

**Aus der Klinik und Poliklinik für Thorax-, Herz-, und thorakale Gefäßchirurgie  
der Universität Würzburg**

**Direktor: Professor Dr. med. Rainer Leyh**

**Vorhofkontraktilität und fibrotische Biomarker  
sind mit dem Auftreten von Vorhofflimmern nach  
einer aortokoronaren Bypassoperation assoziiert**

**Inauguraldissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

**Aura Elena Mazâlu**

**Würzburg, Januar 2021**

**Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Constanze Bening**  
**Korreferent: apl. Prof. Dr. med. habil. Ulrich Hofmann**

**Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch**

**Tag der mündlichen Prüfung: 28.09.2021**

**Die Promovendin ist Ärztin**

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Thema und Zielsetzung .....	5
1.2	Klassifizierung vom Vorhofflimmern .....	6
1.3	Pathophysiologie vom Vorhofflimmern .....	7
1.4	Sonderform POAF: Pathophysiologie von POAF nach aortokoronarer-Bypassoperation .....	9
1.5	Die Rolle der Biomarker für Inflammation und Fibrose für das Auftreten von postoperativem Vorhofflimmern .....	11
1.6	Grundlagen der Muskelphysiologie .....	18
1.7	Methode der calciuminduzierten Kraftmessungen an human geschnittenen Herzmuskelfasern .....	24
2	Materialien und Methoden .....	26
2.1	Teilnehmer. Einschluss- und Ausschlusskriterien .....	26
2.2	Studienverfahren .....	28
2.3	Befragung und klinische Untersuchungen .....	29
2.4	Die Aufarbeitung der Herzohren und die Messung der Muskelkraft ....	30
2.5	ELISA: Definition. Klassifizierung. Methode. ....	38
2.6	Statistische Analyse .....	41
3	Ergebnisse .....	42
3.1	Vergleich der demographischen Daten .....	47
3.2	Vergleich der echokardiographischen Daten .....	52
3.3	Intraoperative Daten .....	54
3.4	Vergleich der Biomarker .....	55
3.5	Vergleich der rechts- und linksatrialen Kraftwerte .....	57
3.6	Ergebnis der Regressionsanalyse .....	61

4	Diskussionen.....	63
4.1	Limitationen.....	74
5	Zusammenfassung.....	75
5.1	Publikation:.....	76
6	Literaturverzeichnis.....	77
6.1	Abbildungsverzeichnis.....	97
6.2	Tabellenverzeichnis.....	99
6.3	Abkürzungen.....	100

## 1 Einleitung

Das Vorhofflimmern ist eine atriale Tachyarrhythmie, die elektrokardiographisch typisch eine schnelle, variable atriale Aktivität mit einer Frequenz von 400-600/Minute zeigt sowie eine unregelmäßige, ventrikuläre Frequenz häufig zwischen 40-160/Minute hat. Vorhofkontraktionsaktivität ist praktisch nicht vorhanden. Vorhofflimmern (VHF) wurde erstmals im 20. Jahrhundert nach der Erfindung vom Elektrokardiogramm vom Einthoven registriert (1) und ist heute die häufigste Herzrhythmusstörung mit erheblichem Einfluss auf Mortalität und Morbidität, einschließlich Schlaganfall, Demenz, Herzinsuffizienz und Myokardinfarkt. (2) Die Rotterdam Studie zeigte eine Prävalenz vom VHF von 5,5% bei Patienten im Alter von 55 (0,7% in der Altersgruppe 55-59 bis 17,8% in der Altersgruppe über 85). (3) In derselben Studie wurde das Risiko für Vorhofflimmern bei Patienten im Alter von 55 von 23% beschrieben. (3)

Das postoperativ neu aufgetretene Vorhofflimmern (POAF: postoperative atrial fibrillation) ist die häufigste postoperative Arrhythmie nach einer Herzoperation und in den Studien mit einer Inzidenz zwischen 10-65% beschrieben (4,5,6).

POAF tritt am häufigsten zwischen dem ersten und dem vierten postoperativen Tag auf und bei ca. 95% der Patienten wird vor Entlassung ein normaler Sinusrhythmus dokumentiert. (7) Trotz des meistens zeitlich begrenzten Auftretens dieses Ereignisses, gibt es zahlreiche Studien, die den negativen Einfluss vom POAF auf die Nierenfunktion, die Kontraktilität und das Schlaganfallrisiko bewiesen haben mit eindeutigem Impact auf die Verweildauer, Krankenhauskosten und Mortalität. (4,5,6,7,8,9,10,11)

Der stationäre Verlauf von Patienten mit postoperativem VHF verkompliziert sich dadurch, dass die Patienten einen längeren intensivstationären Aufenthalt haben. (4-7) Zusätzlich entwickeln sie häufiger Komplikationen wie Schlaganfall, Nierenversagen, gastrointestinale Komplikationen, Infektionen, Myokardinfarkt oder weisen kognitive Störungen auf, die mit einer schlechteren Lebensqualität verbunden sind. (11-20) Diese Fakten unterstreichen die entscheidende

Bedeutung des Verständnisses der zugrunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen von POAF, um Risikopatienten zu identifizieren und das Auftreten von POAF zu reduzieren.

Als mögliche Auslöser für das POAF werden unterschiedliche Faktoren diskutiert: präoperative und postoperative Schwankungen des Blutdruckes und der Herzfrequenz, die Verwendung von  $\beta$ -Blockern oder Calciumkanalblockern, die Katecholamintherapie, der Zeitpunkt der Extubation und die Frequenz des passageren Herzschrittmachers (8).

Angesichts des erhöhten Risikoprofils von Patienten, die eine aortokoronare-Bypass-Operation (ACB-Operation) benötigen, wäre es hilfreich, zuverlässige und leicht zugängliche Prädiktoren für das Auftreten vom postoperativen Vorhofflimmern zu definieren, um dessen Auftreten wirksam zu verhindern (5, 6).

Zu den meist in der Literatur erwähnten und untersuchten präoperativen Risikofaktoren für das Auftreten von POAF gehören: hohes Alter, dilatierter linker Vorhof, linksventrikuläre Hypertrophie, arterielle Hypertonie, Diabetes, Adipositas und das metabolische Syndrom. (21) Das fortgeschrittene Alter wird auch als unabhängiger Prädiktor für neu aufgetretenes VHF beschrieben (4).

Die Studie vom Ismail et al. zeigte beispielsweise, dass nicht nur ein fortgeschrittenes Alter, sondern auch eine eingeschränkte linksventrikuläre systolische Funktion, ein dilatierter linker Vorhof, lange Ventilationszeiten und Kombinationseingriffe Prädiktoren für POAF nach aortokoronarer Bypass-Operation sind. (22)

Neuere Studien haben neben den bekannten echokardiographischen Parametern bei Patienten mit postoperativem VHF auch echokardiographische Messungen, mithilfe von Global Longitudinal Strain wie folgend beschrieben durchgeführt. (23) Ting P-C et al. hat in seiner Studie gezeigt, dass die RV-Dysfunktion signifikant mit dem Auftreten vom postoperativem VHF assoziiert ist. Der RVGLS (right ventricle global longitudinal strain) wurde intraoperativ mittels transösophagealer Echokardiographie gemessen und die statistische Analyse zeigte diesen Index als signifikanter Prädiktor (23).

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen invasive Verfahren wie der präoperative Rechtsherzkatheter, die gezeigt haben, dass der PCWP (pulmonary capillary wedge pressure) und der sPAP (systolic pulmonary artery pressure) reproduzierbare prädiktive Faktoren fürs Auftreten von POAF sind (24). Lu et al. hat bei 126 Patienten vor einer Bypassoperation oder einer Herzklappenoperation eine Rechtsherzkatheteruntersuchung durchgeführt und die erhobenen Parameter zwischen der POAF-Gruppe und non-POAF Gruppe verglichen. Dabei zeigten sich die sPAP und PCWP Werte signifikant erhöht in der POAF-Gruppe: PCWP ( $13,4 \pm 3,8$  vs.  $10,5 \pm 3,7$ ), sPAP ( $31,8 \pm 9,5$  mmHg vs.  $26,9 \pm 8,1$  mmHg). Was Cardiac Index betrifft, zeigten die POAF-Patienten niedrigere Werte ( $2,48 \pm 0,59$  vs.  $2,69 \pm 0,5$  L/min/m<sup>2</sup>,  $p=0,04$ ). (24)

In der Literatur werden auch pathophysiologische Mechanismen für die Entstehung von postoperativem Vorhofflimmern diskutiert, wie Veränderungen der Refraktärzeit oder lokale Reentrywege, die wiederum durch lokale Entzündungen und unzureichenden kardioplegischen Schutz der Vorhöfe während des kardiopulmonalen Bypasses das Auftreten von POAF begünstigen können (25-28).

Zusätzlich haben sich neuere Arbeiten auf Mechanismen konzentriert, die spezifisch für die Vorhöfe sind und eine frühe kontraktile Dysfunktion und metabolisches Remodeling verursachen. So werden metabolische, elektrische und kontraktile pathophysiologische Eigenschaften diskutiert, die nur in atrialem Gewebe vorhanden sein sollen und Arrhythmien aufgrund einer verminderten Verfügbarkeit von Calcium begünstigen sollen. (29-31).

Auf der anderen Seite steht die Hypothese, dass bei einigen Patienten bereits fibrotische Änderungen vorliegen, die zu Leitungsanomalien führen oder diese aufrechterhalten können, wobei unklar ist ob das POAF ursächlich für diese strukturellen Veränderungen im Myokard ist oder diese Veränderungen das POAF begünstigen (32). Bei persistierendem Vorhofflimmern wurden oxidativer Stress, Fibrose, fortgeschrittenes Alter, Entzündung und Druck als mögliche Einflussfaktoren identifiziert (33-39). Zusätzlich wurde in mehreren Studien nachgewiesen, dass in dem atrialen Gewebe von Patienten mit VHF vermehrt

entzündliche und fibrotische Prozesse stattfinden. (31, 37) Neuere Arbeiten mit dem Ziel zur Erfindung neuer Therapien fürs VHF zeigten eine Assoziation dieser entzündlichen Prozesse mit spezifischen Biomarkern wie MMP-9, TIMP-1, Pentraxin 3, hsCRP, TGF- $\beta$ 1, Galectin-3, GDF-15 (30,31,40-43). Jedoch bleibt die Rolle dieser Marker bei neu aufgetretenem postoperativem Vorhofflimmern ungeklärt und ein möglicher prädiktiver Charakter der Biomarker ist bisher nicht bekannt.

Ähnlich wie bei dem permanentem VHF erscheint es in Bezug auf die entzündliche Entstehung von postoperativem Vorhofflimmern ebenso wahrscheinlich, dass das Vorliegen einer vorbestehenden entzündlichen Erkrankung postoperatives Vorhofflimmern induziert oder dass sich das VHF selbst als entzündliche Veränderungen äußert (33-35).

Ähnliche Inkonsistenzen bestehen hinsichtlich der kardialen Kontraktilität. Der negative Einfluss vom VHF auf die kardiale Kontraktilität wurde von Belus et al. untersucht (44) und es wurde nachgewiesen, dass Patienten mit chronischem oder persistierendem Vorhofflimmern eine reduzierte Kontraktionskraft der Vorhöfe haben. (44) Auch in der Studie von Gasparovic et al. wurde atriales Gewebe von Patienten mit Mitralklappeninsuffizienz und mit VHF oder SR untersucht und mit den echokardiographischen Daten korreliert (45). Die VHF-Gruppe hatte in der oben erwähnten Studie eine signifikant reduzierte kontraktile Funktion (LA active emptying fraction und Strain) und das linksatriale Gewebe bei den VHF-Patienten zeigte prozentual signifikant mehrere fibrotische und apoptotische Veränderungen sowie mehrere degenerative Myozyten (45). Ebenso zeigen Patienten sowohl mit normaler LVEF als auch mit reduzierter LVEF und VHF ein vermindertes global LV-Strain im Vergleich zu den Patienten im SR. (46) Die Frage nach einer verminderten Kontraktilität als Voraussetzung für die Entwicklung eines postoperativen VHF wurde bisher in keiner Studie mit menschlichem Gewebe untersucht und bleibt jedoch noch ungeklärt.

## 1.1 Thema und Zielsetzung

### Hypothese:

Haben Patienten mit höheren Konzentrationen von fibrotischen und inflammatorischen Biomarkern im Serum sowie mit reduzierter linksatrialer und rechtsatrialer Kontraktionskraft eine höhere Inzidenz für POAF?

### Studienziele

- Analyse der Kontraktilität von Myofilamenten im linken und im rechten Vorhof (als pCa/Kraft Kurve) und der Unterschied zwischen Patienten mit POAF und Patienten mit postoperativem SR.
- Beurteilung einer möglichen Korrelation zwischen präoperativen Pentraxin 3, TIMP-1, MMP9, hsCRP, TGF $\beta$ , Galectin-3, GDF-15 Konzentrationen und dem Auftreten von POAF.
- Untersuchung der Korrelation zwischen Vorhofkontraktilität (als pCa/Kraft Kurve), Biomarkern für Fibrose und der Inzidenz des postoperativen Vorhofflimmerns.
- Analyse der Parameter auf einen prädiktiven Charakter für das Auftreten von POAF.

## 1.2 Klassifizierung vom Vorhofflimmern

- Beruhend auf der Dauer lässt sich das Vorhofflimmern laut Leitlinien von American Heart Association/American College of Cardiology/Heart Rhythm Society (47) in folgende Gruppen einteilen:
  - ❖ paroxysmales VHF (selbstlimitierend, innerhalb von 7 Tagen spontan in Sinusrhythmus konvertiert)
  - ❖ persistierendes VHF (anhaltende Arrhythmie die mehr als 7 Tage andauert und in der Regel eine pharmakologische oder elektrische Kardioversion erfordert)
  - ❖ anhaltendes persistierendes VHF (Arrhythmie die länger als 1 Jahr dauert)
  - ❖ permanentes VHF (wird definiert als eine gemeinsame Entscheidung zwischen Arzt und Patienten, um das Vorhandensein von VHF zu akzeptieren und weitere Versuche zur Wiederherstellung und / oder Aufrechterhaltung des Sinusrhythmus zu stoppen)
  - ❖ Nichtvalvuläres VHF (Vorhofflimmern bei Patienten ohne rheumatische Mitralklappenerkrankung, ohne Mitralklappenersatz oder Rekonstruktion)

### 1.3 Pathophysiologie vom Vorhofflimmern

Aus epidemiologischer Sicht tritt Vorhofflimmern bei 1-2% der Bevölkerung auf, die Prävalenz nimmt mit dem Alter zu, von 0,5% bei Patienten im Alter von 40-50 Jahren bis 5-15% bei Patienten im Alter von 80. (12)

Für die Ätiologie und Aufrechterhaltung des Vorhofflimmerns gibt es verschiedene pathophysiologische Hypothesen: der „ektopische Fokus“ führt überwiegend zur Aktivierung vom VHF, „der Kreisbewegungswiedereintritt“ (oder Reentry Mechanismus) und die von Moe et al. 1962 beschriebene „mehrfache Wavelets“- Hypothese, sind eher für die Aufrechterhaltung des Vorhofflimmerns verantwortlich (48,49,50).

Bezüglich der Hypothese des ektopischen Fokus berichtete Haissaguerre et al. 1997-1998 zum ersten Mal, dass paroxysmales Vorhofflimmern durch spontane fokale Entladungen in den Lungenvenen ausgelöst wird (51) und, dass Lungenvenenablation erfolgreich ca. 90% der Fälle von paroxysmalem VHF therapieren konnte (52,53).

Die „mehrfache Wavelets“- Hypothese behauptet, dass die unorganisierte Aktivität im Vorhofflimmern infolge einer willkürlichen Ausbreitung mehrerer unabhängiger Wavelets in einem heterogenen Medium mit zerstreuter Refraktärzeit auftritt. (54)

Als Bestätigung der „mehrfache Wavelets“- Hypothese kam der Erfolg der chirurgischen MAZE-Prozedur vom Cox (50). Die „mehrfache Wavelets“-Theorie wurde von den meisten klinischen Elektrophysiologen weitgehend akzeptiert.

Schließlich, wurden auch die Reentry-Mechanismen in Verbindung mit der Aufrechterhaltung vom VHF gebracht. Wijffels et al. vermutete, dass das Konzept des elektrischen Remodelings, welches mit Änderungen in der Zahl und Funktion der Ionenkanäle assoziiert ist, für den progredienten Charakter des Vorhofflimmerns verantwortlich ist (55). In der Studie vom Wijffels et al. führte die künstliche Aufrechterhaltung des Vorhofflimmerns bei Ziegen zu einer deutlichen Verkürzung der effektiven Refraktärzeit und zu einer Erhöhung der

Geschwindigkeit, Induzierbarkeit und Stabilität des Vorhofflimmerns. Diese Änderungen waren innerhalb einer Woche nach Wiederherstellung des Sinusrhythmus vollständig reversibel (55). Das Vorhandensein eines anfälligen atrialen anatomischen Substrats mit Bereichen von Leitungsblockierungen, wodurch die Dissoziation der Wavelets und Reentry-Mechanismen entstehen, wurde auch in der Studie von Allesie et al. mit der Aufrechterhaltung vom VHF assoziiert (56).

Atriales strukturelles Remodeling tritt meistens als Folge von Herzinsuffizienz und anderen zugrunde liegenden kardiovaskulären Erkrankungen auf (57). Die damit einhergehende Vorhoffibrose könnte die intraatrialen Leitungsstörungen und die Anfälligkeit für VHF erklären. Somit sind sowohl VHF selbst als auch die zugrunde liegende Herzerkrankung für die Entwicklung des arrhythmogenen Substrats verantwortlich. (56, 57)

#### **1.4 Sonderform POAF: Pathophysiologie von POAF nach aortokoronarer Bypassoperation**

Postoperatives Vorhofflimmern ist eine supraventrikuläre Arrhythmie, gekennzeichnet durch eine unkoordinierte Vorhofaktivierung mit nachfolgender Verschlechterung der mechanischen Funktion des Herzens (18,58). Die genauen pathophysiologischen Mechanismen die für die nach aortokoronarer Bypass-Operation hohe Inzidenz von POAF bleiben noch unklar.

Es ist bekannt, dass POAF einige gemeinsame Risikofaktoren mit anderen Formen von Vorhofflimmern hat. So haben Studien gezeigt, dass fortgeschrittenes Alter, Bluthochdruck, Diabetes mellitus und Herzinsuffizienz mit dem Auftreten von POAF sowie Vorhofflimmern im Allgemeinen assoziiert waren. (18,59). Zusätzlich weisen Patienten mit POAF genauso wie Patienten mit chronischem VHF ein gewisses strukturelles Remodeling auf, welches durch ein größeres linkes Atrium sichtbar ist. (22,60,61).

Interessanterweise haben Patienten mit POAF in der präoperativen Echokardiographie auch Hinweise auf eine linksventrikuläre diastolische Relaxationsstörung im Vergleich zu den Patienten, die den Sinusrhythmus postoperativ behalten (22). So war bei Patienten mit POAF ein erhöhtes E/A Verhältnis zu beobachten. Die Erklärung dafür wären chronisch hohe Füllungsdrücke im linken Vorhof mit Dehnung der Vorhofmyozyten und Verlängerung der effektiven Refraktärzeit und anschließendem Auftreten von VHF. (22, 62) Diese hämodynamischen Parameter könnten Hinweise für eine beginnende systolische sowie diastolische Einschränkung der Kontraktilität sein.

