dilated cardiomyopathy. Functional evidence for alterations in intracellular Ca²⁺ handling. *J Clin Invest* 1996; 98(3):764–76. doi: 10.1172/JCI118849.
42. Bers DM. Ca influx and sarcoplasmic reticulum Ca release in cardiac muscle activation during postrest recovery. *Am J Physiol* 1985; 248(3 Pt 2):H366-81. doi: 10.1152/ajpheart.1985.248.3.H366.
43. Lebek S, Pichler K, Reuthner K, Trum M, Tafelmeier M, Mustroph J et al. Enhanced CaMKII-Dependent Late I_{Na} Induces Atrial Proarrhythmic Activity in Patients With Sleep-Disordered Breathing. *Circ Res* 2020; 126(5):603–15. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315755.
44. TSIEN R, BEAN B, HESS P, LANSMAN J, NILIUS B, NOWYCKY M. Mechanisms of calcium channel modulation by β -adrenergic agents and dihydropyridine calcium agonists. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 1986; 18(7):691–710. doi: 10.1016/s0022-2828(86)80941-5.
45. Valdivia HH, Kaplan JH, Ellis-Davies GC, Lederer WJ. Rapid adaptation of cardiac ryanodine receptors: modulation by Mg²⁺ and phosphorylation. *Science* 1995; 267(5206):1997–2000. doi: 10.1126/science.7701323.
46. Luo W, Grupp IL, Harrer J, Ponniah S, Grupp G, Duffy JJ et al. Targeted ablation of the phospholamban gene is associated with markedly enhanced myocardial contractility and loss of beta-agonist stimulation. *Circ Res* 1994; 75(3):401–9. doi: 10.1161/01.res.75.3.401.
47. Roebuck A, Clifford GD. Comparison of Standard and Novel Signal Analysis Approaches to Obstructive Sleep Apnea Classification. *Front Bioeng Biotechnol* 2015; 3:114. doi: 10.3389/fbioe.2015.00114.

48. Linz D, Linz B, Hohl M, Böhm M. Atrial arrhythmogenesis in obstructive sleep apnea: Therapeutic implications. *Sleep Med Rev* 2016; 26:87–94. doi: 10.1016/j.smr.2015.03.003.
49. Rodenbeck A. Manual der American Academy of Sleep Medicine. *Somnologie* 2013; 17(2):122–30. doi: 10.1007/s11818-013-0611-3.
50. Sleep-Related Breathing Disorders in Adults: Recommendations for Syndrome Definition and Measurement Techniques in Clinical Research. *Sleep* 1999; 22(5):667–89. doi: 10.1093/sleep/22.5.667.
51. Peppard PE, Young T, Barnet JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased Prevalence of Sleep-Disordered Breathing in Adults. *Am J Epidemiol* 2013; 177(9):1006–14. doi: 10.1093/aje/kws342.
52. Donovan LM, Kapur VK. Prevalence and Characteristics of Central Compared to Obstructive Sleep Apnea: Analyses from the Sleep Heart Health Study Cohort. *Sleep* 2016; 39(7):1353–9. doi: 10.5665/sleep.5962.
53. Eckert DJ, Jordan AS, Merchia P, Malhotra A. Central sleep apnea: Pathophysiology and treatment. *Chest* 2007; 131(2):595–607. doi: 10.1378/chest.06.2287.
54. Bekfani T, Abraham WT. Current and future developments in the field of central sleep apnoea. *Europace* 2016; 18(8):1123–34. doi: 10.1093/europace/euv435.
55. Sin DD, Fitzgerald F, Parker JD, Newton G, Floras JS, Bradley TD. Risk factors for central and obstructive sleep apnea in 450 men and women with congestive heart failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160(4):1101–6. doi: 10.1164/ajrccm.160.4.9903020.
56. Dowell AR, Buckley CE, Cohen R, Whalen RE, Sieker HO. Cheyne-Stokes respiration. A review of clinical manifestations and critique of physiological mechanisms. *Arch Intern Med* 1971; 127(4):712–26. doi: 10.1001/archinte.127.4.712.
57. American Sleep Apnea Association. Central Sleep Apnea and Obstructive Sleep Apnea. Verfügbar unter: <https://www.sleepapnea.org/learn/sleep-apnea/central-sleep-apnea/>.