Auch ein unzureichender kardioplegischer Schutz der Vorhöfe während kardiopulmonalem Bypass mit darauf resultierender Myokardischämie scheint die Inzidenz von POAF zu erhöhen. (63) Mullen et al. fand, dass mangelhafte myokardiale Protektion im Sinne einer postoperativen CK-MB-Erhöhung mit dem Auftreten von POAF korreliert. (64)

Vorhoffibrose kann zu atrialem Remodelling führen und dadurch zum Auftreten und Aufrechterhaltung vom Vorhofflimmern beitragen (68). Myolyse,

Kardiomyozyten Apoptose und die Aktivierung fibrotischer Wege über Fibroblasten, TGF- $\beta$  und Matrix-Metalloproteasen werden durch inflammatorische Reaktionen vermittelt und können zur strukturellen Remodellierung der Vorhöfe beitragen. (69) Interstitielle Fibrose und Myozytolyse gehören auch zu den histologischen Charakteristika von Patienten mit POAF (70). Dementsprechend deuten die Ergebnisse von Tinica et al. darauf hin, dass bereits vorhandene Veränderungen in der Struktur des rechten Vorhofs wichtige Determinante bei der Entwicklung von POAF sein könnten. (70)

## **1.5 Die Rolle der Biomarker für Inflammation und Fibrose für das Auftreten von postoperativem Vorhofflimmern**

Leider sind die derzeitigen Therapien für POAF nur teilweise langfristig erfolgreich, weil die molekularen Mechanismen nur teilweise verstanden wurden. (71) Es gibt Patienten mit postoperativem Vorhofflimmern, die trotz Ausschöpfung aller Therapiemöglichkeiten bei Entlassung weiterhin ein VHF haben (7). Studien haben mehrere Faktoren identifiziert, die die VHF-Suszeptibilität erhöhen: das Alter, das männliche Geschlecht und die europäische Herkunft sind prominente VHF-Risikofaktoren (72). Andere modifizierbare Risikofaktoren sind der Lebensstil, das Rauchen, Adipositas, Diabetes mellitus und erhöhter Blutdruck. (73)

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Vorhofflimmern aufgrund struktureller oder elektrischer Remodellierungsprozesse der Vorhöfe über entzündliche oder fibrotische molekulare Mechanismen auftreten kann. (74-76) Hertervig et al. zeigte in seiner Studie, dass in den Vorhöfen von Patienten mit VHF ein elektrisches Remodelling stattfindet indem die effektive Refraktärzeit während VHF im Vergleich zum SR signifikant verkürzt war und die effektive Refraktärzeit-Verkürzung bei Patienten mit chronischem VHF stärker ausgeprägt als bei Patienten mit paroxysmalem VHF war (74). Kostin et al. hat atriales Gewebe von der rechten freien Vorhofwand sowie vom rechten Vorhofohr von Patienten mit SR und VHF mit Immunkonfokal- und Elektronenmikroskopie untersucht. Dabei zeigte die Studie, dass sowohl ein elektrisches als auch ein mechanisches Remodelling bei Patienten mit VHF erfolgte. Ferner war die Menge an Kollagen I, als Beweis für Fibrose, höher bei Patienten mit VHF im Vergleich zu den Patienten mit SR (75).

Diese Aspekte betonen daher die unerlässliche Bedeutung der Auffindung neuer prädiktiver Faktoren für Vorhofflimmern und der Entwicklung effektiver Therapien, um die Auswirkungen dieser Krankheit auf die mit VHF verbundener Morbidität und Mortalität zu reduzieren.

Neuere Studien haben verschiedene Biomarker der Entzündung und Fibrose in Assoziation mit VHF untersucht (77,78). Der Hintergrund dafür sind strukturelle oder elektrische Remodellierungsprozesse des Herzens, und insbesondere der Vorhöfe (79-81).

Galectin-3 (Gal-3) ist ein  $\beta$ -Galactosid-bindendes Lektin, welches an Entzündungs- und Fibroseprozessen beteiligt ist. (82) Diese Peptide sind sowohl innerhalb als auch außerhalb der Zelle vorhanden und aktiv. Sie sind beteiligt in Zelladhäsion, Migration, Überleben und Apoptose. (82,83) Galectin-3 wird in verschiedenen Zellen wie Makrophagen, aktivierte T-Zellen, Osteoklasten, Epithelzellen, Tumorzellen und Fibroblasten produziert. (83,84)

Zu den intrazellulären Aktivitäten des Galectin-3 gehört Apoptosehemmung sowie Makrophagen-Clearance von apoptotischen Zellen. (83) Obwohl viele seiner extrazellulären Funktionen proinflammatorisch und pro-apoptotisch sind, können sie auch entzündungshemmend durch Herunterregulieren von Makrophagenreaktionen wirken. (84) Galectin-3-Bindung an Endothelzellen stimuliert Angiogenese, während Fibroblasten-Bindung eine Förderung der Fibrose verursachen kann (83,84).

Gal-3 scheint mit Herzinsuffizienz, koronarer Herzkrankheit und Vorhofflimmern assoziiert zu sein. (82,85-87) Djoussé et al. zeigte in einer prospektiven Studie 2013 eine positive Assoziation zwischen Galectin-3 und dem Risiko für Herzinsuffizienz bei männlichen Probanden (86). Andere Studien haben gezeigt, dass erhöhte Galectin-3 Werte mit atrialem Remodeling bei Vorhofflimmern-Patienten assoziiert sind (88) und dass höhere Galectin-3 Werte mit dem Rezidiv des Vorhofflimmerns nach Katheterablation verbunden sind (89,90). Fashanu et al. bewies in der ARIC Studie, dass Galectin-3 Serumkonzentrationen mit dem Auftreten von VHF assoziiert sind (87). Ähnlich zeigte Ho et al. in einer großen prospektiven Studie, dass höhere zirkulierende Galectin-3 Serumkonzentrationen mit dem Auftreten von VHF assoziiert waren (91). Dieser Zusammenhang war jedoch nach Berücksichtigung anderer herkömmlicher klinischer Risikofaktoren für VHF statistisch nicht mehr signifikant.

Im Gegensatz dazu gibt es aber auch Studien bei Patienten mit VHF und erhaltener linksventrikulärer Funktion (92), die signifikant höhere Galectin-3 Werte bei VHF-Patienten im Vergleich zu der Kontrollgruppe aufwiesen.

Ein weiterer Biomarker, der mit VHF assoziiert wurde, ist GDF-15. Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15), auch als Makrophagen hemmendes Zytokin-1 bekannt (MIC-1) ist ein divergentes Mitglied der TGF- $\beta$  Familie. (93) GDF-15 ist unter physiologischen Bedingungen schwach im Gewebe exprimiert; seine Expression kann jedoch als Reaktion auf inflammatorische Prozesse und Gewebeverletzung ansteigen. (94) Interessanterweise wurde gezeigt, dass kultivierte Kardiomyozyten unter simulierter Ischämie und Reperfusion GDF-15 exprimiert und produziert haben. (95)

Bereits 2009 hat Lind et al. die GDF-15 Serumkonzentrationen von 1004 Probanden gemessen und die Plaque-Belastung der Karotis sowie die Geometrie und Funktion des linken Ventrikels (LV) durch Ultraschall bestimmt. Erhöhte GDF-15 Werte waren mit erhöhter Plaque-Belastung, erhöhter LV-Masse und konzentrischer LV-Hypertrophie, verminderter systolischer linksventrikulärer Funktion sowie klinischen Manifestationen einer koronaren Herzerkrankung und Herzinsuffizienz verbunden. (96)

Erhöhte GDF-15-Serumkonzentrationen scheinen auch mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz bei gesunden Probanden assoziiert zu sein. (97) Laut Wollert et al. haben Patienten, die nach einem akuten Koronarsyndrom erhöhte GDF-15-Werte aufweisen, ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines linksventrikulären Remodelings und einer Herzinsuffizienz. (97) Weitere Studien haben gezeigt, dass GDF-15 ein Prädiktor für Mortalität und Morbidität nach kardialer Resynchronisationstherapie (98) sowie für Mortalität bei Patienten mit Herzinsuffizienz ist. (99)

GDF-15 hat laut Studien im Tiermodell jedoch auch kardioprotektive Funktionen (95). Kempf et al. hat in Mausmodellen gezeigt, dass die Induktion von GDF-15 das Herz vor Ischämie schützt und seine Überexpression die ventrikuläre Dilatation und Herzversagen mindert (95). In einer separaten Studie hat Kempf et al. beobachtet, dass Patienten mit Herzinsuffizienz erhöhte GDF-15 Werte im

Vergleich zu der Kontrollgruppe hatten, die mit dem Schweregrad der Erkrankung korrelierten (100).

GDF-15 wurde in aktuelleren Studien auch mit paroxysmalem VHF assoziiert. (77,101) Shao et al. hat die Korrelation zwischen nichtvalvulärem VHF und GDF-15 geforscht (101). Die Studie umfasste 67 Patienten mit nichtvalvulärem VHF und 67 Patienten als Kontrollgruppe. Demografische, klinische und echokardiographische Daten wurden gesammelt. Plasmaspiegel von GDF-15 und anderen Laborparametern wurden gemessen. Patienten aus der VHF-Gruppe hatten signifikant höhere GDF-15-Serumkonzentrationen im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Bei der multivariablen Analyse zeigte sich GDF-15 als unabhängiger Prädiktor für paroxysmales VHF. (101)

Ein weiterer mit VHF assoziierter Biomarker ist TGF- $\beta$ 1 (Transforming growth factor  $\beta$ 1). TGF- $\beta$ 1 spielt eine wichtige Rolle beim Wachstum und Differenzierung von Zellen sowie bei der Bildung der extrazellulären Matrix (ECM) (102). TGF- $\beta$ 1 ist ein Protein mit wichtiger Rolle in der Gewebesynthese und Homöostase sowie immunologischen Prozessen. (103)

TGF- $\beta$ 1 weist eine Vielzahl von Funktionen auf. Es beeinflusst die Immunaktivität durch Induktion von Antikörperproduktion und kann die Entzündungsreaktionen modulieren, indem es die Makrophagenaktivität und die proinflammatorischen Prozesse dämpft (103-106).

Die Verbindung zwischen TGF- $\beta$ 1 und Vorhoffibrose wurde initial im Tiermodell etabliert (107). Mäuse mit selektiver Vorhoffibrose durch Überexpression von TGF- $\beta$ 1 hatten eine erhöhte Anfälligkeit für Vorhofflimmern (107)

Lin et al. hat die Rolle von TGF- $\beta$ 1 in der Pathogenese vom Vorhofflimmern bei Patienten mit essentieller Hypertonie (EH) untersucht (108). In seiner Studie wurden 75 Patienten mit Vorhofflimmern und EH (2 Untergruppen: 44 Patienten mit paroxysmalem VHF und 31 Patienten mit chronischen VHF) und 37 Patienten mit Sinusrhythmus und EH sowie 36 gesunde Patienten eingeschlossen. Demographische, klinische und echokardiographische Daten wurden gesammelt. TGF- $\beta$ 1 und CTGF (connective tissue growth factor)

Serumkonzentrationen wurden gemessen. Die höchsten TGF- $\beta$ 1-Werte hatten die Patienten mit chronischem VHF, gefolgt von den Patienten mit paroxysmalem VHF und Patienten mit SR. Es wurden keine signifikanten Unterschiede in den TGF- $\beta$ 1-Konzentrationen zwischen der pVHF-Gruppe und der cVHF-Gruppe gefunden. Bei den VHF-Gruppen bestand zusätzlich eine unabhängige Korrelation zwischen den Serumspiegeln von TGF- $\beta$ 1 und dem linken Vorhofdurchmesser (LAD= left atrial diameter). (108) Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese einer VHF-assozierten Änderung der Serumkonzentrationen von Fibrose-assozierten Biomarkern.

Eine weitere Gruppe von Biomarkern, die mit Remodeling bei VHF assoziiert ist, ist die Familie der Matrix-Metalloproteasen (MMP). Diese sind eine Gruppe verwandter Proteine, die eine wichtige Rolle in vielen physiologischen Prozessen wie Morphogenese und Gewebeumbau spielen (109,110) Zusätzlich spielen diese Enzyme bei inflammatorischen und autoimmunen Krankheiten wie Arthritis, Hepatitis, Krebs oder kardiovaskuläre Erkrankungen eine Rolle. (110)

MMP-9 wird von einer Vielzahl von normalen und pathologischen Zellen einschließlich Neutrophilen, Monozyten, Endothelzellen, Makrophagen, Fibroblasten, und Epithelzellen produziert. (109,110). MMP-9 baut Komponenten der extrazellulären Matrix (ECM) mit hoher spezifischer Aktivität für denaturierte Kollagene ab. (111) Es übt physiologische und pathologische angiogene und remodellierende Effekte auf das Gefäßsystem (111). MMP-9 Werte im Serum sind bei vielen entzündlichen Erkrankungen einschließlich Thrombusbildung, Atherosklerose, Morbus Crohn, Hepatitis-C-Virus-Infektion, Kolorektalkrebs erhöht. (109-111).

TIMPs (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases) sind Proteine, die die Aktivität von Metalloproteinasen regulieren. (112) TIMPs bilden 1:1 Komplexe mit MMPs, die den Zugang von Substraten zu der katalytischen MMP-Stelle blockieren. TIMPs sind sehr spezifisch für MMPs im Allgemeinen, aber nicht für ein bestimmtes MMP (112-115).

TIMP-1 wird in vielen Zellen und Geweben synthetisiert. Die Synthese von TIMPs wird durch proinflammatorische Cytokine (z.B. IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$ ), TGF- $\beta$ 1

induziert (112,116). Viele physiologische Funktionen von TIMP-1 sind eng mit den Funktionen von MMPs verbunden, und ein Imbalance von MMP und TIMP Produktion korreliert mit pathologischen Bedingungen wie Arthritis, Tumorwachstum und Metastasierung. (112)

Die MMPs, insbesondere MMP-9, und TIMPs (tissue inhibitor of metalloproteinases) wurden auch mit atrialem Remodeling und VHF in Verbindung gebracht. (117,118) Viele Studien heben die Verbindung zwischen dem Ungleichgewicht der extrazellulären Matrixsynthese und des Matrixabbaus und dem Vorhof-Remodeling mit konsequentem VHF hervor. (119-122)

Lewkowicz et al. hat in seiner Studie den Einfluss von MMPs and TIMPs auf das atriale Remodeling und die Verbindung von MMPs und TIMPs mit dem Rezidiv und Aufrechterhaltung vom Vorhofflimmern nach elektrischer Kardioversion geforscht (117). Die MMP-9 Serumkonzentrationen waren bei Patienten mit VHF (paroxysmales oder chronisches) signifikant höher im Vergleich zu der Kontrollgruppe während sich die TIMP-1 Werte nicht signifikant zwischen den Gruppen unterschieden (117).

Mukherjee et al. zeigte ebenfalls, dass VHF mit ventrikelspezifischen Veränderungen des Myokardkollagengehalts und der MMP- und TIMP-Konzentrationen assoziiert ist, was auf ein unterschiedliches Remodeling schließen lässt (121). Er hat in seiner Studie Myokardgewebe von 43 explantierten Herzen von Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz untersucht (23 Patienten mit VHF und 20 Patienten mit SR als Kontrollgruppe). Interessanterweise fand er bei den VHF-Patienten einen höheren Kollagengehalt im atrialen Gewebe; im ventrikulären Myokard jedoch weniger. Zusätzlich war der MMP-9-Spiegel im linken Vorhof in der VHF-Gruppe höher (121).

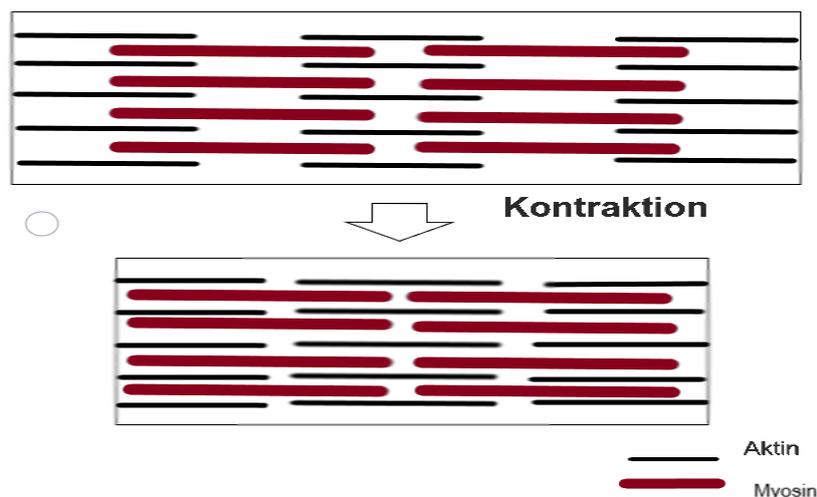
Die Auswirkungen dieser oben beschriebenen Serum-Biomarker als Ausdruck der Vorhoffibrose auf die linke und rechte Vorhofkontraktilität ist jedoch wenig bekannt. Um eine mögliche Korrelation zwischen Biomarkern für Fibrose und Inflammation, Kontraktilität von Myofilamenten im linken und im rechten Vorhof und Vorhofflimmern zu beweisen, untersuchen wir die calcium-induzierte Muskelkraft von geschnittenen Muskelfasern im linken und rechten atrialen Gewebe,

das während einer elektiven ACVB-Operation (Aorto-Coronarer-Venen-Bypass) gewonnen wurden und die Serumkonzentrationen der oben genannten Biomarker bei diesen Patienten.

## 1.6 Grundlagen der Muskelphysiologie

Der Herzmuskel gehört zu quergestreifter Muskulatur und ist in Sarkomere organisiert (123). Muskelzellen oder Myozyten werden auch als Muskelfasern bezeichnet. Die Muskelzellen haben ein Sarkoplasma, ein Sarkolemm (Zellmembran) und ein sarkoplasmatisches Retikulum (124). Die Herzmuskelfasern enthalten in der Regel nur einen Kern, der sich im zentralen Bereich der Zelle befindet. Herzmuskelfasern besitzen auch viele Mitochondrien und Myoglobin, weil das ATP hauptsächlich durch den aeroben Stoffwechsel produziert wird (123).

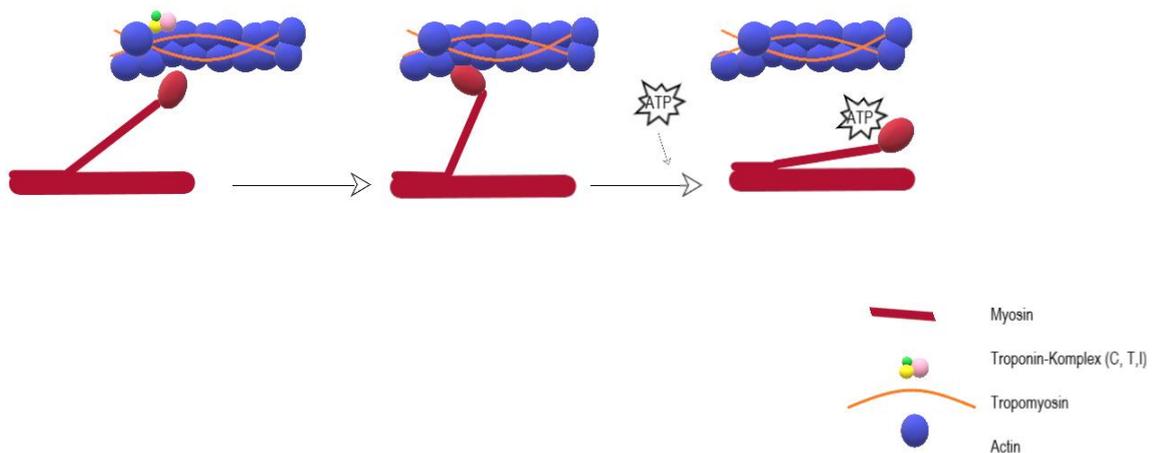
Im Herzmuskel sind die Kontraktionselemente des Zytoskeletts in hoch organisierte Felder eingerichtet und bieten das Bild von Querstreifungen (124). Die Muskelfasern bestehen aus Myofibrillen: diese zylindrischen Bündel bestehen aus zwei Arten von Filamenten: dicke Filamente von Myosin und dünne Filamente von Aktin (124). Jede Myofibrille ist als Kette von kontraktile Einheiten (Sarkomere) organisiert, die für die gestreifte Erscheinung vom Herzmuskel verantwortlich sind (123, 125). (**Abbildung 1**)



*Abbildung 1:* Die Struktur des Sarkomers während der Kontraktion (Wiedergabe nach Dobreaun D. Physiology of the heart. University Press, 2007. ISBN: 978-973-7665-41-6.)