58. Bradley TD, Floras JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *The Lancet* 2009; 373(9657):82–93. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61622-0.
59. Schwartz AR, Patil SP, Laffan AM, Polotsky V, Schneider H, Smith PL. Obesity and obstructive sleep apnea: pathogenic mechanisms and therapeutic approaches. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5(2):185–92. doi: 10.1513/pats.200708-137MG.
60. Davies RJ, Stradling JR. The relationship between neck circumference, radiographic pharyngeal anatomy, and the obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir J* 1990; 3(5):509–14.
61. Arzt M, Woehrle H, Oldenburg O, Graml A, Suling A, Erdmann E et al. Prevalence and Predictors of Sleep-Disordered Breathing in Patients With Stable Chronic Heart Failure: The SchlaHF Registry. *JACC Heart Fail* 2016; 4(2):116–25. doi: 10.1016/j.jchf.2015.09.014.
62. Collop NA, Anderson WM, Boehlecke B, Claman D, Goldberg R, Gottlieb DJ et al. Clinical guidelines for the use of unattended portable monitors in the diagnosis of obstructive sleep apnea in adult patients. Portable Monitoring Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med* 2007; 3(7):737–47. Verfügbar unter: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18198809>.
63. Tafelmeier M, Knapp M, Lebek S, Floerchinger B, Camboni D, Wittmann S et al. Rationale and design of the CONSIDER AF study. *Somnologie* 2019; 23(1):17–28. doi: 10.1007/s11818-019-0196-6.
64. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165(9):1217–39. doi: 10.1164/rccm.2109080.
65. Johnson KG, Johnson DC. Treatment of sleep-disordered breathing with positive airway pressure devices: technology update. *Med Devices (Auckl)* 2015; 8:425–37. doi: 10.2147/MDER.S70062.
66. Kuhl S, Hollandt JH, Siegert R. Therapie mit nasalem CPAP (continuous positive airway pressure) bei Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoe Syndrom (OSAS). Teil II: Nebenwirkungen der nCPAP-Therapie. Einfluss auf die

- Langzeitakzeptanz. *Laryngorhinootologie* 1997; 76(10):608–13. doi: 10.1055/s-2007-997488.
67. Calik MW. Treatments for Obstructive Sleep Apnea. *J Clin Outcomes Manag* 2016; 23(4):181–92.
68. Schnabel RB, Wilde S, Wild PS, Munzel T, Blankenberg S. Atrial fibrillation: its prevalence and risk factor profile in the German general population. *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109(16):293–9. Verfügbar unter: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22577476>.
69. Schnabel RB, Yin X, Gona P, Larson MG, Beiser AS, McManus DD et al. 50 year trends in atrial fibrillation prevalence, incidence, risk factors, and mortality in the Framingham Heart Study: a cohort study. *The Lancet* 2015; 386(9989):154–62. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61774-8.
70. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Eur Heart J* 2016; 37(38):2893–962. doi: 10.1093/eurheartj/ehw210.
71. Freeman JV, Simon DN, Go AS, Spertus J, Fonarow GC, Gersh BJ et al. Association Between Atrial Fibrillation Symptoms, Quality of Life, and Patient Outcomes: Results From the Outcomes Registry for Better Informed Treatment of Atrial Fibrillation (ORBIT-AF). *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2015; 8(4):393–402. doi: 10.1161/CIRCOUTCOMES.114.001303.
72. Guidelines for Pharmacotherapy of Atrial Fibrillation (JCS 2013). *Circ J* 2014; 78(8):1997–2021. doi: 10.1253/circj.cj-66-0092.
73. Lau DH, Nattel S, Kalman JM, Sanders P. Modifiable Risk Factors and Atrial Fibrillation. *Circulation* 2017; 136(6):583–96. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023163.
74. Weiss JN, Qu Z, Chen P-S, Lin S-F, Karagueuzian HS, Hayashi H et al. The dynamics of cardiac fibrillation. *Circulation* 2005; 112(8):1232–40. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.529545.

75. Wagner S, Maier LS, Bers DM. Role of sodium and calcium dysregulation in tachyarrhythmias in sudden cardiac death. *Circ Res* 2015; 116(12):1956–70. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304678.
76. Cheng H, Lederer WJ, Cannell MB. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. *Science* 1993; 262(5134):740–4. doi: 10.1126/science.8235594.
77. Voigt N, Li N, Wang Q, Wang W, Trafford AW, Abu-Taha I et al. Enhanced sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ leak and increased Na⁺-Ca²⁺ exchanger function underlie delayed afterdepolarizations in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation* 2012; 125(17):2059–70. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.067306.
78. Neef S, Dybkova N, Sossalla S, Ort KR, Fluschnik N, Neumann K et al. CaMKII-dependent diastolic SR Ca²⁺ leak and elevated diastolic Ca²⁺ levels in right atrial myocardium of patients with atrial fibrillation. *Circ Res* 2010; 106(6):1134–44. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.203836.
79. Schlotthauer K, Bers DM. Sarcoplasmic reticulum Ca(2+) release causes myocyte depolarization. Underlying mechanism and threshold for triggered action potentials. *Circ Res* 2000; 87(9):774–80. doi: 10.1161/01.res.87.9.774.
80. Antzelevitch C, Belardinelli L. The role of sodium channel current in modulating transmural dispersion of repolarization and arrhythmogenesis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006; 17 Suppl 1(Suppl 1):S79-S85. doi: 10.1111/j.1540-8167.2006.00388.x.
81. Iwasaki Y, Nishida K, Kato T, Nattel S. Atrial fibrillation pathophysiology: implications for management. *Circulation* 2011; 124(20):2264–74. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.019893.
82. Song Y, Shryock JC, Belardinelli L. An increase of late sodium current induces delayed afterdepolarizations and sustained triggered activity in atrial myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294(5):H2031-9. doi: 10.1152/ajpheart.01357.2007.

83. Shryock JC, Song Y, Rajamani S, Antzelevitch C, Belardinelli L. The arrhythmogenic consequences of increasing late INa in the cardiomyocyte. *Cardiovasc Res* 2013; 99(4):600–11. doi: 10.1093/cvr/cvt145.
84. Fischer TH, Herting J, Mason FE, Hartmann N, Watanabe S, Nikolaev VO et al. Late INa increases diastolic SR-Ca²⁺-leak in atrial myocardium by activating PKA and CaMKII. *Cardiovasc Res* 2015; 107(1):184–96. doi: 10.1093/cvr/cvv153.
85. Pabel S, Ahmad S, Tirilomis P, Stehle T, Mustroph J, Knierim M et al. Inhibition of NaV1.8 prevents atrial arrhythmogenesis in human and mice. *Basic Research in Cardiology* 2020; 115(2):20. doi: 10.1007/s00395-020-0780-8.
86. Li L, Wang Z, Li J, Ge X, Guo L, Wang Y et al. Efficacy of catheter ablation of atrial fibrillation in patients with obstructive sleep apnoea with and without continuous positive airway pressure treatment: a meta-analysis of observational studies. *Europace* 2014; 16(9):1309–14. doi: 10.1093/europace/euu066.
87. Chan KH, Wilcox I. Obstructive sleep apnea: novel trigger and potential therapeutic target for cardiac arrhythmias. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2010; 8(7):981–94. doi: 10.1586/erc.10.80.
88. Rossi VA, Stradling JR, Kohler M. Effects of obstructive sleep apnoea on heart rhythm. *Eur Respir J* 2013; 41(6):1439–51. doi: 10.1183/09031936.00128412.
89. Linz D, Schotten U, Neuberger H-R, Böhm M, Wirth K. Negative tracheal pressure during obstructive respiratory events promotes atrial fibrillation by vagal activation. *Heart Rhythm* 2011; 8(9):1436–43. doi: 10.1016/j.hrthm.2011.03.053.
90. Hedner J, Ejnell H, Sellgren J, Hedner T, Wallin G. Is high and fluctuating muscle nerve sympathetic activity in the sleep apnoea syndrome of pathogenetic importance for the development of hypertension? *J Hypertens Suppl* 1988; 6(4):S529-31. doi: 10.1097/00004872-198812040-00166.
91. Linz D, Hohl M, Nickel A, Mahfoud F, Wagner M, Ewen S et al. Effect of renal denervation on neurohumoral activation triggering atrial fibrillation in obstructive sleep apnea. *Hypertension* 2013; 62(4):767–74. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01728.

92. Kohler M, Stradling JR. Mechanisms of vascular damage in obstructive sleep apnea. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7(12):677–85. doi: 10.1038/nrcardio.2010.145.
93. Kasai T, Bradley TD. Obstructive sleep apnea and heart failure: pathophysiologic and therapeutic implications. *Journal of the American College of Cardiology* 2011; 57(2):119–27. doi: 10.1016/j.jacc.2010.08.627.
94. Nattel S, Harada M. Atrial remodeling and atrial fibrillation: recent advances and translational perspectives. *Journal of the American College of Cardiology* 2014; 63(22):2335–45. doi: 10.1016/j.jacc.2014.02.555.
95. Hudmon A, Schulman H. Neuronal CA²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II: the role of structure and autoregulation in cellular function. *Annu Rev Biochem* 2002; 71:473–510. doi: 10.1146/annurev.biochem.71.110601.135410.
96. Wagner S, Ruff HM, Weber SL, Bellmann S, Sowa T, Schulte T et al. Reactive oxygen species-activated Ca/calmodulin kinase II δ is required for late I(Na) augmentation leading to cellular Na and Ca overload. *Circ Res* 2011; 108(5):555–65. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.221911.
97. Dybkova N, Wagner S, Backs J, Hund TJ, Mohler PJ, Sowa T et al. Tubulin polymerization disrupts cardiac β -adrenergic regulation of late I_{Na}. *Cardiovasc Res* 2014; 103(1):168–77. doi: 10.1093/cvr/cvu120.
98. Anderson ME, Brown JH, Bers DM. CaMKII in myocardial hypertrophy and heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2011; 51(4):468–73. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.01.012.
99. Rokita AG, Anderson ME. New therapeutic targets in cardiology: arrhythmias and Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II (CaMKII). *Circulation* 2012; 126(17):2125–39. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.124990.
100. Wagner S, Rokita AG, Anderson ME, Maier LS. Redox regulation of sodium and calcium handling. *Antioxid Redox Signal* 2013; 18(9):1063–77. doi: 10.1089/ars.2012.4818.
101. Erickson JR, Joiner MA, Guan X, Kutschke W, Yang J, Oddis CV et al. A dynamic pathway for calcium-independent activation of CaMKII by methionine oxidation. *Cell* 2008; 133(3):462–74. doi: 10.1016/j.cell.2008.02.048.