## Die Struktur und die Funktion des Sarkomers

Die Muskelkontraktion ergibt sich aus einer Wechselwirkung zwischen den Aktin- und Myosinfilamenten. (126) (**Abbildung 2**) Die molekulare Basis für diese Wechselwirkung ist die Bindung von Myosin an Aktinfilamente, so dass Myosin als Motor fungieren kann, der das Gleiten der Filamente antreibt (126). Das Myosin hat drei Teile: das Kopfteil (bindet Actin und nutzt die ATP-Hydrolyse, um Kraft zu erzeugen), der Hals und das Schwanzteil. (124) Durch das Kopfteil bindet sich das Myosin an das Aktin. Der Hals des Myosins ist beweglich und durch die Zusammenlagerung der Schwanzteile bilden sich Bündeln (Filamenten) (125).



*Abbildung 2:* Aktin-Myosin Komplex und Konformationsänderung des Myosinmoleküls während Kontraktion. Die Bindung von ATP dissoziiert Myosin aus Aktin. Die ATP-Hydrolyse induziert dann eine Konformationsänderung, die die Myosinkopfgruppe verdrängt.

Wiedergabe nach Dobreanu D. Physiology of the heart. University Press, 2007. ISBN: 978-973-7665-41-6.

Der Kontraktionszyklus beginnt mit Myosin (in Abwesenheit von ATP) eng an Aktin gebunden (124) (**Abbildung 2**). ATP-Bindung dissoziiert den Myosin-Aktin-Komplex und die Hydrolyse von ATP induziert dann eine Konformationsänderung im Myosin (124). Diese Veränderung beeinflusst den Halsbereich des Myosins, der die leichten Ketten bindet und verursacht die Verdrängung des Myosinkopfes um etwa 5 nm. (123,124,126) Die Produkte der Hydrolyse (ADP und Pi) bleiben

an dem Myosinkopf gebunden, der in der "gespannten" Position steht (123,125,127).

Die Kontraktion findet in Anwesenheit hoher Kalziumkonzentrationen statt. Die erhöhte  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration induziert die Muskelkontraktion über die Wirkung von zwei Zusatzproteinen, die an Aktinfilamente gebunden sind: Tropomyosin und Troponin (124,128,129). (**Abbildung 2**)

Im Muskel ist jedes Tropomyosin-Molekül an Troponin gebunden, welches ein Komplex von drei Polypeptiden ist: Troponin C ( $\text{Ca}^{2+}$ -Bindung), Troponin I (Hemmstoff) und Troponin T (Tropomyosin-Bindung) (119,120) Wenn die Konzentration von  $\text{Ca}^{2+}$  niedrig ist, blockiert der Komplex der Troponine mit Tropomyosin die Interaktion von Actin und Myosin, sodass der Muskel nicht kontrahiert (124,126,130). Wenn die Kalziumkonzentration ansteigt, verschiebt die  $\text{Ca}^{2+}$ -Bindung an Troponin C die Position des Komplexes, befreit die Aktinmoleküle und erlaubt eine Kontraktion (127-131)

#### Aktionspotential im Herzmuskel

Bei den Muskelzellen des Herzens besteht eine elektrische Spannung (Ruhemembranpotential) zwischen dem intrazellulären und dem extrazellulären Bereich (132). (**Abbildung 3**)

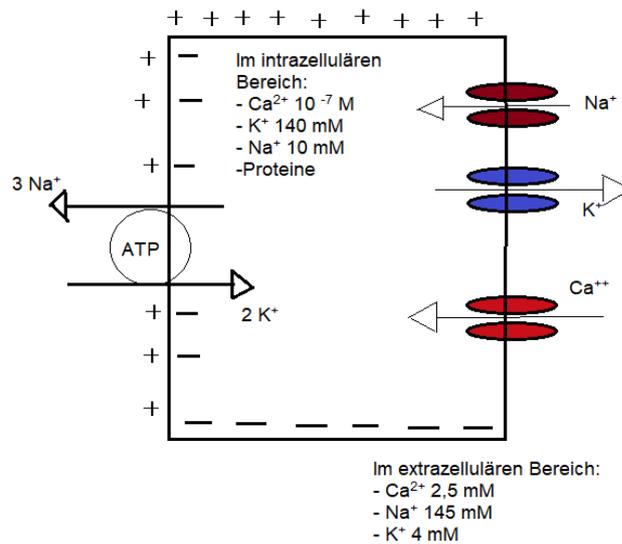


Abbildung 3: Verteilung der positiv und negativ geladenen Ionen zwischen Zellinnerem und Zelläußeren

Wiedergabe nach Dobreanu D. Physiology of the heart. University Press, 2007. ISBN: 978-973-7665-41-6.

Die Ursache für diese Spannung ist ein Ungleichgewicht zwischen positiv und negativ geladenen Ionen (124):

- **Im intrazellulären Bereich** befinden sich positive Kalium-Ionen ( $\text{K}^+$ ) und vor allem negative organische Anionen.
- **Im extrazellulären Bereich** befinden sich vorwiegend positiv geladene Natrium-Ionen ( $\text{Na}^+$ ) und Kalzium-Ionen und negativ geladene Chlorid-Ionen ( $\text{Cl}^-$ )

Beim Herzmuskel beträgt das Ruhepotential ca. **-90 Millivolt (mV)** in Arbeitsmyokardzellen ("fast response" Zellen) und ca. **-60 mV** in den Erregungsleitungszellen ("low-response" Zellen) (120). Jeder Ionenkanal hat seine eigenen Aktivierungs- und Inaktivierungseigenschaften: die schnellen Natriumkanäle schließen nach wenigen Millisekunden, auch wenn die Membran

depolarisiert bleibt; langsame ("L") Kalziumkanäle schließen erst nach ca. 200 Milisekunden (133).

Die "0" Phase des Aktionspotentials (reizbedingt) besteht aus raschem Natriumeinstrom und Depolarisation. In der Phase "1" werden die Natriumkanäle inaktiviert, der Einstrom von  $\text{Na}^+$ -Ionen endet. Kalium- und Chlorid-Ionen bewegen sich durch die Membran. (132,133) (**Abbildung 4**)

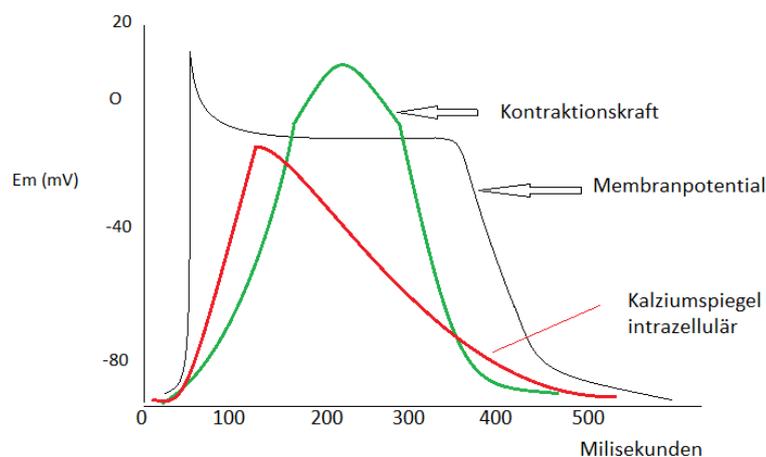
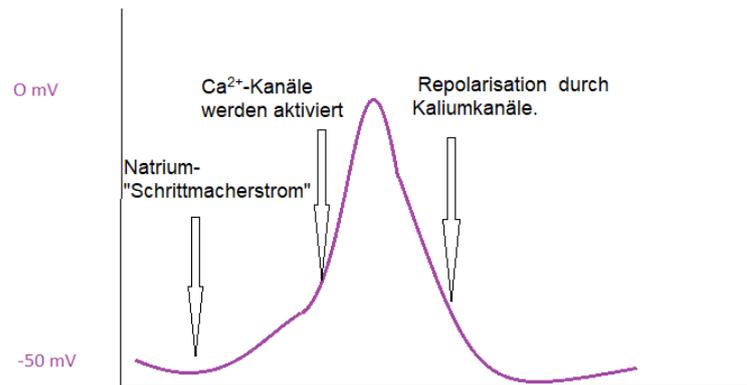


Abbildung 4: Die Phasen des Aktionspotentials im Herzmuskel

Wiedergabe nach Dobreaun D. Physiology of the heart. University Press, 2007. ISBN: 978-973-7665-41-6.

In der Phase "2", auch als Plateau bezeichnet, erfolgt der Einstrom von  $\text{Ca}^{2+}$  durch L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle bei anhaltendem Ausstrom von  $\text{K}^+$ . Nachher erfolgt die Repolarisationsphase. Am Ende werden die  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -Pumpe und ein  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher angetrieben und die Zelle ist wieder im Ruhezustand: Phase "4" (ein neues Aktionspotential kann beginnen) (132,133).

In den "low-response" Zellen im Myokard gibt es einen Natrium-"Schrittmacherstrom" (If), der die spontane Depolarisierung verursacht. Ab einem Membranpotentialwert von -40 mV werden Ca<sup>2+</sup>-Kanäle aktiviert. Es erfolgt eine langsame Depolarisation. In der Repolarisationsphase werden die Kaliumkanäle aktiviert (134). (**Abbildung 5**)



*Abbildung 5:* die spontane Depolarisierung in den "low-response" Zellen

Wiedergabe nach Dobreaun D. Physiology of the heart. University Press, 2007.  
ISBN: 978-973-7665-41-6.

## 1.7 Methode der calciuminduzierten Kraftmessungen an human geskinnten Herzmuskelfasern

Die Methode der geskinnten Muskelfaser wurde erstmals in den 1950er Jahren von Weber und Portzehl verwendet. Diese experimentelle Methode erlaubt durch die Entfernung von membranständigen Rezeptoren sowie Membranen der Zellorganellen (Sarkoplasmatisches Reticulum, Mitochondrien) eine bessere Quantifizierung und Auswertung der Kraftentwicklung von Muskelfasern (135,136). Für die Isolierung der Myofilamente wird Triton-X benutzt. (136) Diesbezüglich haben Solaro et al. in ihrer Studie die Abwesenheit von Cytochrome-Oxidase Aktivität als Marker für die Mitochondrienmembran bewiesen. (136) Ähnlich wurde in der oben genannten Studie eine Kontaminierung mit Sarkolemm durch den Ausschluss einer  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP-ase}$  Aktivität gezeigt. (136)

Durch die Untersuchung gehäuteter humaner Muskelfasern konnten wichtige Erkenntnisse zur Veränderung der Calciumsensitivität bei Patienten mit normaler Herzfunktion sowie mit Herzinsuffizienz gemacht werden (137). Die beschriebene Methode ermöglicht durch die Entfernung des Sarkolemms direkte Beobachtungen am kontraktilen Apparat. (135) Durch verschiedene Calciumkonzentrationen und unter Zugabe von ATP als Energiequelle ist es möglich eine Kontraktion der Muskelfasern zu erzeugen. Vor dem Experiment werden die verschiedenen Konzentrationen von freiem  $\text{Ca}^{2+}$  mit einem Computerprogramm berechnet (Fabiato & Fabiato, 1979). Die Fasern werden dann in zunehmende Calciumkonzentrationen gestellt (physiologischer Bereich pCa 5,0 bis pCa 5,2) und die Kraft wird gemessen. (135)

Die Kontraktilität eines Muskels ist nicht nur von den kontraktilen Proteinen, sondern auch von der intrazellulären Calciumkonzentration abhängig. (135, 137) Mit der Erhöhung der Calciumkonzentration, steigt die Kraft proportional an, unabhängig von der Calciumsensitivität des kontraktilen Systems. Am Ende wird die pCa/Kraft Kurve erstellt.

Anhand der pCa/Kraft Kurve wird festgestellt wie empfindlich der kontraktile Apparat für Calcium ist. Als Parameter hierfür ist die Calciumsensitivität. Es ist definiert als EC50: die pCa, bei der der Muskel 50% seiner maximalen Kraft entwickelt.

Der zweite wichtige Parameter ist die Steilheit der Kurve. Je steiler die Kurve (je höher der Hill-Koeffizient), desto schneller das Calcium an das Aktin-Filament bindet. (135,138)

Form und Lage der sigmoiden pCa/Kraft Kurve können durch zahlreiche Parameter wie den pH-Wert, die Temperatur oder die Vordehnung beeinflusst werden. (135,137,138) Vahl et al. hat geschnittene Herzmuskelfasern von Schweinen untersucht und gezeigt, dass die Vordehnung eine wichtige Rolle in der Regulierung der pCa/Kraft Kurve spielt und die maximale Kraftentwicklung der Fasern beeinflusst, ohne die Kalziumsensitivität zu beeinträchtigen. (135) Ebenso ist es durch Hypothermie (von 32 Grad auf 22 Grad) zu einer Verlegung der pCa/Kraft Kurve nach links und dadurch zu Änderungen der Kalziumsensitivität gekommen. (135) Daher ist eine etablierte Methode mit Standardeinstellungen und Standardlösungen entscheidend für die Aussagekraft der Ergebnisse.

## **2 Materialien und Methoden**

### **2.1 Teilnehmer. Einschluss- und Ausschlusskriterien**

#### **Teilnehmer und Rekrutierung**

Die Studie wurde von der Ethik-Kommission bei der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg geprüft und es wurden keine ethischen oder rechtlichen Einwände erhoben (Ethikvotum 143/17-sc vom 06.10.2017). Die Studienpopulation bestand aus elektiven Patienten, die sich in der Klinik- und Poliklinik für Thorax-, Herz-, und thorakale Gefäßchirurgie, Universitätsklinikum Würzburg einer geplanten on-pump ACVB-Operation (Aorto-Coronarer-Venen-Bypass) unterzogen haben.

Sofern die Einschlusskriterien und keine Ausschlusskriterien erfüllt waren, wurden die Probanden zur Teilnahme an der Studie eingeladen. Aus logistischen Gründen wurden maximal 2 Probanden pro Tag in die Studie eingeschlossen.

#### **Patientenaufklärung und Einwilligung**

Die Patientenaufklärung und Einholung der Einwilligung erfolgten durch den Stationsarzt. Die Patienten wurden ausführlich über die Verwendung der Daten, die Blutabnahme und Verwendung des Gewebes aufgeklärt. Weiterhin wurde dem Patienten ein Informationsblatt ausgehändigt.

Alle Patienten wurden ausdrücklich auf die Freiwilligkeit der Studienteilnahme und die Möglichkeit, die Teilnahme jederzeit widerrufen zu können, hingewiesen.

#### **➤ Einschlusskriterien**

- Herzoperation mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine an der Klinik- und Poliklinik für Thorax-, Herz-, und thorakale Gefäßchirurgie, Universitätsklinikum Würzburg
- Elektive ACVB-Operation (Aorto-Coronarer-Venen-Bypass)

- Alter  $\geq$  18 Jahre
- Schriftliche persönliche Einwilligung zur Studienteilnahme

➤ Ausschlusskriterien

- Notfall (Akuter Myokardinfarkt innerhalb der letzten 48 Stunden)
- Dekompensierte Patienten (d.h. NYHA IV)
- Kardiogener Schock
- Assoziierte intrakardiale Eingriffe
- Infektionskrankheiten (HIV, Hepatitis)
- Chronisch inflammatorische Krankheiten (COPD)
- Redo-Verfahren
- Minimal-invasive Verfahren
- Unvollständiges Datenblatt
- Ablehnung der Studienteilnahme

Insgesamt wurden in die Studie 229 Patienten mit Sinusrhythmus bei Aufnahme und ohne bekannte Herzrhythmusstörungen in der Vorgeschichte eingeschlossen. Die Patienten wurden in zwei verschiedene Gruppen eingeteilt: Gruppe A: bestand aus 38 Patienten, die POAF entwickelt haben und Gruppe B bestand aus 191 Patienten mit SR für die gesamte Dauer der postoperativen Phase. In die POAF-Gruppe wurden Patienten aufgenommen, die zu einem beliebigen Zeitpunkt im postoperativen stationären Verlauf Vorhofflimmern entwickelt haben. Das POAF wurde als fehlende P-Welle, gefolgt von unregelmäßigem QRS-Komplex für eine Dauer von mehr als 30 Sekunden definiert.

## 2.2 Studienverfahren

Es wurden folgende Studienverfahren benutzt:

- I. Klinische, laborchemische und echokardiographische Daten
- II. Muskelkraftmessungen (Gewebe vom rechten und linken Vorhofohr) an gehäuteten Muskelfasern
- III. ELISA-Tests zur Messung von MMP9 (Quantikine Elisa, DMP900, R&D Systems, Bio-Techne, Wiesbaden, Germany), TIMP-1 (Quantikine Elisa, DTM100, R&D Systems, Bio-Techne, Wiesbaden, Germany), Galectin 3 (Quantikine Elisa, DGAL30, R&D Systems, Bio-Techne, Wiesbaden, Germany), hsCRP (Cobas Integra 800), GDF 15 (Quantikine Elisa, DGD150, R&D Systems, Bio-Techne, Wiesbaden, Germany), TGF $\beta$  (Quantikine Elisa, DB100B, R&D Systems, Bio-Techne, Wiesbaden, Germany). Alle ELISA-Platten wurden mit dem ELISA-Reader Tecan Infinity Pro (Tecan Group Ltd., Schweiz) analysiert.

### 2.3 Befragung und klinische Untersuchungen

Die Untersuchungen der Teilnehmer erfolgten in der Klinik- und Poliklinik für Thorax-, Herz-, und Thorakale Gefäßchirurgie, Universitätsklinikum Würzburg.

Die Basisdaten enthielten die Ergebnisse der körperlichen Untersuchung und der Anamnese und waren Bestandteil der Klinikroutine. Die Daten wurden anschließend pseudonymisiert in die Studiendatenbank übernommen.