102. Curran J, Hinton MJ, Ríos E, Bers DM, Shannon TR. Beta-adrenergic enhancement of sarcoplasmic reticulum calcium leak in cardiac myocytes is mediated by calcium/calmodulin-dependent protein kinase. *Circ Res* 2007; 100(3):391–8. doi: 10.1161/01.RES.0000258172.74570.e6.
103. Johnson CN, Pattanayek R, Potet F, Rebbeck RT, Blackwell DJ, Nikolaienko R et al. The CaMKII inhibitor KN93-calmodulin interaction and implications for calmodulin tuning of NaV1.5 and RyR2 function. *Cell Calcium* 2019; 82:102063. doi: 10.1016/j.ceca.2019.102063.
104. Fischer TH, Neef S, Maier LS. The Ca-calmodulin dependent kinase II: a promising target for future antiarrhythmic therapies? *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2013; 58:182–7. doi: 10.1016/j.yjmcc.2012.11.003.
105. Couchonnal LF, Anderson ME. The role of calmodulin kinase II in myocardial physiology and disease. *Physiology (Bethesda)* 2008; 23:151–9. doi: 10.1152/physiol.00043.2007.
106. Wagner S, Dybkova N, Rasenack ECL, Jacobshagen C, Fabritz L, Kirchhof P et al. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II regulates cardiac Na⁺ channels. *J Clin Invest* 2006; 116(12):3127–38. doi: 10.1172/JCI26620.
107. Bengel P, Dybkova N, Tirilomis P, Ahmad S, Hartmann N, A Mohamed B et al. Detrimental proarrhythmogenic interaction of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II and NaV1.8 in heart failure. *Nat Commun* 2021; 12(1):6586. doi: 10.1038/s41467-021-26690-1.
108. Luo M, Anderson ME. Mechanisms of altered Ca²⁺ handling in heart failure. *Circ Res* 2013; 113(6):690–708. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301651.
109. Maltsev VA, Sabbah HN, Higgins RS, Silverman N, Lesch M, Undrovinas AI. Novel, ultraslow inactivating sodium current in human ventricular cardiomyocytes. *Circulation* 1998; 98(23):2545–52. doi: 10.1161/01.CIR.98.23.2545.
110. Makielski JC, Kyle JW. Late I(Na) in the Heart: Physiology, Pathology, and Pathways. *Circulation* 2015; 132(7):553–5. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017980.

111. Makielski JC, Farley AL. Na(+) current in human ventricle: implications for sodium loading and homeostasis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006; 17 Suppl 1:S15-S20. doi: 10.1111/j.1540-8167.2006.00380.x.
112. Undrovinas AI, Fleidervish IA, Makielski JC. Inward sodium current at resting potentials in single cardiac myocytes induced by the ischemic metabolite lysophosphatidylcholine. *Circ Res* 1992; 71(5):1231–41. doi: 10.1161/01.RES.71.5.1231.
113. HODGKIN AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol* 1952; 117(4):500–44. doi: 10.1113/jphysiol.1952.sp004764.
114. Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron* 2000; 26(1):13–25. doi: 10.1016/S0896-6273(00)81133-2.
115. Marban E, Yamagishi T, Tomaselli GF. Structure and function of voltage-gated sodium channels. *J Physiol* 1998; 508 (Pt 3)(Pt 3):647–57. doi: 10.1111/j.1469-7793.1998.647bp.x.
116. Catterall WA, Goldin AL, Waxman SG. International Union of Pharmacology. XLVII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated sodium channels. *Pharmacol Rev* 2005; 57(4):397–409. doi: 10.1124/pr.57.4.4.
117. Goldin AL. Evolution of voltage-gated Na(+) channels. *J Exp Biol* 2002; 205(Pt 5):575–84. doi: 10.1242/jeb.205.5.575.
118. Makita N, Bennett PB, George AL. Molecular determinants of beta 1 subunit-induced gating modulation in voltage-dependent Na⁺ channels. *J Neurosci* 1996; 16(22):7117–27. doi: 10.1523/JNEUROSCI.16-22-07117.1996.
119. Renganathan M, Cummins TR, Waxman SG. Contribution of Na(v)1.8 sodium channels to action potential electrogenesis in DRG neurons. *J Neurophysiol* 2001; 86(2):629–40. doi: 10.1152/jn.2001.86.2.629.
120. Djouhri L, Fang X, Okuse K, Wood JN, Berry CM, Lawson SN. The TTX-resistant sodium channel Nav1.8 (SNS/PN3): expression and correlation with membrane properties in rat nociceptive primary afferent neurons. *J Physiol* 2003; 550(Pt 3):739–52. doi: 10.1113/jphysiol.2003.042127.

121. Christophersen IE, Magnani JW, Yin X, Barnard J, Weng L-C, Arking DE et al. Fifteen Genetic Loci Associated With the Electrocardiographic P Wave. *Circ Cardiovasc Genet* 2017; 10(4). doi: 10.1161/CIRCGENETICS.116.001667.
122. Ahmad S, Tirilomis P, Pabel S, Dybkova N, Hartmann N, Molina CE et al. The functional consequences of sodium channel NaV 1.8 in human left ventricular hypertrophy. *ESC Heart Fail* 2019; 6(1):154–63. doi: 10.1002/ehf2.12378.
123. Dybkova N, Ahmad S, Pabel S, Tirilomis P, Hartmann N, Fischer TH et al. Differential regulation of sodium channels as a novel proarrhythmic mechanism in the human failing heart. *Cardiovasc Res* 2018; 114(13):1728–37. doi: 10.1093/cvr/cvy152.
124. Bengel P, Ahmad S, Tirilomis P, Trum M, Dybkova N, Wagner S et al. Contribution of the neuronal sodium channel NaV1.8 to sodium- and calcium-dependent cellular proarrhythmia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2020; 144:35–46. doi: 10.1016/j.yjmcc.2020.05.002.
125. [Stand: 18.02.2024]. Verfügbar unter: <https://www.philips.de/healthcare/product/HC1114801/alice-nightone-designed-to-provide-it-all-ease-confidence-and-reliability>.
126. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods* 2001; 25(4):402–8. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
127. Gami AS, Pressman G, Caples SM, Kanagala R, Gard JJ, Davison DE et al. Association of atrial fibrillation and obstructive sleep apnea. *Circulation* 2004; 110(4):364–7. doi: 10.1161/01.CIR.0000136587.68725.8E.
128. Hegner P, Lebek S, Tafelmeier M, Camboni D, Schopka S, Schmid C et al. Sleep-disordered breathing is independently associated with reduced atrial connexin 43 expression. *Heart Rhythm* 2021; 18(12):2187–94. doi: 10.1016/j.hrthm.2021.09.009.
129. Sossalla S, Kallmeyer B, Wagner S, Mazur M, Maurer U, Toischer K et al. Altered Na⁽⁺⁾ currents in atrial fibrillation effects of ranolazine on arrhythmias and contractility in human atrial myocardium. *Journal of the American College of Cardiology* 2010; 55(21):2330–42. doi: 10.1016/j.jacc.2009.12.055.

130. Arzt M, Drzymalski MA, Ripfel S, Meindl S, Biedermann A, Durczok M et al. Enhanced Cardiac CaMKII Oxidation and CaMKII-Dependent SR Ca Leak in Patients with Sleep-Disordered Breathing. *Antioxidants (Basel)* 2022; 11(2). doi: 10.3390/antiox11020331.
131. Traaen GM, Aakerøy L, Hunt T-E, Øverland B, Bendz C, Sande LØ et al. Effect of Continuous Positive Airway Pressure on Arrhythmia in Atrial Fibrillation and Sleep Apnea: A Randomized Controlled Trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2021; 204(5):573–82. doi: 10.1164/rccm.202011-4133OC.
132. Greef Y de, Ströker E, Schwagten B, Kupics K, Cocker J de, Chierchia G-B et al. Complications of pulmonary vein isolation in atrial fibrillation: predictors and comparison between four different ablation techniques: Results from the Middelheim PVI-registry. *Europace* 2018; 20(8):1279–86. doi: 10.1093/europace/eux233.
133. Beauverger P, Ozoux M-L, Bégis G, Glénat V, Briand V, Philippo M-C et al. Reversion of cardiac dysfunction by a novel orally available calcium/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitor, RA306, in a genetic model of dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2020; 116(2):329–38. doi: 10.1093/cvr/cvz097.
134. Mustroph J, Drzymalski M, Baier M, Pabel S, Biedermann A, Memmel B et al. The oral Ca/calmodulin-dependent kinase II inhibitor RA608 improves contractile function and prevents arrhythmias in heart failure. *ESC Heart Fail* 2020; 7(5):2871–83. doi: 10.1002/ehf2.12895.
135. Neef S, Mann C, Zwenger A, Dybkova N, Maier LS. Reduction of SR Ca²⁺ leak and arrhythmogenic cellular correlates by SMP-114, a novel CaMKII inhibitor with oral bioavailability. *Basic Research in Cardiology* 2017; 112(4):45. doi: 10.1007/s00395-017-0637-y.
136. Neef S, Steffens A, Pellicena P, Mustroph J, Lebek S, Ort KR et al. Improvement of cardiomyocyte function by a novel pyrimidine-based CaMKII-inhibitor. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2018; 115:73–81. doi: 10.1016/j.yjmcc.2017.12.015.
137. Lebek S, Plößl A, Baier M, Mustroph J, Tarnowski D, Lücht CM et al. The novel CaMKII inhibitor GS-680 reduces diastolic SR Ca leak and prevents CaMKII-