Die Basisdatenerhebung beinhaltet die Erfassung folgender Informationen:

- Allgemeine demographischen Daten (Geschlecht, Geburtsdatum, Aufnahmezeitpunkt, Größe, Gewicht, Hauptdiagnose)
- Medikamenteneinnahme
- Familienanamnese (hinsichtlich kardialer Erkrankungen, Diabetes mellitus und Nierenerkrankungen)
- Präoperative kardiale Befunde: Befund der Koronarangiographie, PCI, NYHA-Klassifikation (I-IV), CCS-Klassifikation (I-IV), Z.n. Myokardinfarkt (ja/nein/Zeitpunkt), Pulmonaler Hypertonus (nein/ja 31-55mmHg/>55mmHg/keine Angabe), Dringlichkeit des Eingriffes, vorangegangene Perikardöffnung (ja/nein/Anzahl), Rhythmus bei Aufnahme (Sinusrhythmus Vorhofflimmern, Schrittmacherrhythmus, sonstiges), Schrittmacher/ICD-Träger, kritischer Zustand (Z.n. ventrikulären Tachykardien, Reanimation, Beatmung, Mechanische Kreislaufunterstützung, kardiogener Schock).
- Vorerkrankungen/Begleiterkrankungen (Vorhofflimmern, COPD und Behandlung, Diabetes mellitus und Behandlung, Tumorerkrankungen, Niereninsuffizienz, PAVK-Stadium, Infektionen, Neurologische Erkrankungen, Hepatische Erkrankungen, Alkoholabusus).

Präoperative echokardiographische Daten wurden einen Tag vor der Operation erhoben (benutztes Gerät: Philips Epiq 7, Philips Health System, Hamburg, Germany).

Folgende Parameter wurden gemessen: Linker Vorhof (Diameter [cm], Länge [cm], Fläche [cm<sup>2</sup>]), Rechter Vorhof (Fläche [cm<sup>2</sup>]), Linker Ventrikel (EF [%], IVSd [cm], LVPWd [cm], LVIDd [cm]), Rechter Ventrikel (TAPSE [mm]), Beurteilung der Herzklappen: Vorhandensein einer Klappenstenose oder einer Klappeninsuffizienz, Beurteilung der diastolischen Funktion (Geschwindigkeit der frühen diastolischen Füllung E Vmax [cm/s], Geschwindigkeit der späten diastolischen Füllung A Vmax [cm/s], Dezelerationszeit [ms], E/A [Zahl], frühe diastolische Ringgeschwindigkeit (E´, E/med E´, E/lat E´), sPAP [mmHg],

Zu den präoperativen Routine-Laborparametern gehörten: NT-Pro BNP, Kreatinin, GFR, Troponin, HbA1c, Blutbild, GOT/GPT.

Die intraoperative Datenerhebung beinhaltete die Erfassung aller Informationen zu: Operation (OP-Dauer, HLM-Zeit, X-Clamp-Zeit, Kreislaufstillstandszeit, Besonderheiten) und Operationsart, Anzahl der Grafts.

#### Postoperatives Monitoring:

Während des Aufenthaltes auf der Intensivstation erfolgte die kontinuierliche Datenaufnahme der Vitalparameter, die automatisch gespeichert wurden. Zusätzlich erfolgte die ärztliche Dokumentation über alle Vorhofflimmern Episoden. Auf der Normalstation wurden die Patienten kontinuierlich durch Telemetrie bis zur Entlassung überwacht; die Telemetrie Alarmer wurden einmal pro Tag vom Stationsarzt kontrolliert und Herzrhythmusstörungen wurden dokumentiert.

Vor Entlassung und bei klinischen Auffälligkeiten erfolgte ein 12-Kanal-EKG. Ebenso wurden die Daten bezüglich der spontanen, medikamentösen oder elektrischen Kardioversion erfasst. Eine elektrische Kardioversion wurde durchgeführt, wenn die pharmakologische Behandlung den Sinusrhythmus nicht wiederherstellen konnte bzw. bei hämodynamischer Instabilität.

## 2.4 Die Aufarbeitung der Herzohren und die Messung der Muskelkraft

Im Rahmen einer herzchirurgischen Operation unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine fällt durch die Implementierung der Herz-Lungen-Maschine Gewebe an, welches für wissenschaftliche Zwecke untersucht werden kann. Der Anschluss der venösen Kanüle erfolgt über ein Standardverfahren (Resektion des rechten Herzohres). Die Exklusion des linken Herzohres erfolgt ebenfalls standardmäßig zur Schlaganfallprophylaxe. Damit bietet sich die Möglichkeit humanes Gewebe zu untersuchen ohne zusätzliche Geweberesektion, das im Rahmen der Operation verworfen würde.

Das Gewebe wird auf zwei verschiedene Weisen vorbereitet:

- ❖ Natives Gewebe zur Lagerung bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  (RT-PCR, Western Blot, histologische und immunhistologische Untersuchungen)
- ❖ Gewebe in sauerstoffreicher BDM-Lösung (BDM ist Myosinhemmer, der die Kontraktion verhindert und das zelluläre Trauma während des Transports minimiert)

### **Verwendete Lösungen:**

- Krebs-Henseleit-Puffer (50 ml) enthält: 118,07 mM Natriumchlorid (NaCl), 11,1 mM Glucose Monohydrat ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{H}_2\text{O}$ ), 4,7 mM Kaliumchlorid (KCl), 25 mM Natriumhydrogencarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), 1,2 mM Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 1,2 mM Magnesiumsulfat-7-Hydrat ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 1,8 mM Calciumchlorid Dihydrat ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
- BDM-Puffer enthält: 50 ml Krebs-Henseleit Puffer mit 30 mmol/L BDM (2,3-Butanedione Monoxime)
- Relaxations-Lösung enthält: 40 mM Imidazol ( $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$ ), 10 mM  $\text{NaN}_3$ , 10 mM EGTA, 25 mM Magnesiumchlorid Hexahydrat ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), 2 mM Dithioerythritol ( $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}_2$ ), 20 mM ATP ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_{13}\text{P}_3\text{Na}_2$ )

- Kontraktionspuffer enthält: 40 mM Imidazol ( $C_3H_4N_2$ ), 20 mM Creatinphosphat ( $C_4H_8N_3O_5PNa_2 + 4H_2O$ ), 10 mM  $NaN_3$ , 10 mM EGTA, 25 mM Magnesiumchlorid Hexahydrat ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ), 2 mM Dithioerythritol ( $C_4H_{10}O_2S_2$ ), 10 mM Calciumchlorid Dihydrat ( $CaCl_2 + 2H_2O$ ), 20 mM ATP ( $C_{10}H_{14}N_5O_{13}P_3Na_2$ )
- Präparationspuffer enthält: 20 mM Imidazol ( $C_3H_4N_2$ ), 10 mM  $NaN_3$ , 4 mM EGTA, 5 mM Magnesiumchlorid Hexahydrat ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ), 2 mM Dithioerythritol ( $C_4H_{10}O_2S_2$ ), 5 mM ATP ( $C_{10}H_{14}N_5O_{13}P_3Na_2$ )

Das Gewebe wird im Operationssaal in eine Petrischale auf Eis gelegt. Dann wird das Herzohr mit einem Skalpel in zwei Hälften geteilt. Ein Teil wird für die Muskelfasermessungen in ein Röhrchen mit Carbogen-begaster (95 Vol.% Sauerstoff und 5 Vol.% Kohlendioxid) BDM-Lösung (BDM= 2,3-butanedione monoxime) gelegt und ein Teil wird für RT-PCR verwendet und dafür in ein Röhrchen mit PBS Lösung (Phosphat-gepufferte Salzlösung) gelegt. Butanedionemonoxime wird benutzt um subendokardiale Muskelschädigungen, die bei der Präparation auftreten könnten, zu verhindern (139,140). BDM kann konzentrationsabhängig die Muskelkontraktilität sowie die myofibrilläre ATP-ase hemmen (141). Die PBS- und BDM-Röhrchen werden auf Eis oder in den Kühlschrank gestellt. Als erstes wird das Gewebe aus dem PBS-Röhrchen aufgearbeitet.

Zuerst muss schnell das Stück aus dem PBS-Röhrchen für RNA (RT-PCR) aufgearbeitet werden. Eine Petrischale wird mit kaltem PBS gefüllt und das Gewebe darin eingeführt (das Gewebe muss gut mit PBS bedeckt sein). Die Petrischale mit dem Herzohrstück wird auf Eis gestellt und unter Mikroskop wird die Einteilung der Stücke für die Probenisolierung durchgeführt. (**Abbildung 6**)



Abbildung 6: Einteilung des Herzohres

Wenn das PBS-Stück fertig aufgearbeitet wurde, wird das Herzohrstück im BDM-Puffer aufgearbeitet. Das Herzohrstück aus dem BDM-Röhrchen muss in Präparationslösung sehr gut gespült werden. Eine Petrischale wird mit Präparationspuffer gefüllt und das Gewebe darin eingeführt (das Stück muss gut mit Präparationspuffer bedeckt sein).

Das Fettgewebe muss vorsichtig weggeschnitten werden und erst nachher sollte die Trabekelisolierung durchgeführt werden. Wenn alle Trabekel isoliert wurden, werden die Trabekel in ein Röhrchen mit 10 ml Skin-Puffer (9900  $\mu$ l Präparationspuffer + 100  $\mu$ l Triton X) aus dem Kühlschrank reingelegt. Triton X (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) wird zur Entfernung des Sarkolemmes und dadurch Isolierung der kontraktilen Muskelproteine verwendet (142). Das Röhrchen wird dann in die Kühlkammer gestellt und über Nacht 24 h rotierend inkubiert.

Die Muskelfaserbündel dürfen nicht länger als 24 h (+/- 30 Min.) im Skin-Puffer (mit Triton X) inkubiert sein. Am zweiten Tag (nach 24 h Inkubation der Trabekel in Triton X) wird das Röhrchen aus der Kühlkammer geholt. Die Trabekel werden dann in einer Schale mit frischem Präparationspuffer aus dem Gefrierschrank gespült. Am Ende werden die gespülten Fasern in ein Röhrchen mit 10 ml Präparationspuffer gelegt und das Röhrchen wird im Gefrierschrank aufbewahrt. Die Fasern müssen innerhalb von 3 Monaten gemessen werden.

Für die Durchführung der Kraftmessungen wird ein Trabekel ausgesucht. In einer Petrischale mit Präparationslösung wird mit Hilfe von zwei Pinzetten das Endokard entfernt. Erst nachher wird der Trabekel in mehrere, dünne (max 0,5 mm) Fasern geteilt. (**Abbildung 7**)



*Abbildung 7:* Die geschnittenen Trabekel werden in mehrere, dünne Fasern geteilt

Vor dem Experiment werden die verschiedenen Konzentrationen von freiem  $\text{Ca}^{2+}$  durch das Mischen geeigneter Volumina der Relaxationspuffer und Kontraktionspuffer erhalten. Diese wurden mit einem Computerprogramm berechnet (Fabiato & Fabiato, 1979). (**Abbildung 8**)

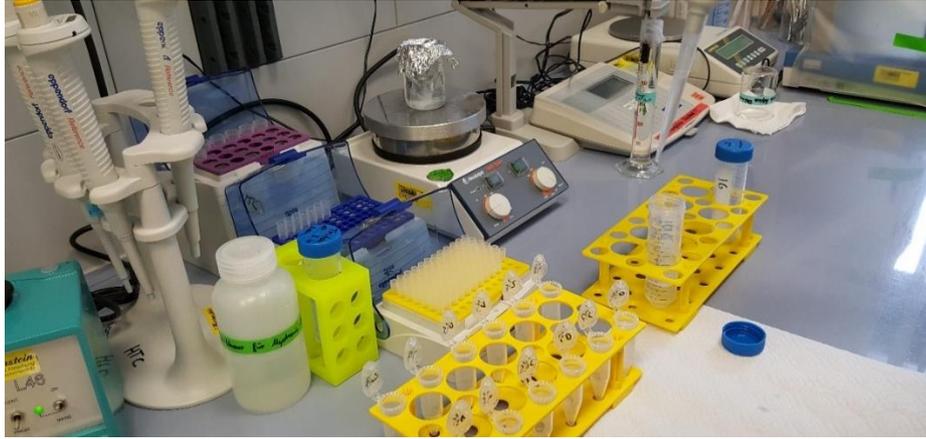


Abbildung 8: Die Vorbereitung verschiedener Kalziumkonzentrationen durch das Mischen geeigneter Volumina der Relaxationspuffer und Kontraktionspuffer

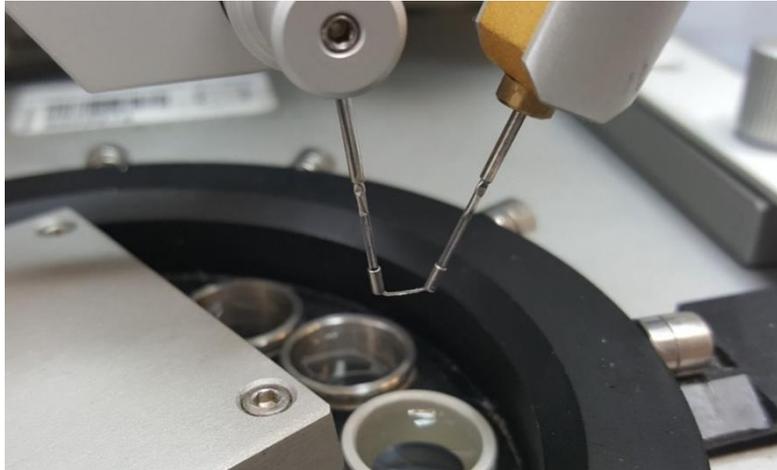
Die Affinität von Troponin C für Kalzium ist sehr hoch. Deshalb kann Kalzium nicht direkt der Lösung hinzugefügt werden, sondern es muss gepuffert werden. Die üblicherweise verwendete Puffersubstanz für Kalzium ist EGTA (ethylenglycol-(2-aminoethyl)-tetraessigsäure).

Die Faser wird dann zwischen den zwei Pinzetten des Systems (Firma Myotronic, Heidelberg) eingespannt (eine Pinzette entspricht dem Kraftaufnehmer und die andere fixiert die Faser). Der Muskel wird sich bei zunehmenden  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen anspannen und Kraft entwickeln, jedoch nicht verkürzen (es handelt sich also um eine isometrische Kontraktion)

Die Faser wird erstmal in die RR-Lösung eingeführt, um die Nullkraft einstellen zu können. (Das „Nullen“). Es folgt die Vordehnung auf ca. 0,2 mN.

Die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen variieren von pCa 7,0 bis 4,52. Der pCa-Wert ist als negativer Logarithmus der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration definiert, sodass ein niedriger pCa-Wert einer hohen  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration entspricht. Die physiologischen pCa-Werte liegen zwischen 5,2 bis 5,0.

Zu Beginn der Messungen liegt die Faser in einer  $\text{Ca}^{2+}$ -freien Lösung vollständig relaxiert. Danach wird sie in Lösungen, die zunehmend  $\text{Ca}^{2+}$  enthalten eingeführt und die Kraft gemessen. (**Abbildung 9**)



*Abbildung 9:* Die Faser wird zwischen den zwei Pinzetten des Systems eingespannt und in zunehmende Kalziumkonzentrationen eingeführt

Für jede Kalziumkonzentration wird die konstante Kraftentwicklung (steady state) abgewartet. Am Ende wird die pCa/Kraft Kurve automatisch erstellt. (**Abbildung 10**)

Aus der Kalzium-Kurve wird festgestellt, wie empfindlich der kontraktile Apparat für Kalzium ist. Der wichtigste Parameter ist die Kalziumempfindlichkeit. Es ist definiert als  $\text{EC}_{50}$ : die pCa, bei der der Muskel 50% seiner maximalen Kraft entwickelt. Der zweite Parameter ist die Steilheit der Kurve. Das entspricht dem Hill-Koeffizienten. Je steiler die Kurve (je höher der Hill-Koeffizient), desto einfacher das Kalzium an das Aktin-Filament bindet.

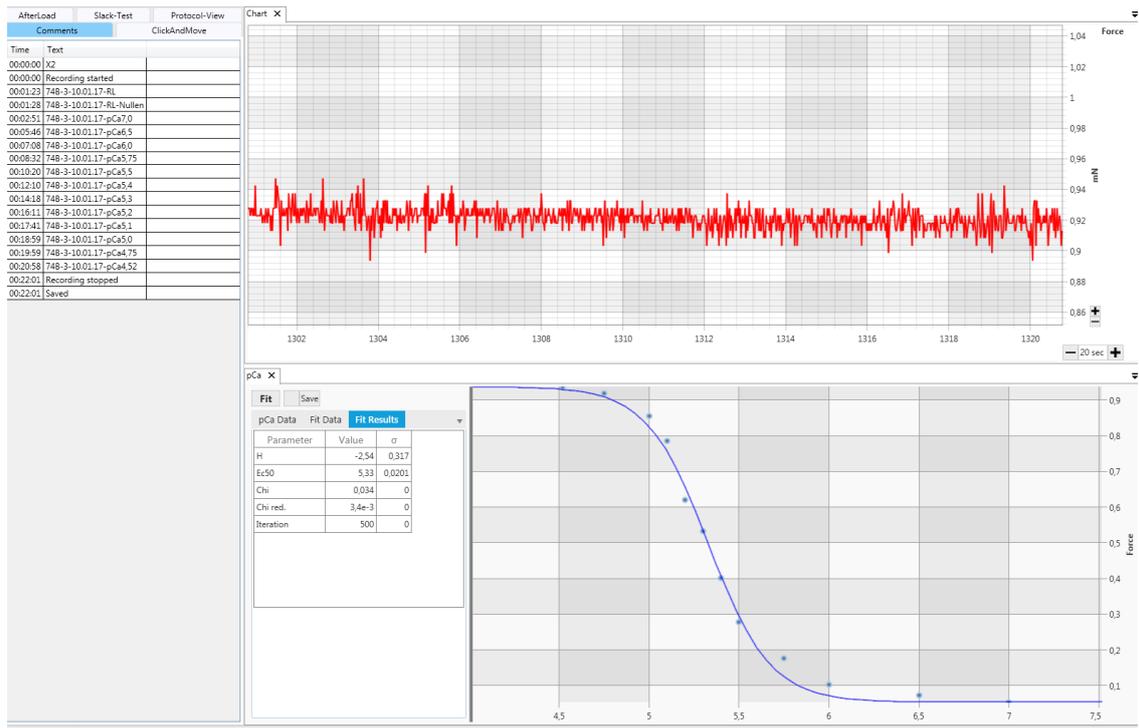


Abbildung 10: pCa/Kraft-Kurve. Bei zunehmenden  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen (pCa 4,5 bis pCa 7,5) entwickeln die Muskelfaser unterschiedliche Kraftwerte anhand dessen die pCa/Kraft Kurve erstellt wird. Die pCa/Kraft Kurve weist eine sigmoide Form auf. Im Bereich zwischen pCa 6 und pCa 5 findet eine starke Kraftentwicklung statt.

## 2.5 ELISA: Definition. Klassifizierung. Methode.

### Abnahme und Vorbereitung der Probe:

Die verwendete Testprobe ist menschliches Blut, welches direkt präoperativ (vor Einleitung der Narkose) von Patienten gewonnen wurde und dann unmittelbar an die Interdisziplinäre Biomaterial- und Datenbank Würzburg am Universitätsklinikum Würzburg geschickt wurde. Die Proben wurden dann für 15 Minuten bei 1000 x g zentrifugiert und aliquotiert und im Anschluß bei -80 ° C gefroren und gelagert. 6 bis 12 Monate später wurden die Proben aufgetaut und für die ELISA-Messungen benutzt. Wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen wurden vermieden.

### **Definition**

Enzym Linked Immunosorbent Assays (ELISA-Testmethoden) ist ein immunologisches Verfahren zum Nachweis bestimmter Moleküle im Blut oder in anderen Körperflüssigkeiten.

### **Methode**

Diese Methode verwendet ein Enzym-verknüpftes Antigen oder Antikörper als Marker für den Nachweis von spezifischen Proteinen. Ein mit einem Antikörper konjugiertes Enzym reagiert mit einem farblosen Substrat, um ein farbiges Reaktionsprodukt zu erzeugen. Mehrere Enzyme wurden für den ELISA-Test verwendet: alkalische Phosphatase, Peroxidase und  $\beta$ -Galactosidase (143).

Die Technik enthält drei Prinzipien die, die Methode zu einem der spezifischsten und empfindlichsten Immunoassays machen (143):

- Eine Immunreaktion, d.h. Antigen-Antikörper-Reaktion.
- Enzymatische chemische Reaktion, d.h. Enzym katalysiert die Bildung von farbigem (chromogenem) Produkt aus farblosem Substrat.
- Signaldetektion und Quantifizierung, d.h. Erfassung und Messung der Farbintensität der gefärbten Produkte, die durch das Enzym und das zugegebene Substrat erzeugt wurden.

**Zur Durchführung der ELISA-Tests wurden folgende Materialien gebraucht:**

einen Inkubator (37 ° C), ein ELISA-Lesegerät (ELISA-Reader Tecan Infinity Pro, Tecan Group Ltd., Schweiz) mit einem Filter ausgestattet, um die Absorption bei 450 nm zu messen; eine manuelle Einrichtung zum Waschen der Platte; automatische Pipetten; ein Vortex; destilliertes Wasser; Teströhrchen; Timer.

MMP9, TIMP-1, Galectin 3, GDF 15 und TGF- $\beta$  wurden unter Verwendung von ELISA-Kits (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) analysiert, die von R&D Systems, Bio-Techne, (Wiesbaden, Germany) hergestellt wurden. Die Kits wurden gemäß den Anweisungen des Herstellers verarbeitet. Standards bekannter Konzentrationen und Serumproben wurden doppelt getestet. Zwei „Wells“/Slots pro Platte wurden als "Blanks" verwendet, um Korrekturen zu ermöglichen. Die ELISA-Platten wurden mit einem 450 nm Filter mit dem ELISA-Reader Tecan Infinity Pro (Tecan Group Ltd., Schweiz) analysiert. Für MMP9, TIMP-1, Galectin 3 und GDF-15 wurde laut Hersteller eine Kreuzreaktivität geringer 0,5% mit verfügbaren Molekülen beobachtet. Alle benutzte ELISA-Kits haben als Prinzip die Sandwich- ELISA-Methode.

**Die Sandwich ELISA** wird verwendet, um ein bestimmtes Proben-Antigen zu identifizieren (144). Die Platte wird erstmal mit Antikörpern beschichtet. Nicht-spezifische Bindungsstellen werden mit Rinderserumalbumin blockiert. Die Antigen-enhaltende Probe wird zugegeben. (144)

Ein spezifischer primärer Antikörper wird dann nach dem Waschen zugegeben. Enzym-verbundener sekundärer Antikörper wird hinzugefügt. Ungebundene Antikörper-Enzym-Konjugate werden abgewaschen. Das Substrat für das Enzym wird eingeführt, um die Antigene zu quantifizieren (144).

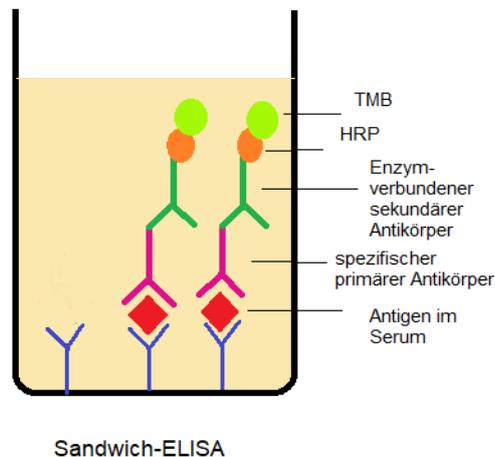


Abbildung 11: Schematische Darstellung eines ELISA-Tests

Das ELISA-Kit für MMP-9 (DMP900) benötigt ein Volumen von 10 µL Serum, hat einen Testbereich zwischen 0,3 - 20 ng / ml (Sensitivität: 0,156 ng / ml) und detektiert natürliches und rekombinantes menschliches 92 kDa Pro-MMP-9 und 82 kDa aktives MMP-9.

Ähnlich ist das TIMP-1 ELISA Kit (DTM100) spezifisch für natürliches und rekombinantes humanes TIMP-1 benötigt 10 µL Serum und detektiert Werte zwischen 0,2 - 10 ng / ml (Sensitivität: 0,08 ng / ml). Für Galectin-3 (DGAL30) wurden 50 µL Serum verwendet und das Kit detektiert natürliches und rekombinantes humanes Galectin-3 mit einem Testbereich zwischen 0,3 - 10 ng / ml (Sensitivität: 0,085 ng / ml). GDF-15 Werte (DGD150, R&D Systems) wurden mit einer Sensitivität von 4,39 pg / ml detektiert (der Testbereich des Kits lag laut Hersteller zwischen 23,4 - 1500 pg / ml). Das Kit für TGF-β1 (DB100B) brauchte 40 µL Serum für jede Bestimmung und Werte zwischen 31,2 - 2000 pg / ml konnten damit ermittelt werden (mit einer Sensitivität von: 15,4 pg / ml).

## 2.6 Statistische Analyse

Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SPSS, Version 24.0 durchgeführt. Die metrischen Variablen wurden mittels des Kolmogorow-Smirnow-Tests hinsichtlich ihrer Normalverteilung überprüft. Eine signifikante Abweichung von der Normalverteilung besteht bei  $p < 0,05$ ; in diesem Falle wurden nichtparametrische Tests benutzt. Die Durchführung des Normalverteilungstests erfolgte mit dem Kolmogorow-Smirnow-Test.

Für alle statistischen Tests war ein p-Wert  $< 0,05$  als statistisch signifikant bewertet. Beim Vergleich von 2 unabhängigen, normalverteilten Stichproben wurde der t-Test benutzt, dagegen beim Vergleich von 2 unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Beim Vergleichen von 2 verbundenen, nicht normalverteilten Stichproben wurde der Wilcoxon-Test verwendet. Beim Vergleich von zwei verbundenen, normalverteilten Stichproben wurde der t-Test verwendet.

Alle kategorialen Variablen wurden mit dem Chi-Quadrat-Test und dem exakten Fisher-Test analysiert.

Für die multivariate Analyse wurde eine binäre logistische Regression unter Verwendung eines Likelihood-Ratio-Tests angewendet (Einschluss  $p \leq 0,05$ , Ausschluss  $> 0,1$ ).

### 3 Ergebnisse

Die 229 Patienten wurden in zwei unterschiedliche Gruppen eingeteilt:

- **Gruppe A:** bestand aus 38 Patienten, die postoperativ ein neu aufgetretenes VHF (POAF= postoperative atrial fibrillation) entwickelt haben
- **Gruppe B:** bestand aus 191 Patienten, die einen normalen SR für die Dauer der postoperativen Phase behalten haben.

#### 3.1 Normalverteilungstest und Auswahl der anzuwendenden Testverfahren

<b>Kolmogorow-Smirnow-Test</b>			
	Statistik	df	Signifikanz
MW LAA Mittelwert von pCa 7,0	,140	163	<b>,000</b>
MW LAA Mittelwert von pCa 6,5	,158	165	<b>,000</b>
MW LAA Mittelwert von pCa 6,0	,143	165	<b>,000</b>
MW LAA Mittelwert von pCa 5,75	,150	165	<b>,000</b>
MW LAA Mittelwert von pCa 5,5	,103	165	<b>,000</b>
MW LAA Mittelwert von pCa 5,4	,096	165	<b>,001</b>

MW LAA Mittelwert von pCa 5,3	,072	165	<b>,039</b>
MW LAA Mittelwert von pCa 5,2	,077	165	<b>,018</b>
MW LAA Mittelwert von pCa 5,1	,061	165	,200*
MW LAA Mittelwert von pCa 5,0	,064	165	,099
MW LAA Mittelwert von pCa 4,75	,072	165	<b>,037</b>
MW LAA Mittelwert von pCa 4,52	,060	165	,200*
MW RAA Mittelwert von pCa 7,0	,186	162	<b>,000</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 6,5	,155	165	<b>,000</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 6,0	,130	165	<b>,000</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 5,75	,112	165	<b>,000</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 5,5	,089	165	<b>,003</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 5,4	,091	165	<b>,002</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 5,3	,085	165	<b>,005</b>

MW RAA Mittelwert von pCa 5,2	,091	165	<b>,002</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 5,1	,104	165	<b>,000</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 5,0	,096	165	<b>,001</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 4,75	,091	165	<b>,002</b>
MW RAA Mittelwert von pCa 4,52	,096	165	<b>,001</b>
Alter [Jahre]	,088	165	<b>,003</b>
Verweildauer [Tage]	,324	163	<b>,000</b>
Größe [cm]	,084	165	<b>,006</b>
Gewicht [kg]	,105	165	<b>,000</b>
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	,070	165	<b>,044</b>
FEV1	,085	110	<b>,049</b>
LA Atrial Fläche [cm <sup>2</sup> ]	,048	137	,200*
RA Fläche [cm <sup>2</sup> ]	,045	139	,200*
EF [%]	,153	155	<b>,000</b>
E/Lat E'	,134	121	<b>,000</b>
MV E/A	,522	143	<b>,000</b>
sPAP [mmHg]	,114	114	<b>,001</b>
TAPSE [mm]	,089	140	<b>,009</b>
ACB	,285	165	<b>,000</b>
ACVB	,241	165	<b>,000</b>

MMP9 [pg/mL]	,097	155	<b>,001</b>
Galectin 3 [pg/mL]	,071	100	,200*
GDF 15 [pg/mL]	,264	150	<b>,000</b>
TGFβ [pg/mL]	,395	153	<b>,000</b>
TIMP-1 [ng/mL]	,076	139	<b>,045</b>
Pentraxin-3 [pg/mL]	,246	68	<b>,000</b>
hsCRP [pg/mL]	,337	155	<b>,000</b>
HbA1c [%]	,196	163	<b>,000</b>
Prä-OP-Labor.Creatinin [mg/dL]	,272	165	<b>,000</b>
Präop. GFR (MDRD) [mL/min]	,052	164	,200*
Postop. Creatinin [mg/dL]	,199	165	<b>,000</b>
Postop. GFR (MDRD) [mL/min]	,041	164	,200*
Präop. NT-Pro-BNP [pg/mL]	,385	154	<b>,000</b>
Postop.NT-Pro-BNP [pg/mL]	,267	155	<b>,000</b>
Euroscore	,448	122	<b>,000</b>
Cross-Clamping-Zeit	,064	163	,200*
HLM-Zeit	,090	163	<b>,003</b>
Schnitt-Naht-Zeit	,108	164	<b>,000</b>

*Tabelle 1:* Normalverteilungstest und Auswahl der anzuwendenden Testverfahren

Bei der Analyse der metrischen Variablen zeigte sich, dass bei allen Parametern bis auf 9 Variablen die Signifikanzen (p-Werte) des Kolmogorow-Smirnow-Tests kleiner 0,05 ( $< 0,05$ ) waren, also die Stichproben somit nicht normalverteilt sind.

Die neun Variablen, für die der p-Wert des Kolmogorow-Smirnow-Tests nicht kleiner 0,05 waren, lauten:

- MW LAA Mittelwert von pCa 5,1
- MW LAA Mittelwert von pCa 5,0
- MW LAA Mittelwert von pCa 4,52
- LA Atrial Fläche
- RA Fläche
- Galectin 3
- Prä-OP-Labor.GFR (MDRD)
- Post-OP-Labor.GFR (MDRD)
- Cross-Clamping-Zeit

### 3.2 Vergleich der demographischen Daten

Demographische Daten wurden zusammenfassend in Tabelle 2 dargestellt.

Variable	Gruppe A POAF n = 38	Gruppe B SR n= 191	p-Wert
Alter	73.05±7.4	67.53±9.81	0.001
BMI	29.25±4.40	29.04±4.22	0.6
Frauen, % (n)	15.8(6)	16.8(32)	0.6
Männer, % (n)	84.2 (32)	83.2(159)	0.6
Arterielle Hypertonie % (n)	84.2 (32)	74.8(143)	0.04
Diabetes mellitus; % (n)	68.42 (26)	62.83 (120)	0.7
Präop. Creatinine (mg/dl)	1.36±0.14	1.09±0.47	0.03
Präop. GFR (MDRD) ml/min	67.24±22.82	76.57±23.12	0.02
Postop. Creatinine (mg/dl)	1.24±0.88	1.00±0.35	0.03
Postop. GFR (MDRD) ml/min	72.25±24.98	84.07±25.29	0.009
HbA1c (%)	6.23±1.08	6.02±0.85	0.2
Hyperlipoproteinämie % (n)	63(24)	74(142)	0.03
EuroSCORE II	2.59±0.47	1.79±0.24	0.8

Tabelle 2: Vergleich der demographischen Daten zwischen Gruppe A und Gruppe B.

➤ Das Alter

In Bezug auf das Alter zeigte unsere Studie, dass die Patienten, die postoperativ Vorhofflimmern entwickelt haben, einen signifikanten Unterschied im Alter im Vergleich zu der SR-Gruppe hatten. Während in der SR-Gruppe der Mittelwert bei  $67.53 \pm 9.81$  Jahren lag, war der Mittelwert in der VHF-Gruppe bei  $73.05 \pm 7.4$  signifikant höher ( $p=0.001$ , Mann-Whitney-U-Test).

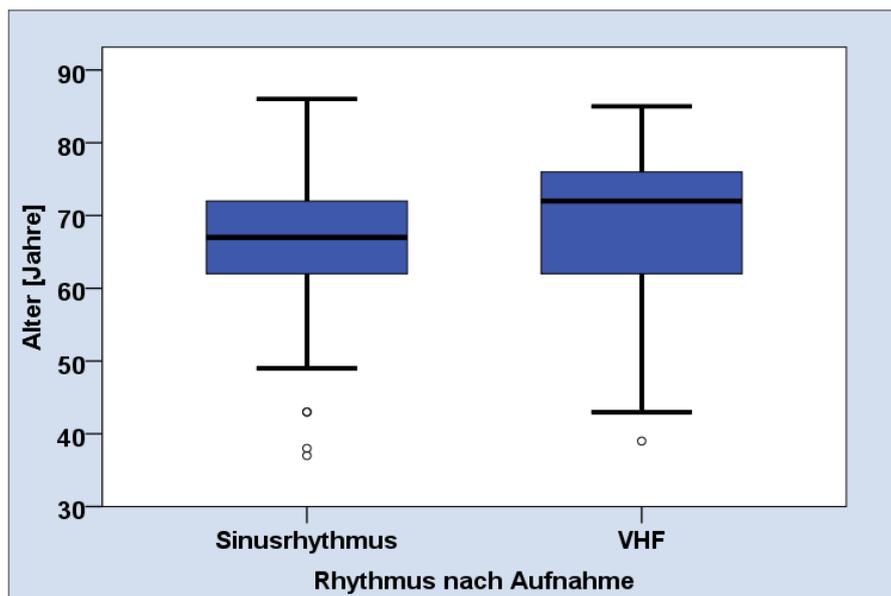


Abbildung 12: Boxplotdarstellung des Alters für Patienten in Gruppe A (postop VHF) und Gruppe B (postop SR)

➤ Geschlecht

Bezüglich des Geschlechts gab es zwischen den 2 Gruppen keine signifikanten Unterschiede (Fisher Test,  $p=0.6$ ). Gruppe A beinhaltet 6 Frauen (15,8%) und 32 Männer (84,2%) und Gruppe B 32 Frauen (16,8%) und 159 Männer (83,2%).

➤ BMI

Mit Rücksicht auf BMI (Gruppe A:  $29,25 \pm 4,4$  vs. Gruppe B:  $29,04 \pm 4,22$ , Mann-Whitney-U-Test,  $p=0.6$ ) waren die 2 Gruppen vergleichbar. Dies ist auch in der folgenden Abbildung dargestellt.

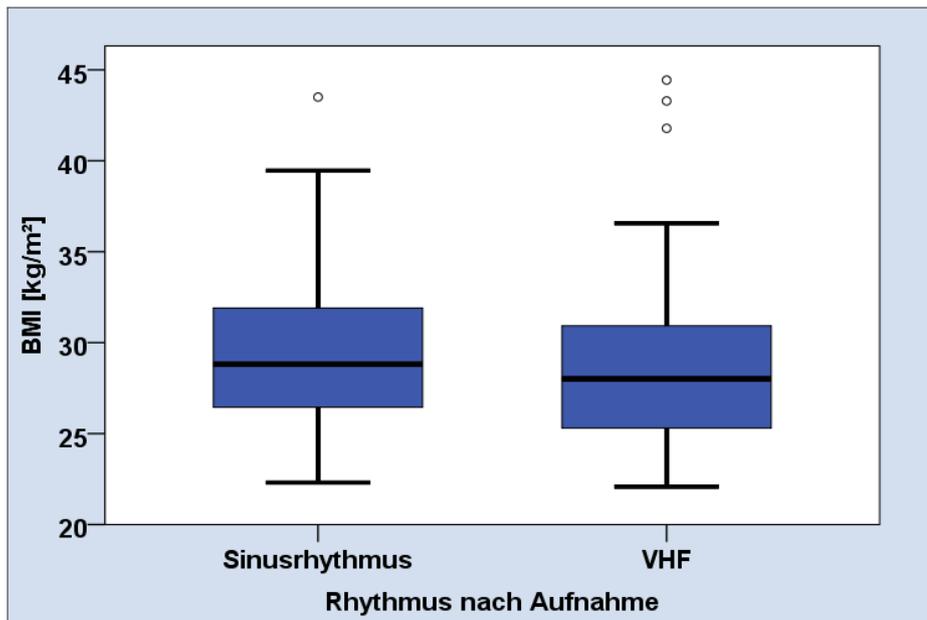


Abbildung 13: Boxplotdarstellung des BMI-Werts bei Patienten in Gruppe A (VHF) und Gruppe B (postop SR)

➤ Arterielle Hypertonie

Hinsichtlich der arteriellen Hypertonie beinhaltet Gruppe A 32 Patienten (84,2 %) mit Hypertonus und Gruppe B 143 Patienten (74,8%) mit Hypertonus und damit gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Gruppen (Fisher-Test, 2-seitig:  $p=0.04$ ).

➤ Diabetes mellitus

In Bezug auf Diabetes mellitus, 26 (68,42%) Patienten in Gruppe A und 120 (62,83%) Patienten in Gruppe B waren Diabetiker ( $p=0.7$ ). Die statistische Analyse von HbA1c zeigt, dass VHF-Patienten höhere Werte aufweisen aber

ohne statistische Signifikanz ( $6,23 \pm 1,08$  in Gruppe A, bzw.  $6,02 \pm 0,85$  in Gruppe B,  $p= 0.21$ ).

➤ Niereninsuffizienz: präoperatives Creatinin und GFR (MDRD)

In unserer Studie zeigten die Patienten in Gruppe A (POAF) ein signifikant höheres Creatinin im Vergleich zu den Patienten in Gruppe B ( $1,36 \text{ mg/dL} \pm 0,14$  vs.  $1,09 \text{ mg/dL} \pm 0,47$ ; Mann-Whitney-U-Test:  **$p = 0.03$** ). In der folgenden graphischen Darstellung werden diese Daten nochmal dargestellt.