- dependent pro-arrhythmic activity. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2018; 118:159–68. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.03.020.
138. Pellicena P, Schulman H. CaMKII inhibitors: from research tools to therapeutic agents. *Front Pharmacol* 2014; 5:21. doi: 10.3389/fphar.2014.00021.
139. Nassal D, Gratz D, Hund TJ. Challenges and Opportunities for Therapeutic Targeting of Calmodulin Kinase II in Heart. *Front Pharmacol* 2020; 11:35. doi: 10.3389/fphar.2020.00035.

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
ACB	aortokoronarer Bypass
ADP	Adenosindiphosphat
AHI	Apnoe-Hypopnoe-Index
AIP	<i>autocamtide-2 related inhibitory peptide</i>
ANOVA	<i>analysis of variance</i> , Varianzanalyse
AP	Aktionspotential
APD	Aktionspotentialdauer
ARS	<i>arrhythmia severity score</i>
ASV	adaptive Servoventilation
ATP	Adenosintriphosphat
ATX-II	Seeanemonentoxin II
BDM	2,3-Butanedione Monoxime
BMI	Body-Mass-Index
Ca ²⁺	Calcium
CaCl ₂	Calciumchlorid
CaM	Calmodulin
CaMKII δ	Ca ²⁺ /Calmodulin-abhängige Proteinkinase II
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CCS	Canadian Cardiovascular Society
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
(n)CPAP	<i>(nasal) continuous positive airway pressure</i>
Ct	cycle threshold
DAD	<i>delayed afterdepolarization</i> , späte Nachdepolarisation
DHPR	Dihydropyridinrezeptor
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOAK	direkte orale Antikoagulanzen
EAD	<i>early afterdepolarization</i> , frühe Nachdepolarisation
EEG	Elektroenzephalografie
EKG	Elektrokardiogramm
EMG	Elektromyographie
EOG	Elektrookulogramm
et al.	et alii
H ₂ O	Wasser
HCl	Salzsäure

HFrEF	<i>heart failure with reduced ejection fraction</i> , Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion
IFM	<i>isoleucine, phenylalanine, methionine; fast inactivation region</i>
I _{Na, late}	später Natriumstrom
I _{Na, peak}	Spitzennatriumstrom
ISO	Isoprenalin/Isoproterenol
K ⁺	Kalium
KCl	Kaliumchlorid
KI	Konfidenzintervall
KN93	<i>N-[2-[[[3-(4-chlorophenyl)-2-propen-1-yl]methylamino]methyl]phenyl]-N-(2-hydroxyethyl)-4-methoxy-benzenesulfonamide</i>
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MCU	mitochondrialer Calcium-Uniporter
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MW	Mittelwert
Na ⁺	Natrium
Na ₂ SO ₄	Natriumsulfat
NaCl	Natriumchlorid
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaOH	Natronlauge
NCX	Na ⁺ /Ca ²⁺ -Austauscher
NT-ProBNP	N-Terminal Pro B-Typ natriuretisches Peptid
NYHA	New York Heart Association
O ₂	Sauerstoff
OSA	obstruktive Schlafapnoe
OSAS	obstruktives Schlafapnoesyndrom
PACs	<i>premature atrial contractions</i> , frühzeitige Vorhofkontraktionen
qPCR	quantitative polymerase Kettenreaktion
PF	PF-01247324
PKA	Proteinkinase A
PLB	Phospholamban
(m)RNA	(messenger) Ribonukleinsäure
ROS	<i>reactive oxygen species</i> , reaktive Sauerstoffverbindungen
RyR2	Ryanodinrezeptor Typ 2
SBAS	schlafbezogene Atemstörung
SEM	<i>standard error of the mean</i> , Standardfehler
SERCA	<i>sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase</i>
SO ₂	Sauerstoffsättigung
SR	sarkoplasmatisches Retikulum