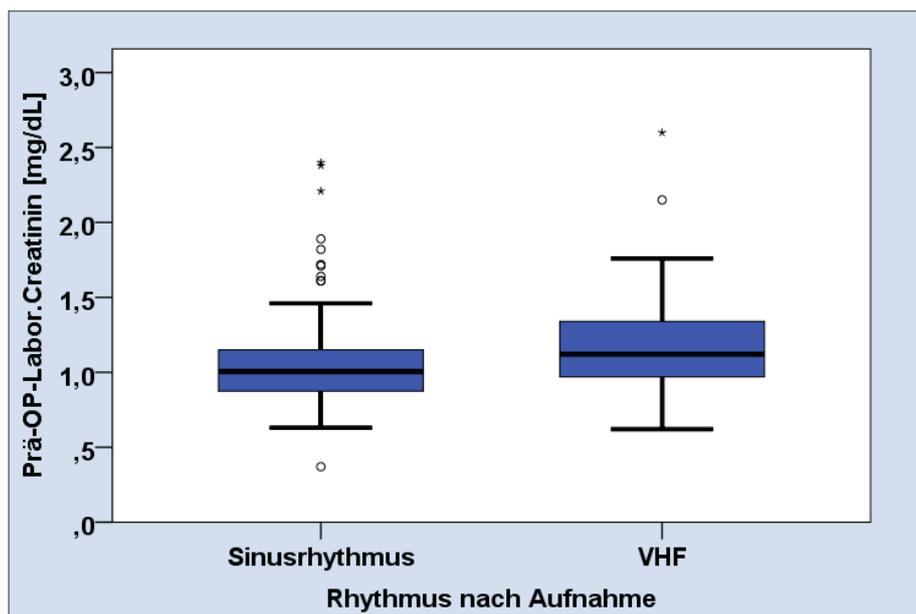


Abbildung 14: Boxplotdarstellung der präoperativen Creatinin-Werte bei Patienten in Gruppe A (VHF) und Gruppe B (postop SR). 2 Extremausreißer > 3,0 mg/dL wurden graphisch nicht dargestellt)

Hinsichtlich der Nierenfiltrationsrate (GFR), haben die Patienten in Gruppe A eine signifikant eingeschränktere Nierenfunktion im Gegensatz zur Gruppe B gezeigt ( $67,2 \text{ mL/Min} \pm 22,82$  in Gruppe A vs.  $76,57 \text{ mL/Min} \pm 23,1$  in Gruppe B; TTest:  **$p=0,022$** )

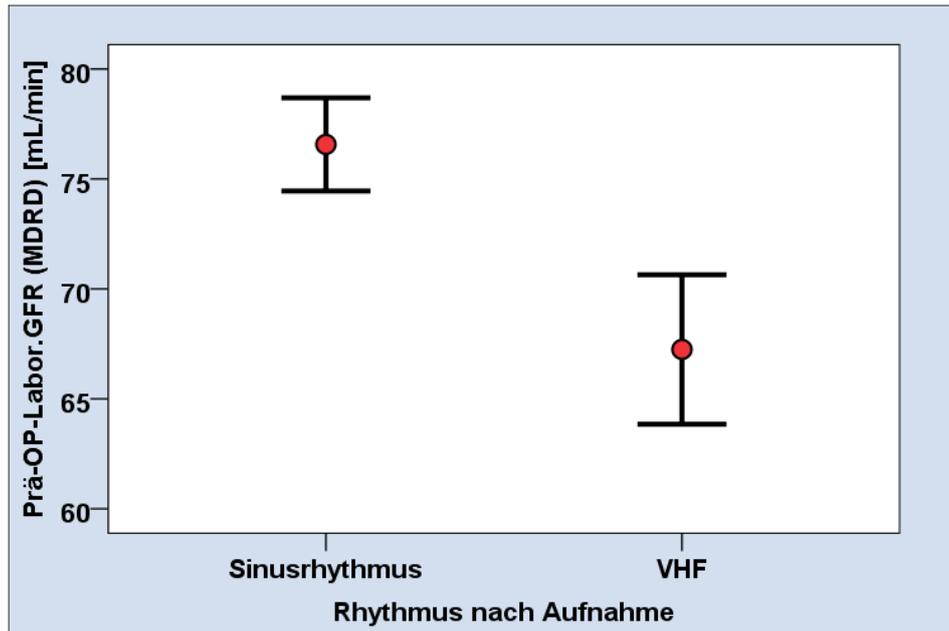


Abbildung 15: Darstellung der präoperativen GFR-Werte bei Patienten in Gruppe A (VHF) und Gruppe B (postop SR).

➤ Euroscore II

Die statistische Analyse der Daten zeigte, dass die Patienten in Gruppe A (POAF) präoperativ nicht signifikant höhere Euroscore-Werte im Vergleich zu der Gruppe B (SR) hatten (Gruppe A:  $2.59 \pm 0.47$  vs. Gruppe B  $1.79 \pm 0.24$ , Mann-Whitney-U-Test:  $p = 0.8$ ).

### 3.3 Vergleich der echokardiographischen Daten

Echokardiographische Daten wurden in Tabelle 3 zusammengefasst dargestellt.

Variable	Gruppe A POAF n = 38	Gruppe B SR n= 191	p-Wert
sPAP; (mmHg)	33±11	30±10	0.4
LVEF (%)	55.53±11.91	54.45±9.06	0.8
LA Fläche (cm <sup>2</sup> )	27.88±7.21	19.46±4.97	0.0001
RA Fläche (cm <sup>2</sup> )	21.84±8.76	15.13±4.16	0.0001
TAPSE	18.61±3,85	23.29±3.76	0.001
E/Lat E'	9.21±5.0	8.64±4.18	0.4
MV E/A	1.85±0.20	1.06±0.16	0.07

Tabelle 3: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen für LVEF, LA Fläche (cm<sup>2</sup>), RA Fläche (cm<sup>2</sup>), TAPSE, E/A und E/Lat E' (zur Beurteilung der diastolischen Dysfunktion) in Gruppe A und Gruppe B

#### ➤ Fläche und Volumina

Was die echokardiographischen Daten betrifft, gab es bezüglich der linksventrikulären systolischen Funktion (LVEF) keine Unterschiede zwischen Gruppe A und Gruppe B (LVEF=55.53±11.91 in Gruppe A vs. LVEF= 54.45±9.06 in Gruppe B, Mann-Whitney-U-Test: p=0.8)

Die statistische Analyse hat gezeigt, dass die linksatriale Fläche (LA-Fläche) signifikant größer in der POAF-Gruppe im Vergleich zu der SR-Gruppe war (27.88 cm<sup>2</sup> ±7.21 in Gruppe A vs. 19.46 cm<sup>2</sup>±4.97; TTest **p=0.0001**).

Nach dem gleichen Muster war der Unterschied in der RA-Fläche zwischen Patienten mit postoperativem SR und Patienten mit postoperativem VHF signifikant (21.84 cm<sup>2</sup>±8.76 in Gruppe A vs. 15.13 cm<sup>2</sup>±4.16 in Gruppe B, T-Test: p=0.0001)

➤ Die diastolische Funktion des Herzens

Betrachtete man die E/A und E/Lat E' Werte, als Parameter für die diastolische Dysfunktion, mit dem Mann-Whitney-U-Test für die Patienten in beiden Gruppen, so fielen keine statistisch signifikanten Abweichungen der Werte bei Patienten mit POAF im Vergleich zu den Patienten mit postoperativem Sinusrhythmus. Gruppe A zeigte zwar eine Tendenz für höhere E/A-Werte (Gruppe A  $1.85 \pm 0.20$  vs. Gruppe B  $1.06 \pm 0.16$ ,  $p=0.07$ ) sowie für E/ Lat E'-Werte (Gruppe A  $9.21 \pm 5.0$  vs. Gruppe B  $8.64 \pm 4.18$ ,  $p=0.04$ ), jedoch gab es keinen signifikanten Unterschied.

➤ TAPSE und sPAP

TAPSE, als Maß für die rechtsventrikuläre systolische Funktion, war signifikant niedriger bei Patienten mit postoperativem VHF im Vergleich zu den SR-Patienten (Gruppe A  $18.61 \pm 3.85$  vs. Gruppe B  $23.29 \pm 3.76$ ,  $p=0.001$ ). Hingegen war der Unterschied zwischen den zwei Gruppen in den sPAP-Werten nicht signifikant (Gruppe A  $33 \pm 11$  vs. Gruppe B  $30 \pm 10$ ,  $p=0.4$ ).

### 3.4 Intraoperative Daten

In unserer Studie gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Gruppen in Bezug auf die Bypass-Zeit (postop. SR-Gruppe: 104 Min $\pm$ 35 vs. postop. VHF-Gruppe: 114 Min $\pm$  41,  $p=0.07$ ) oder Cross-Clamping-Zeit (SR-Gruppe 76,8 Min $\pm$ 29 vs. VHF-Gruppe 82,9 Min $\pm$ 23,  $p=0.2$ ). (**Tabelle 4**)

Variable	Group A (POAF)	Group B (postop SR)	p-Wert
Cross-Clamping-Zeit (Min)	82.93 $\pm$ 23.8	76.86 $\pm$ 29.13	0.2
Bypass-Zeit (Min)	114.11 $\pm$ 41.08	104.66 $\pm$ 35.92	0.07
Anzahl der arteriellen Anastomosen	1.1 $\pm$ 0.93	1.60 $\pm$ 0.86	0.01
Anzahl der venösen Anastomosen	1.08 $\pm$ 1.05	1.29 $\pm$ 0.86	0.1

*Tabelle 4:* Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen für Cross-Clamping-Zeit, Bypass-Zeit und Anzahl der arteriellen und venösen Anastomosen in Gruppe A und Gruppe B. HLM: Herz-Lungen-Maschine

In unserer Studie war die Anzahl der arteriellen Anastomosen in der SR-Gruppe signifikant höher (Gruppe B 1.60 $\pm$ 0.86) im Vergleich zu der VHF-Gruppe (Gruppe A 1.1 $\pm$ 0.93), Mann-Whitney-U-Test,  $p=0.01$ . Im Gegensatz dazu ergab die Analyse der venösen Anastomosen keinen signifikanten Unterschied.

Jedoch war auch die Anzahl der venösen Anastomosen höher in der SR-Gruppe verglichen zur POAF Gruppe.

### 3.5 Vergleich der Biomarker

Variable	Group A (POAF)	Group B (postop SR)	p-Wert
MMP9 (pg/ml)	724.48±325.14	875.68±375.78	0.029
TIMP-1 (ng/ml)	175.19±55.56	164.77±37.36	0.43
GDF-15 (pg/ml)	1277.69±594.72	1010.64±108.79	0.001
Galectin 3 (pg/ml)	10.35±4.28	9.67±3.22	0.3
TGF β (pg/ml)	22.61±7.62	32.94±8.66	0.1
Pentraxin-3 (pg/ml)	2419.80±663.11	3135.33±204.03	0.04
hsCRP (pg/ml)	0.665±1.8	0.623±1.3	0.64
Präop NT-proBNP (pg/ml)	1867.47±120.48	1407.38±418.01	0.0001

Tabelle 5: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen für Biomarker

In unserer Studie waren die MMP-9-Werte in Gruppe A (724.4±325 pg/ml) signifikant niedriger im Vergleich zur Gruppe B (875.68±375.78), Mann-Whitney-U-Test:  $p= 0.029$ . (**Abbildung 16**) Zusätzlich fanden wir in Gruppe A eine Tendenz für höhere TIMP-1-Werte (Gruppe A: 175,1 ng/ml± 55 vs. Gruppe B: 164,7 ng/ml ±37,35, Mann-Whitney-U-Test:  $p=0.437$ ).

Die GDF-15 Serumkonzentrationen in Gruppe A (1277.69 pg/ml± 594.72) waren signifikant höher im Vergleich zu der SR-Gruppe (1010.64 pg/ml±108.79), Mann-Whitney-U-Test:  $p= 0.001$ .

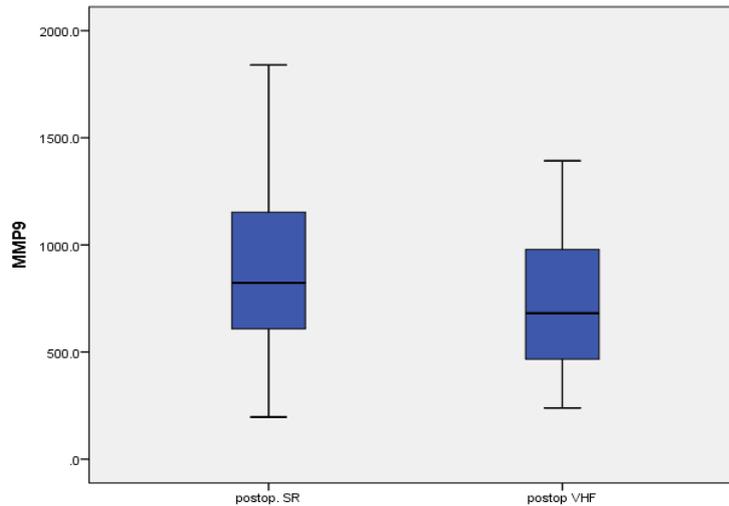


Abbildung 16 Boxplotdarstellung der MMP-9 Werte bei Patienten mit postoperativem VHF (Gruppe A) und Patienten mit postoperativem SR (Gruppe B)

In Bezug auf die Galectin-3 Werte zeigte unsere Studie, dass die zwei Gruppen nicht signifikant unterschiedlich waren (Gruppe A  $10,35 \pm 4,28$  pg/ml vs. Gruppe B  $9,67 \pm 3,22$  pg/ml, T-Test:  $p=0,373$ ).

Auch die TGF- $\beta$ 1 Serumkonzentrationen waren in unseren zwei Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (Gruppe A:  $22,61 \pm 7,62$  pg/ml vs. Gruppe B:  $32,94 \pm 8,66$  pg/ml, Mann-Whitney-U-Test  $p= 0,17$ ).

Hinsichtlich der Korrelation zwischen Entzündungsbiomarkern (hsCRP und Pentraxin 3) und postoperativem VHF waren die präoperativen Serumwerte von hsCRP nicht signifikant unterschiedlich zwischen den zwei Gruppen. Hingegen, zeigte unsere Studie, dass präoperative Pentraxin-3 Serumwerte signifikant höher in Gruppe B im Vergleich zur Gruppe A waren (Gruppe A: 2419 pg/ml vs. Gruppe B: 3135 pg/ml,  $p=0,04$ ).

Unsere statistische Analyse hat auch signifikant höhere präoperative NT-proBNP Werte bei den Patienten mit postoperativ neu aufgetretenem VHF gezeigt (Gruppe A  $1867,47 \pm 120,4$  pg/ml vs. Gruppe B  $1407,38 \pm 418$  pg/ml,  $p= 0,0001$ ).

### 3.6 Vergleich der rechts- und linksatrialen Kraftwerte

Bei dem Vergleich der Kraftwerte zwischen den zwei Gruppen beobachteten wir eine Abnahme der linksatrialen Kraftwerte bei Patienten mit postoperativ neu aufgetretenem Vorhofflimmern (Gruppe A), die signifikant bei physiologischen und suprphysiologischen Kalziumkonzentrationen war (pCa 5,5 bis pCa 4,52).

Parameter	Gruppe A (POAF) n = 38	Gruppe B (SR) n= 191	p-Wert
LAA pCa 5.5	0.34±0.19 mN	0.41±0.23 mN	p= 0.04
LAA pCa 5.4	0.45±0.20 mN	0.56±0.26 mN	p= 0.008
LAA pCa 5.3	0.52±0.22 mN	0.67±0.29 mN	p= 0.0001
LAA pCa 5.2	0.60±0.24 mN	0.79±0.33 mN	p= 0.0001
LAA pCa 5.1	0.67±0.25 mN	0.88±0.35 mN	p= 0.0001
LAA pCa 5.0	0.68±0.27 mN	0.90±0.37 mN	p= 0.0001
LAA pCa 4.75	0.75±0.28 mN	0.98±0.38 mN	p= 0.0001
LAA pCa 4.52	0.75±0.29 mN	0.97±0.38 mN	p= 0.0001
RAA pCa 5.2	0.51±0.25 mN	0.60±0.28 mN	p=0.07
RAA pCa 5.1	0.57±0.27 mN	0.67±0.30 mN	p=0.062
RAA pCa 5.0	0.57±0.28 mN	0.68±0.32 mN	p =0.04
RAA pCa 4.75	0.63±0.30 mN	0.76±0.34 mN	p =0.03
RAA pCa 4.52	0.62±0.31 mN	0.75±0.26 mN	p=0.03

*Tabelle 6:* Darstellung der links- und rechtsatrialen Muskelkraftwerte (als Mittelwert ± Standardabweichung) bei progredienten Kalziumkonzentrationen in Gruppe A und Gruppe B.

Im linken Vorhof (**Tabelle 6**), fanden wir signifikant reduzierte Kraftwerte bei Patienten mit postoperativem VHF bei folgenden Kalziumkonzentrationen: pCa 5.5 ( $0.34 \pm 0.19$  mN versus  $0.41 \pm 0.23$  mN,  $p = 0.04$ ), pCa 5.4 ( $0.45 \pm 0.20$  versus  $0.56 \pm 0.26$  mN,  $p = 0.008$ ), pCa 5.3 ( $0.52 \pm 0.22$  versus  $0.67 \pm 0.29$  mN,  $p = 0.0001$ ), pCa 5.2 ( $0.60 \pm 0.24$  versus  $0.79 \pm 0.33$  mN,  $p = 0.0001$ ), pCa 5.1 ( $0.67 \pm 0.25$  versus  $0.88 \pm 0.35$  mN,  $p = 0.0001$ ), pCa 5.0 ( $0.68 \pm 0.27$  versus  $0.90 \pm 0.37$  mN,  $p = 0.0001$ ), pCa 4.75 ( $0.75 \pm 0.28$  versus  $0.98 \pm 0.38$  mN,  $p = 0.0001$ ) and pCa 4.52 ( $0.75 \pm 0.29$  mN versus  $0.97 \pm 0.38$  mN,  $p = 0.0001$ ).

In der folgenden Grafik (**Abbildung 17**) werden die Kraftwerte im linken Vorhof für beide Patientengruppen bei pCa 5,5 bis pCa 4,52 (physiologischer Bereich pCa 5,2 bis pCa 5,0) vergleichend dargestellt. Gruppe A zeigte signifikant reduzierte Kraftwerte bei den Kalziumkonzentrationen von pCa 4,75 bis pCa 5,5.

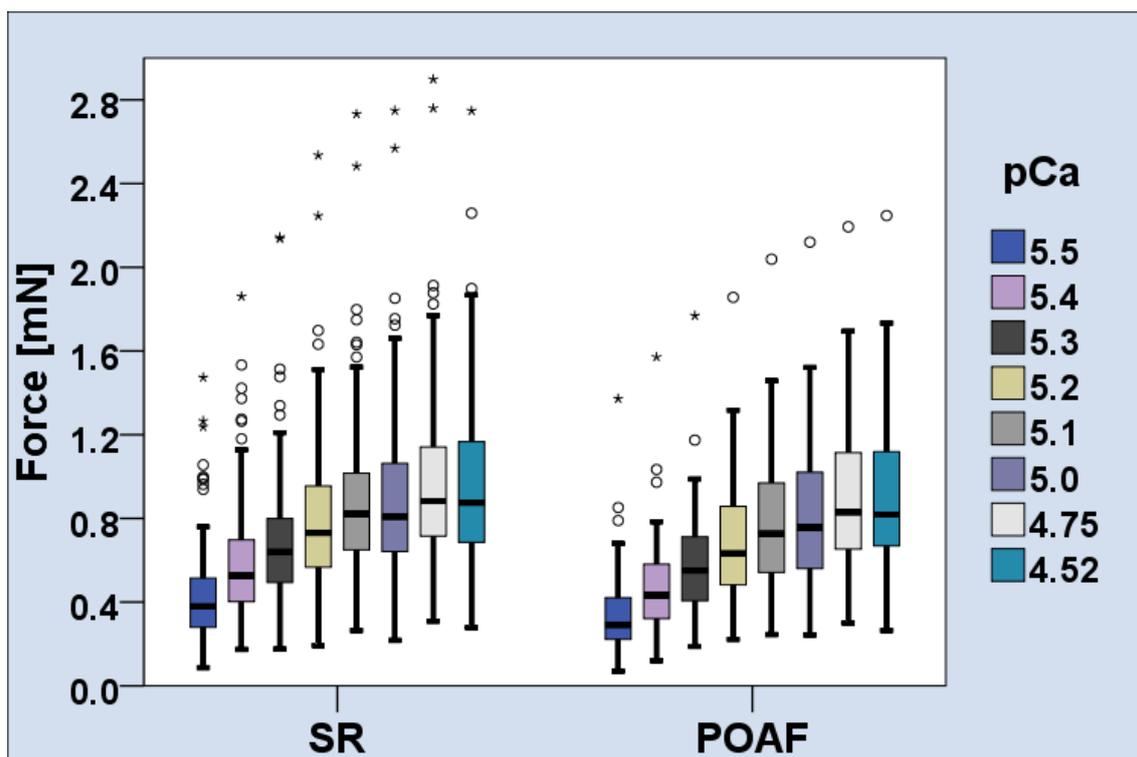


Abbildung 17: Boxplotdarstellung der linksatrialen Kraftwerte von Patienten mit POAF (Gruppe A) im Vergleich zu den Patienten mit postoperativem SR (Gruppe B) bei progredienten Kalziumkonzentrationen.

Betrachtet man die Kraftwerte der rechtsatrialen Muskelfasern in den zwei Gruppen so zeigte sich ebenfalls eine Minderung der Kraftwerte bei den Patienten, die postoperativ Vorhofflimmern entwickelt haben. Jedoch zeigten sich diese Werte signifikant unterschiedlich bei Patienten mit POAF erst bei sehr hohen, supraphysiologischen Kalziumkonzentrationen (**Tabelle 6**): pCa 5.2 ( $0.51 \pm 0.25$  versus  $0.60 \pm 0.28$  mN,  $p= 0.07$ ), pCa 5.1 ( $0.57 \pm 0.27$  mN versus  $0.67 \pm 0.30$  mN,  $p=0.062$ ), pCa 5.0 ( $0.57 \pm 0.28$  mN versus  $0.68 \pm 0.32$  mN,  $p=0.04$ ), pCa 4.75 ( $0.63 \pm 0.30$  versus  $0.76 \pm 0.34$  mN,  $p= 0.03$ ) and pCa 4.52 ( $0.62 \pm 0.31$  mN versus  $0.75 \pm 0.26$  mN,  $p= 0.03$ ).

Die folgende Grafik ist eine Darstellung der entwickelten LAA-Kraft bei steigenden Calciumkonzentrationen. Die Kraftwerte werden vom pCa 7,0 ausgehend dargestellt und es entsteht eine sigmoide Form der Calcium-Kraft Kurve. Erwähnenswert ist, dass bei niedrigen Kalziumwerten kaum Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bestehen, wohingegen ab pCa 5,5 Kraftwerte in Gruppe A langsamer ansteigen und im Vergleich zu Gruppe B signifikant niedrigere Maximalkraftwerte erreichen. (**Abbildung 18**)

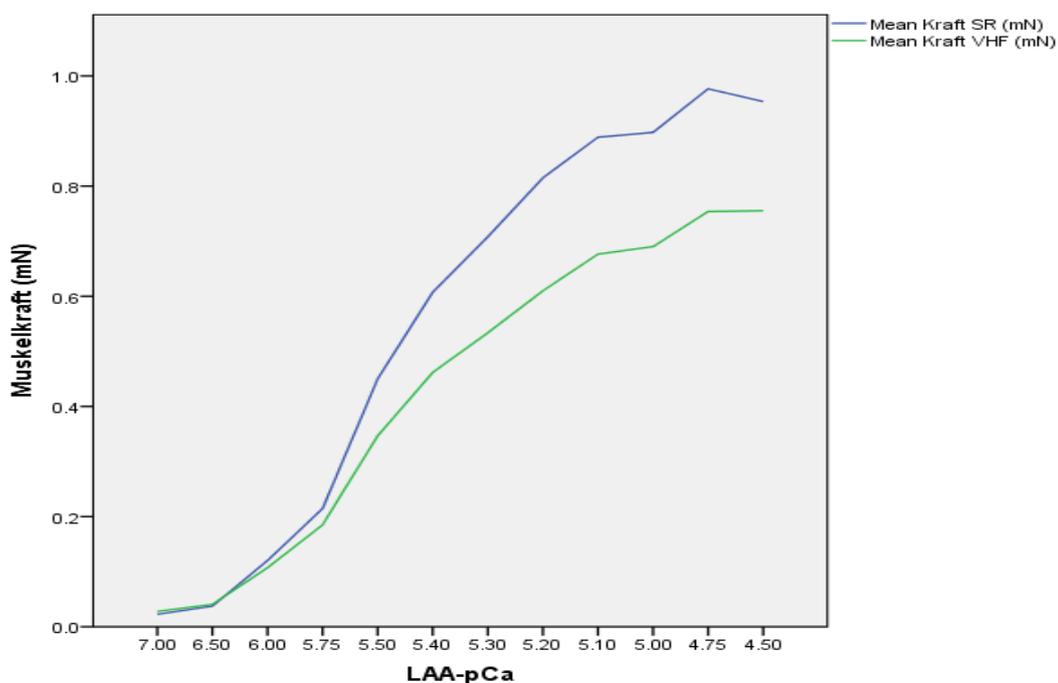


Abbildung 18: Entwickelte LAA-Kraft in Gruppe A (grün) im Vergleich zur Gruppe B (blau) bei steigenden Kalziumkonzentrationen. Ab pCa 5,5 sind die LAA-Kraftwerte in Gruppe A signifikant niedriger vergleichend mit Gruppe B.

Ein ähnliches, jedoch weniger ausgeprägtes Phänomen wurde bei den rechten Vorhofmyofilamenten beobachtet. In der folgenden Grafik wurden die RAA-Kraftwerte von pCa 7,0 bis pCa 4,52 in beiden Gruppen dargestellt. (**Abbildung 19**)

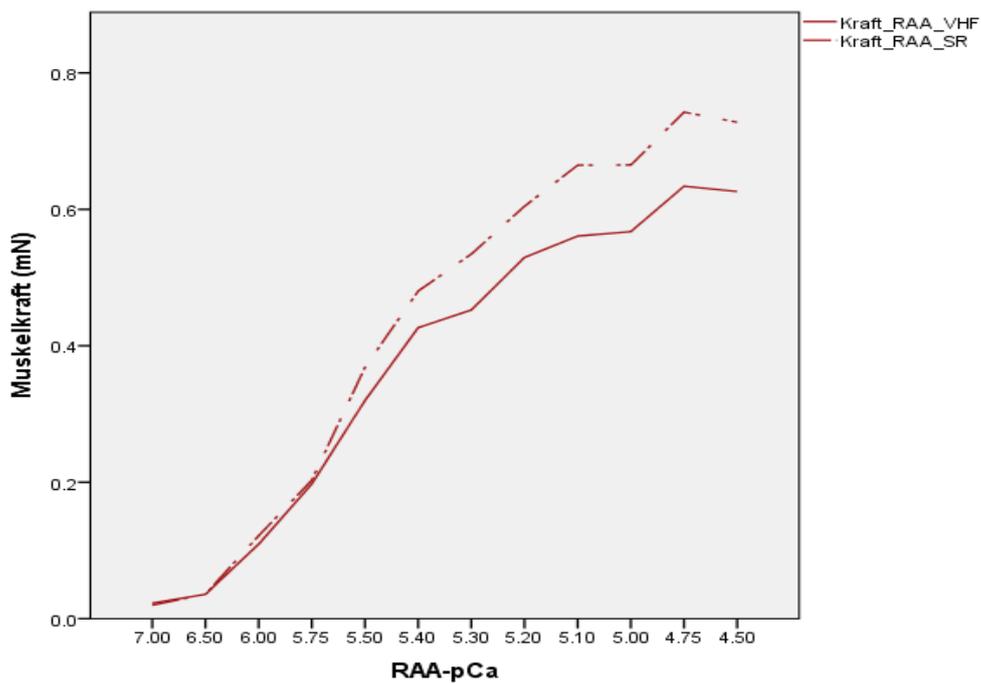


Abbildung 19: Entwickelte RAA-Kraft in Gruppe A (postop VHF) im Vergleich zur Gruppe B-postop SR (unterbrochene Linie) bei steigenden Calciumkonzentrationen. Ab pCa 4,75 sind die RAA-Kraftwerte in Gruppe A signifikant niedriger gegenüber Gruppe B.

### 3.7 Ergebnis der Regressionsanalyse

Parameter, die sich in der univariaten Analyse als statistisch signifikant dargestellt haben, wurden in die multivariable Analyse eingeschlossen.

Die multivariable Analyse ergab folgende Parameter als unabhängige Prädiktoren für neu aufgetretenes VHF nach elektiver Myokardrevascularisation unter HLM: LAA-Kraftwert bei pCa 5,5 ( $p = 0,033$ ), LA-Fläche ( $p = 0,013$ ), RA-Fläche ( $p = 0,081$ ) TAPSE ( $p = 0,010$ ) und fortgeschrittenes Alter ( $p = 0,033$ ) **(Tabelle 7)**.

Die intrahospitale Letalität war null. Neu aufgetretenes postoperatives VHF trat bei 7 (18%) Patienten am ersten postoperativen Tag auf, bei 15 Patienten (40%) am zweiten Tag, bei 13 Patienten (35%) am vierten Tag und bei 3 Patienten (7%) am fünften Tag. Patienten mit postoperativem VHF hatten einen längeren stationären Aufenthalt, jedoch war der Unterschied statistisch nicht relevant ( $13.23 \pm 3$  vs.  $10.87 \pm 2$ ).

	Odds Ratio	95% CI		p
		Lower	Upper	
LAA 5.5				0.033
LAA 5.5 (1)	0.01	0.01	1.577	0.101
LAA 5.5 (2)	12.00	1.32	108.98	0.027
LAA 5.5 (3)	0.38	0.03	4.518	0.444
LA Fläche				0.013
LA Fläche (1)	0.19	0.01	6.39	0.360
LA Fläche (2)	0.24	0.01	7.10	0.413
LA Fläche (3)	5.63	0.30	103.75	0.244
RA Fläche				0.081
RA Fläche (1)	0.00	0.00		0.997
RA Fläche (2)	72.00	2.43	2129.03	0.013
RA Fläche (3)	88.04	2.77	2794.28	0.011
TAPSE				0.010
TAPSE (1)	112.67	4.33	2929.09	0.004
TAPSE (2)	2.29	0.13	38.57	0.565
TAPSE (3)	5.87	0.24	139.31	0,273
Alter				0.033
Alter (1)	0,28	0.23	3.55	0.329
Alter (2)	11.54	1.11	119.87	0.040
Alter (3)	7.712	0.59	100.25	0.119

Tabelle 7: Independente Prädiktoren für postoperatives VHF.

## 4 Diskussionen

Unsere Studie zeigt, dass die Muskelkontraktionskraft im linken und im rechten Vorhof bei Patienten, die nach einer aortokoronaren Bypassoperation ein neu aufgetretenes Vorhofflimmern entwickeln, signifikant reduziert ist.

Mehrere Studien haben gezeigt, dass Vorhofflimmern die Vorhofkontraktilität negativ beeinflusst (44,56,145,146). Die reduzierte Kontraktilität der Vorhöfe oder der Ventrikel bei Patienten mit Vorhofflimmern wurde jedoch histologisch und sonographisch ausschließlich für chronisches oder persistierendes Vorhofflimmern nachgewiesen (45,46,145,146). So wird in der Studie vom Ross Agner et al. gezeigt, dass die linksventrikuläre systolische Funktion, unabhängig von anderen Parametern, bei VHF-Patienten im Vergleich zu den SR-Patienten reduziert ist. (46) In seiner Studie wurden sowohl Patienten mit normalem LVEF als auch mit reduziertem LVEF eingeschlossen und global longitudinal strain (GLS), als Parameter der linksventrikulären Kontraktion, wurde gemessen. GLS war bei Patienten mit Vorhofflimmern im Vergleich zu Patienten mit SR signifikant beeinträchtigt, sowohl in der Gesamtbevölkerung als auch bei Patienten mit normalem LVEF und bei Patienten mit reduziertem LVEF. Auch Belus et al. zeigten in ihrer Studie, dass Patienten mit VHF eine kontraktile Dysfunktion aufweisen. (44)

Andere Forschungsarbeiten (56,145,146) fokussierten auf die Aufarbeitung der pathophysiologischen Mechanismen, die bei Patienten mit Vorhofflimmern zu einer Abnahme der Myokardkontraktilität führte. Schotten et al. (145) untersuchten menschliches Gewebe vom rechten Vorhof von Patienten die sich einer Mitralklappen-Operation unterzogen ließen und zeigte, dass eine Dysfunktion der L-Typ Kalziumkanäle für die schlechtere Kontraktilität verantwortlich ist und, dass der kontraktile Apparat auch nach chronischem VHF fast vollständig erhalten bleibt. In einer weiteren Studie (146) vom Schotten wurde erneut nachgewiesen, dass die atriale kontraktile Dysfunktion bei Patienten mit VHF auf eine Herunterregulierung oder eine veränderte Funktion

der L-Typ Kalziumkanäle zurückzuführen ist. Zusätzlich demonstrierte er, dass der  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher in den Vorhöfen von VHF-Patienten hochreguliert war.

Auch wir haben beobachtet, dass die experimentell untersuchten Kraftwerte der rechts- und links-atrialen Muskelfasern signifikant reduziert bei POAF Patienten waren. Jedoch konnten wir dies bei POAF nachweisen, während in der Literatur permanentes VHF untersucht wurde. (145,146)

Hinzu kommt, dass wir Gewebe vom rechten und linken Vorhof separat untersucht haben. Frühere Beobachtungen unterschieden nicht zwischen linkem und rechtem Vorhofgewebe. Belus et al. bemerkten eine signifikante Abnahme der maximalen Spannungsrate, der passiven Spannung und eine erhöhte Kalziumsensitivität bei chronischem Vorhofflimmern (44). Dies sei durch translationale und posttranslationale Veränderungen multipler Myofilamentproteine bei Patienten mit chronischem VHF erklärbar: die Isoform der langsamen Beta-Myosin-Schwerkette war in der VHF Gruppe hochreguliert, die Phosphorylierung mehrerer Myofilamentproteine war bei VHF-Patienten im Vergleich SR Patienten erhöht.

Andere Studien zeigten vergleichbare Ergebnisse bei chronischem Vorhofflimmern, meist mit kleinen Stichproben und entweder im rechten oder im linken Vorhofgewebe, jedoch nicht in beiden (45,46). Wir haben eine signifikante Verringerung der Kraftwerte sowohl von links- als auch von rechtsatrialen Myofilamenten bei Patienten mit POAF beobachtet.

Weiterhin haben wir beobachtet, dass postoperatives Vorhofflimmern eine signifikant höhere Beeinträchtigung der Muskelkraft im linken Vorhof im Vergleich zum rechten Vorhof verursachte. Die rechtsatrialen Kraftwerte bei Patienten mit postoperativem Vorhofflimmern waren nur bei hohen Kalziumkonzentrationen (pCa 5,0 bis pCa 4,52) signifikant unterschiedlich, während die linksatrialen Kraftwerte bei den Patienten mit postoperativem VHF bereits bei physiologischen Kalziumkonzentrationen signifikant niedriger im Vergleich zu den Kraftwerten in der SR-Gruppe waren.

Diese Daten deuten darauf hin, dass die strukturellen Veränderungen der Myofilamente im linken Vorhof stärker ausgeprägt sind. Dies könnte durch die unterschiedlichen Druckverhältnisse im rechten Herz erklärbar sein.

Auch Studien, die ein biatriales elektroanatomisches Mapping durchgeführt haben, konnten zeigen, dass die globale unipolare Spannung im LA im Vergleich zur RA signifikant höher war und die Leitungsgeschwindigkeit im RA im Vergleich zur LA signifikant langsamer war. (147)

Unterschiede zwischen linkem und rechtem Vorhof bei Patienten mit VHF wurden auch in der Studie von Matejkova et al. nachgewiesen. (148) Dabei wurden 100 Herzen von Patienten postmortem histologisch untersucht- 54 mit VHF und 46 mit SR in der Vorgeschichte. Die Patienten mit VHF hatten ein signifikant schwereres Herz, ein größeres LA und ein stärker vernarbtes Myokard des linken Vorhofs und des Vorhofseptums sowie schwerere Amyloidose in beiden Vorhöfen. Der Schweregrad der Amyloidose war im linken Vorhof höher als im rechten Vorhof. Der von Fibrose und Amyloidose am stärksten betroffene Bereich war die linksatriale Vorderwand. (148)

Weiterhin haben wir zahlreiche Biomarker für Entzündung und Fibrose und die Assoziation mit POAF untersucht. Biomarker wie Pentraxin 3, TIMP-1, MMP9, hsCRP, TGF $\beta$ , Galectin-3, GDF-15 und den Einfluss auf das Auftreten vom VHF wurden mit gemischten Ergebnissen bisher untersucht (149-152).

Der Einfluss von Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und von TIMPs (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases) auf das atriale Remodeling und Auftreten oder die Aufrechterhaltung vom postoperativen VHF nach Herzoperation wird kontrovers diskutiert. MMP-9 sind Proteine, die von Neutrophilen, Endothelzellen, Macrophagen oder Fibroblasten produziert werden und eine entscheidende Rolle für den Gewebeumbau, insbesondere für die extrazelluläre Matrix (ECM) spielen. (109,110)

TIMPs (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases) sind Proteine, deren Synthese durch proinflammatorische Cytokine (z.B. IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$ ), TGF- $\beta$ 1 induziert wird (112,116) und die, die Aktivität von Metalloproteinasen regulieren.

(112) Somit führt, laut mehreren Studien, ein Ungleichgewicht zwischen der Aktivität von MMPs, insbesondere MMP-9, und der Aktivität von TIMPs zu einem Vorhof-Remodeling mit darauffolgender akzentuierter Anfälligkeit für Vorhofflimmern. (117,118, 119, 121,122)

Lewkowicz et al. (153) zeigten, dass die Konzentrationen von MMP-9 bei Patienten mit permanentem VHF im Vergleich zu Kontrollen signifikant höher waren. TIMP-1 Werte unterschieden sich in seiner Studie zwischen den Gruppen (VHF vs. SR) nicht signifikant. Li et al. zeigten ebenfalls, dass MMP-9-Plasmakonzentrationen in den VHF-Gruppen signifikant höher im Vergleich zu der Kontrollgruppe waren (154). Diese Ergebnisse bestätigen also, dass ein Imbalance zwischen der extrazellulären Matrixsynthese und des Matrixabbaus besteht und dadurch ein Remodeling der Vorhöfe bei VHF-Patienten entsteht.