TTX	Tetrodotoxin
VHF	Vorhofflimmern
ZSA	zentrale Schlafapnoe
ZSAS	zentrales Schlafapnoesyndrom

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Das Sarkomer.....	8
Abbildung 2: Der Kardiomyozyt.....	9
Abbildung 3: Die Phasen des kardialen Aktionspotentials	11
Abbildung 4: Die elektromechanische Kopplung.....	13
Abbildung 5: Interaktion zwischen SBAS und VHF	23
Abbildung 6: Struktur und Aktivierungswege der CaMKII δ	25
Abbildung 7: Einflusswege der CaMKII δ	28
Abbildung 8: Aufbau des spannungsabhängigen Na ⁺ -Kanals Nav1.5	32
Abbildung 9: Alice NightOne Polygraphiegerät der Firma Philips Respironics	36
Abbildung 10: Präparation der Trabekel auf Eis unter Sicht durch ein Binokularmikroskop.....	41
Abbildung 11: Originalbild der Messanlage für Muskelstreifenexperimente	43
Abbildung 12: Messanlage für Muskelstreifenexperimente (schematische Darstellung)	44
Abbildung 13: Muskelstreifen zwischen Fixationshaken (rechts) und Kraftaufnehmer (links)	45
Abbildung 14: Patienten-Flowchart	51
Abbildung 15: SCN10A-Expression bei schlafbezogener Atemstörung	53
Abbildung 16: Lineare Regression zwischen Genexpression und AHI	54
Abbildung 17: Originalabbildung Post-Pause-Verhalten	55
Abbildung 18: Post-Pause-Verhalten der Vorhoftrabekel	56
Abbildung 19: Lineare Regression zwischen Genexpression und Post-Pause-Verhalten unter PF.....	57
Abbildung 20: Lineare Regression zwischen AHI und Post-Pause-Verhalten unter PF.....	57
Abbildung 21: Originalabbildung PACs	58
Abbildung 22: ARS bei schlafbezogenen Atemstörungen.	59
Abbildung 23: Lineare Regression zwischen AHI und ARS.....	60
Abbildung 24: Lineare Regression zwischen Genexpression und ARS	61

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ca ²⁺ -Kanäle der Kontraktion	12
Tabelle 2: Ca ²⁺ -Kanäle der Relaxation.....	13
Tabelle 3: Einteilung des Schweregrads der schlafbezogenen Atemstörung anhand des AHI	17
Tabelle 4: Klassifikation des Vorhofflimmerns.....	19
Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien der CONSIDER-AF-Studie	35
Tabelle 6: ASC-Tyrode und Stammlösungen von Isoproterenol.....	40
Tabelle 7: 10-fach-Stammlösung der Krebs-Henseleit-Lösung	42
Tabelle 8: 1-fach-Versuchslösung der Krebs-Henseleit-Lösung.....	42
Tabelle 9: Arrhythmia-Severity-Score (ARS) zur Beurteilung der Schwere der PACs	48
Tabelle 10: Patientencharakteristika	52
Tabelle 11: Interaktionsanalyse bei PF-Intervention	61
Tabelle 12: Lineare Regressionsanalysen zwischen AHI und SCN10A-mRNA-Expression	62
Tabelle 13: Lineare Regressionsanalysen zwischen AHI und relativer Zunahme der Post-Pause-Kontraktilität unter PF	63

7.4 Formelverzeichnis

Formel 1: Fläche der Ellipse.....	41
Formel 2: Berechnung des Standardfehlers (SEM)	49

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Menschen danken, die mich bei der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und Betreuer Prof. Dr. Simon Lebek für die immer hilfreiche Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Experimente, sowie bei der statistischen Datenauswertung und schriftlichen Anfertigung der Dissertation.

Für die ursprüngliche Überlassung des spannenden Promotionsthemas und für die stets informativen Zwischengespräche möchte ich mich ganz herzlich bei meinem anfänglichen Doktorvater Prof. Dr. Stefan Wagner bedanken.

Den weiteren Mitarbeitenden der Arbeitsgruppe im Labor möchte ich einen großen Dank für die Unterstützung bei den Experimenten und für das schnelle Lösen von Fragen und Problemen aussprechen.

Zu guter Letzt danke ich meinen Eltern, meinen Freunden und meiner WG für die Unterstützung und Motivation während der Durchführung dieser Arbeit.

9 Lebenslauf

Jonas Rohde

Assistenzarzt für Anästhesiologie



Ausbildung

Uniklinikum Regensburg

Seit 02/2024

Assistenzarzt in der Klinik für Anästhesiologie

Labor für experimentelle und translationale Kardiologie

Seit 03/2020

Promotion

- Titel: Arrhythmien bei Patienten mit schlafbezogenen Atemstörungen – die Bedeutung des spannungsabhängigen Natriumkanals $Na_v1.8$

Universität Regensburg

10/2016 – 05/2023

Studium der Humanmedizin (Staatsexamen)

- Gesamtnote: gut
- 1. Staatsexamen (09/2018): gut
- 2. Staatsexamen (04/2022): befriedigend
- 3. Staatsexamen: 05/2023: gut

Gymnasium Weilheim i. OB.

09/2007 – 06/2015

Allgemeine Hochschulreife

- Note: 1,5

Praktische Erfahrungen

Uniklinikum Innsbruck

12/2022 – 04/2023

Praktisches Jahr (PJ) in der Chirurgie

- Abteilung für Orthopädie und Unfallchirurgie
- Abteilung für Plastische Chirurgie

Uniklinikum Regensburg

09/2022 – 12/2022

Praktisches Jahr (PJ) in der Inneren Medizin

- Abteilung für Innere Medizin I
- Intensivstation Innere Medizin II

Asklepios Klinikum Hamburg-Altona

05/2022 – 09/2022

Praktisches Jahr (PJ) in der Anästhesie

- Anästhesiologische Versorgung im OP
- Postoperative Intensivstation

Sportdoctors Regensburg

8/2021

Famulatur in der Allgemeinmedizin

- Einblicke in Sprechstunde, Ultraschall, Röntgen und Gelenksinfiltrationen

21Dx GmbH

02/2021 – 06//2021

Mitarbeiter in einem mobilen Corona-Testzentrum

- Durchführung von Probenentnahmen im Rahmen von Corona-Teststrecken in Bayern

Uniklinikum Regensburg

12/2020 – 04//2021

Pflegehelfer auf einer Corona-Intensivstation

- Bereitstellen von Medikamenten
- Assistenz bei der Arbeit am Patienten

Boulderwelt Regensburg

10/2020 – 06/2021

Thekenkraft

- im Bistro der Boulderwelt Regensburg

Uniklinikum Regensburg

03/2020 – 04/2020

Famulatur in der Anästhesie

- OP und operative Intensivstation

Uniklinikum Regensburg

09/2019 – 10/2019

Famulatur in der Inneren Medizin

- Gastroenterologische Normalstation

Krankenhaus Weilheim

03/2019 – 04/2019

Famulatur in der Chirurgie

- Jeweils eine Woche Unfallchirurgie, Gefäßchirurgie, Viszeralchirurgie und chirurgische Notaufnahme

Uniklinikum Regensburg

01/2016 – 06/2016

Freiwilliges Soziales Jahr (FSJ)/Pflegepraktikum

- Nephrologie und Dialyse

Publikationen, Vorträge und Auszeichnungen**American Journal of
Respiratory and Critical
Care Medicine**

12/2022

Co-Autor bei Publikation

- Titel: „Voltage-Gated Sodium Channel NaV1.8 Dysregulates Na and Ca, Leading to Arrhythmias in Patients with Sleep-Disordered Breathing“
- Impact Faktor: 24,7

**87. Jahrestagung der
deutschen Gesellschaft für
Kardiologie**

04/2021

Postervortrag und Abstract

- Titel: „Na_v1.8 expression is increased in patients with sleep-disordered breathing and is associated to trabecular arrhythmias“

**Deutsche Gesellschaft für
Kardiologie**

04/2021

Abstractpreis

- AG 35 Herz-Schlaf-Kreislauf im Rahmen der 87. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Kardiologie (DGK)

Besondere Kenntnisse**Fremdsprachen**

Englisch: fließend
Französisch: gute Kenntnisse

Software

MS Office: gute Kenntnisse in Word, Excel und PowerPoint

Engagement**Evangelische Kirche
Weilheim**

09/2012 – 06/2015

Jugendleiter

- Gestaltung und Leitung diverser Kinder- und Jugendfreizeiten

Jonas Rohde
(Jonas Rohde)

10 Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides Statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Textpassagen, Daten, Bilder oder Grafiken sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Insbesondere habe ich hierfür nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungsbeziehungsweise Beratungsdiensten (Promotionsberater oder anderer Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.


Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Ich versichere an Eides Statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit gesagt und nichts verschwiegen habe.

Die Anregung zur Durchführung dieser Dissertation erfolgte durch Prof. Dr. Simon Lebek, der auch die Ausarbeitung überwachte.

Vor Aufnahme der obigen Versicherung an Eides Statt wurde ich über die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung belehrt.

Regensburg, 10.04.2024



Jonas Rohde