Auf der anderen Seite waren in der Studie vom Stanciu et al. erhöhte TIMP-1-Plasmaspiegel mit dem Auftreten vom VHF assoziiert (155). In unserer Studie waren die MMP-9-Werte in Gruppe A (postop. VHF) signifikant niedriger im Vergleich zu der Gruppe B (Gruppe A  $724.4 \pm 325$  pg/ml vs. Gruppe B  $875.68 \pm 375.78$ ), Mann-Whitney-U-Test,  $p=0.029$ . Ferner fanden wir in Gruppe A eine Tendenz für höhere TIMP-1-Werte (Gruppe A:  $175,1$  ng/ml  $\pm 55$  vs. Gruppe B:  $164,7$  ng/ml  $\pm 37,35$ , Mann-Whitney-U-Test:  $p=0.437$ ).

Die erhöhten TIMP-1 Werte in Gruppe A, als endogene Proteinregulatoren der Matrix-Metalloproteinase, die die MMPs hemmen, könnten die niedrigeren MMP-9-Plasmawerte erklären. Die Wichtigkeit dieser Beobachtungen besteht letztendlich darin, dass die Steuerung der Expression und Aktivität von MMPs und TIMPs ein potenzielles zukünftiges therapeutisches Ziel für Vorhofflimmern sein könnte.

Galectin-3 (Gal-3) ist ein  $\beta$ -Galactosid-Bindungslektin und wird von Makrophagen und Fibroblasten produziert (156). Es stimuliert die Freisetzung von TGF- $\beta$  und fördert die Kollagenablagerung und Proliferation von Fibroblasten im Herzgewebe (156). Mehrere Studien zeigten, dass hohe zirkulierende Gal-3-Serumkonzentrationen mit atrialem Remodeling und dadurch mit einem erhöhten Risiko fürs Auftreten vom Vorhofflimmern verbunden sind (157,158), wobei in der

Studie vom Ho et al. (157) war diese Assoziation nicht mehr statistisch relevant, nachdem die koronare Herzkrankheit und die Herzinsuffizienz als zeitabhängige Variablen berücksichtigt wurden. Außerdem, wurde Galectin-3 mit einer erhöhten Rezidivrate des Vorhofflimmerns nach Ablation assoziiert (159).

Unsere Ergebnisse zeigen einen ähnlichen Trend, wobei die Werte statistisch nicht signifikant unterschiedlich waren: Gruppe A (postoperativ neu aufgetretenes VHF) 10,3 pg/ml vs. Gruppe B 9,67 pg/ml,  $p=0,373$ . Diese Beobachtungen bestätigen also die oben erwähnten Ergebnisse (157,159) und könnten darauf hinweisen, dass erhöhte Galectin-3 Werte ein Zeichen für eine vermehrte Kollagenbildung sind. Kollagenablagerungen führen wiederum zum atrialen Remodeling und könnten dadurch das Substrat für POAF sein.

Auch eine Korrelation zwischen GDF-15-Serumspiegel, als Marker für inflammatorische Prozesse im Vorhofgewebe, und Vorhofflimmern wurde in mehreren Studien nachgewiesen. (101,152,160). Shao et al. (101) haben die Korrelation zwischen nichtvalvulärem VHF und GDF-15 untersucht und gezeigt, dass Patienten mit VHF signifikant höhere GDF-15-Serumkonzentrationen im Vergleich zu der Kontrollgruppe hatten. Zusätzlich war GDF-15 in ihrer Studie bei der multivariablen Analyse ein unabhängiger Prädiktor für paroxysmales VHF. Im Gegensatz dazu zeigte Bouchot in seiner Studie 2015 (152), dass ein niedriger präoperativer GDF-15 Wert ein unabhängiger Prädiktor für POAF war, wobei in seiner Studie die Hälfte der Patienten (50 Patienten) in off-Pump-Technik operiert wurden. Unsere Studie hat signifikant höhere Werte für GDF-15 bei Patienten mit POAF gezeigt (Gruppe A:  $1277.69 \pm 594.72$  pg/ml vs. GDF-15 Gruppe B:  $1010.64 \pm 08.79$  pg/ml,  $p= 0.001$ ). GDF-15 war aber in der binären logistischen Analyse kein signifikanter Prädiktor für postoperatives VHF. Damit stehen unsere Ergebnisse in Einklang mit den Daten aus der Literatur.

Ein weiterer mit VHF assoziierter Biomarker ist TGF- $\beta$ 1 (Transforming growth factor  $\beta$ 1). TGF- $\beta$ 1 spielt eine wichtige Rolle bei der Bildung der extrazellulären Matrix (ECM) (102) und beeinflusst die Immunaktivität durch Induktion von Antikörperproduktion und Regulierung der Entzündungsreaktionen (103-106).

TGF- $\beta$ 1 wurde initial im Tiermodell mit Vorhoffibrose und Vorhofflimmern in Verbindung gebracht. (107) Lin et al. untersuchten in ihrer Studie Patienten mit Vorhofflimmern infolge essentieller Hypertonie und zeigten bei diesen Patienten einen erhöhten TGF- $\beta$ 1-Spiegel (108). Eine andere prospektive Studie mit 1538 Patienten zeigte, dass zirkulierende TGF- $\beta$ 1-Spiegel keinen klaren Zusammenhang mit dem Auftreten vom VHF haben. (161) Ebenso waren die TGF- $\beta$ 1 Serumkonzentrationen in unserer Studie zwischen den zwei Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (Gruppe A:  $22.61 \pm 7.62$  pg/ml vs. Gruppe B:  $32.94 \pm 8.66$  pg/ml, Mann-Whitney-U-Test  $p= 0.17$ ). Darüber hinaus zeigte Gruppe B (SR) sogar höhere TGF- $\beta$ 1 Werte im Vergleich zur Gruppe A (postop. VHF). Eine mögliche Erklärung dafür könnte sich auf den spezifischen Zeitpunkt des zirkulierenden TGF- $\beta$ 1 innerhalb des fibrotischen Prozesses beziehen. So haben zum Beispiel Kim et al. in einer Studie bei Patienten mit Vorhofflimmern gezeigt, dass höhere TGF-  $\beta$ 1 Werte vor der Kardioversion mit dem Rezidiv des Vorhofflimmerns assoziiert sind. (162). Ebenso konnte eine Studie mit 86 Patienten, die im Rahmen einer Herzoperation für Klappenrekonstruktion bzw. Klappenersatz auch eine Maze-Prozedur (Kryoablation) bekommen haben, zeigen, dass präoperativ hohe TGF-  $\beta$ 1 Werte prädiktiv für die Persistenz des Vorhofflimmerns ein Jahr nach der Operation sind. (163). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass erhöhte TGF-  $\beta$ 1 Werte im Serum eher in fortgeschrittenen Stadien der Fibrose bei Patienten mit Vorhofflimmern wichtig sind.

Ferner haben wir Serumwerte von CRP und Pentraxin-3 als Marker für Inflammation und atriales Remodeling bei unseren Patienten gemessen. In der Studie von Lo et al. hatten Patienten mit erhöhtem CRP-Serumspiegel nach einer chirurgischen Myokardrevaskularisation ein höheres Risiko für postoperatives VHF in beiden Gruppen (On-Pump vs. Off-Pump Operationen) (164). Jedoch konnten Ahlsson et al. keine Korrelation zwischen CRP-Spiegel und POAF bei Patienten nach herzchirurgischen Eingriffen beobachten (165). Unsere Studie zeigte, ähnlich wie die Studie von Ahlsson (165), dass Basiswerte von hsCRP nicht signifikant mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten vom VHF verbunden waren.

Auch Masson et al. untersuchte 382 Patienten mit erhaltener Pumpfunktion und mit VHF in der Vorgeschichte, die aber zum Beginn der Studie im Sinusrhythmus waren. Basiswerte von hsCRP und PTX-3 waren nicht signifikant mit einem VHF-Rezidiv verbunden. Allerdings zeigten sich die PTX3-Werte nach 6 Monaten und nach einem Jahr bei Patienten mit Rezidiv-VHF signifikant erhöht (166).

Ferner zeigten Holubcova et al. (150), dass der Pentraxin-3-Serumspiegel nach einer Herz-Operation höher bei Patienten mit präoperativem VHF war, während zwischen der POAF-Gruppe und der SR-Gruppe kein signifikanter Unterschied war. In dieser Studie wurden allerdings nur 42 Patienten eingeschlossen und es bestand eine nennenswerte Heterogenität an Herzoperationen (Bypass und Klappenoperationen). Zudem wurde bei den Patienten mit präoperativem VHF auch eine MAZE-Prozedur durchgeführt. Dies könnte eine Erklärung dafür sein warum unsere Studie unterschiedliche Ergebnisse im Vergleich zu der o.g. Studie gezeigt hat: die präoperativen Pentraxin-3 Serumwerte bei unseren Patienten waren signifikant höher in Gruppe B (SR) im Vergleich zur Gruppe A (POAF) (Gruppe A: 2419 pg/ml vs. Gruppe B: 3135 pg/ml,  $p=0.04$ ). Pentraxin 3 war in der binären logistischen Analyse allerdings kein signifikanter prädiktiver Faktor für POAF. Das ist ein wichtiges Ergebnis, weil bisher Pentraxin 3 nur in kleinen Patientenzahlen bei POAF Patienten nachgewiesen wurde.

Auch das NT-proBNP wurde als möglicher Biomarker für Vorhofflimmern untersucht. (151, 172) Patton et al. (Cardiovascular Health Study) zeigte in einer großen prospektiven Studie mit 5021 Patienten, dass NT-proBNP nicht nur bei VHF Patienten als Zeichen für eine Herzinsuffizienz signifikant erhöht ist, sondern auch ein Biomarker für das Auftreten vom Vorhofflimmern ist (151). Eine genaue Erklärung oder ein pathophysiologischer Mechanismus dafür sind noch unklar. (151) Unsere Ergebnisse haben die Daten in der Literatur bestätigt und haben signifikant höhere präoperative NT-proBNP Werte bei den Patienten mit postoperativ neu aufgetretenem VHF gezeigt (Gruppe A  $1867.47 \pm 120.4$  pg/ml vs. Gruppe B  $1407.38 \pm 418$  pg/ml,  $p= 0.0001$ ). NT-pro-BNP war jedoch in der binären logistischen Analyse kein signifikanter Prädiktor für postoperatives VHF.

Der Zusammenhang zwischen der Größe des linken Vorhofs und dem Auftreten vom Vorhofflimmern wurde bereits intensiv untersucht (167), und erst kürzlich auch als potenzieller Prädiktor für das Auftreten vom postoperativen VHF identifiziert (24,169,170). Diese Studien unterstützten unsere Beobachtung einer vergrößerten linken Vorhoffläche bei Patienten, die postoperativ VHF entwickelten (LA-Fläche Gruppe A  $27.88 \text{ cm}^2 \pm 7.21$  vs. Gruppe B  $19.46 \text{ cm}^2 \pm 4.97$ ; T-Test **p=0.0001**).

Ebenso war der Unterschied in der RA-Fläche zwischen Patienten mit postoperativem SR und Patienten mit postoperativem VHF in unserer Studie signifikant ( $21.84 \text{ cm}^2 \pm 8.76$  in Gruppe A vs.  $15.13 \text{ cm}^2 \pm 4.16$  in Gruppe B, T-Test:  $p=0.0001$ ). Das bestätigt die aktuelle Studienlage. (171) Wen et al zeigten, dass ein RA-Diameter über 35,5 mm bei Patienten mit paroxysmalem Vorhofflimmern und gleichzeitiger LA-Dilatation mit einem VHF-Rezidiv nach Ablation assoziiert ist. Hingegen ist ein RA-Diameter unter 35,5 mm 2 Jahren nach einer Ablation mit einem guten Outcome, im Sinne von Sinusrhythmus assoziiert. (171) Ähnliche Daten zeigte die Studie von Magne et al. Dabei wurden 169 Patienten im Sinusrhythmus, die sich einer Bypass-Operation unterzogen, eingeschlossen. Patienten mit POAF hatten signifikant höhere NT-proBNP Werte, LA-Volumina und RA-Flächen. (172)

Das Vorhandensein und der Schweregrad der diastolischen Dysfunktion wurden auch mit einem höheren Risiko für das Auftreten von nicht valvulärem Vorhofflimmern verbunden (170). Die diastolische Dysfunktion als Risiko für POAF wurde allerdings in wenigeren Studien untersucht. Barbara et al. haben in einer Studie mit 223 Patienten präoperative echokardiographische Untersuchungen bei Patienten, die unterschiedlichen Herz-Operationen unterzogen wurden, durchgeführt. (173) Dabei wurde bei der univariaten Analyse gezeigt, dass folgende Parameter prädiktiv für POAF waren: fortgeschrittenes Alter, arterielle Hypertonie, männliches Geschlecht, Mitralklappenersatz oder Mitralklappenrekonstruktion, erhöhter systolischer pulmonal-arterieller Druck, diastolische Dysfunktion, verringertes mediales  $e'$ , erhöhtes mediales  $E/e'$  und erhöhtes LA-Volumen. Bei der multivariaten Analyse waren allerdings nur noch fortgeschrittenes Alter, erhöhter systolischer pulmonal-arterieller Druck und

erhöhtes LA-Volumen Prädiktoren für POAF. Auch nach Ausschluss der Patienten mit HOCM (hypertrophic obstructive cardiomyopathy) und Mitralklappen-Operationen war die diastolische Dysfunktion bei der multivariaten Analyse kein Prädiktor für POAF. (173) Auch unsere Studie zeigte keinen signifikanten Unterschied bei dem Vergleich der Parameter für die diastolische Dysfunktion. Gruppe A zeigte zwar eine Tendenz für höhere E/A-Werte (Gruppe A  $1.85 \pm 0.20$  vs. Gruppe B  $1.06 \pm 0.16$ ,  $p=0.07$ ) sowie für E/ Lat E'-Werte (Gruppe A  $9.21 \pm 5.0$  vs. Gruppe B  $8.64 \pm 4.18$ ,  $p=0.04$ ), jedoch gab es keinen signifikanten Unterschied. Ebenso war der Unterschied zwischen den zwei Gruppen in den sPAP-Werten nicht signifikant (Gruppe A  $33 \pm 11$  vs. Gruppe B  $30 \pm 10$ ,  $p=0.4$ ).

TAPSE, als Maß für die rechtsventrikuläre systolische Funktion, war signifikant niedriger in Gruppe A (POAF) im Vergleich zu Patienten mit SR. Diese Beobachtung kommt als Bestärkung der bisherigen Studienlage (174). Gorter et al. haben in ihrer Studie die Patienten in 3 Gruppen eingeteilt: Patienten mit Sinusrhythmus, Patienten mit paroxysmalem Vorhofflimmern aber im Sinusrhythmus bei Aufnahme und Patienten mit permanentem Vorhofflimmern. Sie zeigten, dass die Prävalenz der rechtsventrikulären Dysfunktion (definiert als mindestens 2 Parameter unter den normalen Werten: TAPSE, TAPSE/sPAP ratio, RV Tei Index, FAC- RV fractional area change) signifikant unterschiedlich unter den 3 Gruppen war. Ferner waren alle Parameter der rechtsventrikulären Funktion zwischen Patienten mit VHF und Patienten mit SR signifikant unterschiedlich. (174)

Dies erscheint logisch, weil VHF und rechtsventrikuläre Dysfunktion häufig bei einer Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion koexistieren, und VHF stark mit einer verringerten rechtsatrialen und rechtsventrikulären Funktion assoziiert ist (175).

Die Tatsache, dass das Alter der stärkste Prädiktor für VHF ist, ist bekannt (7,9,13,22,24). Mehrere Studien haben gezeigt, dass bei Patienten mit fortgeschrittenem Alter Veränderungen des Vorhofgewebes durch systemische Entzündung (31,36,37,39,152) und Fibrose (47,78,107,160) entstehen, die zu einer erhöhten Suszeptibilität für Vorhofflimmern führen. Die starke Assoziation

zwischen VHF und Alter ist also durch das altersbedingte fibrotische Remodeling erklärbar (176) und wird durch unsere Ergebnisse auch bestätigt (SR-Gruppe:  $67.53 \pm 9.81$  vs. POAF-Gruppe:  $73.05 \pm 7.4$ ,  $p=0.001$ ). Das fortgeschrittene Alter ist in den Studien ein wichtiger Prädiktor nicht nur für POAF, sondern auch für das Auftreten vom VHF im Allgemeinen. (177)

Bezüglich der Nierenfunktion, ist nicht nur eine terminale Niereninsuffizienz mit einer erhöhten Mortalität und Morbidität verbunden (178), sondern auch beginnende Stadien einer Niereninsuffizienz sind ein wichtiger Risikofaktor für Herzerkrankungen (178,179). Unsere Studienergebnisse belegen diese Beobachtungen und zeigen eine signifikant eingeschränkte Nierenfunktion bei Patienten mit POAF (Creatinin-Wert in Gruppe A  $1,36 \text{ mg/dL} \pm 0,14$  vs. Gruppe B  $1,09 \text{ mg/dL} \pm 0,47$ ,  **$p = 0.03$** ). Dies wurde auch durch Vidotti et al. in einer Studie mit 280 Patienten nach Bypass-Operation in off-pump Technik gezeigt. Dabei war die chronische Niereninsuffizienz ein unabhängiger Prädiktor für POAF. (180) Ebenso identifizierte Perrier in einer großen prospektiven Studie mit 1481 Patienten nach kardiopulmonalem Bypass mehrere unabhängige Prädiktoren für POAF: Chronische Niereninsuffizienz, CHA2DS2-VASc-Score, Adipositas, präoperative Gabe von  $\beta$ -Blockern und Thrombozytenaggregationshemmern. (181)

In Bezug auf die intraoperativen Daten, sind sowohl die Cross-Clamping-Zeit als auch die HLM-Zeit wichtige prognostische Faktoren für Mortalität und Morbidität nach Aorto-Coronarer-Bypass Operation (182). Ruggieri zeigte, dass eine Cross-Clamping-Zeit über 75 Minuten nicht nur mit einer erhöhten Mortalität, sondern auch mit POAF, Gabe von Katecholaminen, Einsatz von intra-aortalen Ballonpumpen und extrakorporaler Membranoxygenierung assoziiert ist. (182)

In unserer Studie, ähnlich wie in der Studie von Ismail et al. (22) gab es jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Gruppen in Bezug auf die HLM-Zeit (SR:  $104 \pm 35$  vs. VHF:  $114 \pm 41$ ,  $p=0.08$ ) oder Cross-Clamping-Zeit (SR:  $76 \pm 29$  vs. VHF  $82 \pm 23$ ,  $p=0.2$ ).

LaPar et al. konnten zeigen, dass Patienten mit postoperativem Vorhofflimmern eine höhere Verweildauer, einen längeren Aufenthalt auf Intensivstation und

höhere Gesamtkosten des Krankenhausaufenthalts (183). Diese Ergebnisse wurden von unserer Studie nicht bestätigt. Patienten mit postoperativem VHF hatten einen längeren stationären Aufenthalt, jedoch war der Unterschied statistisch nicht relevant ( $13.23 \pm 3$  vs.  $10.87 \pm 2$ ).

Schlussendlich zeigte unsere binär logistische Regressionsanalyse, dass die LA-Fläche, das Alter und TAPSE unabhängig mit der Entwicklung vom postoperativen VHF assoziiert sind. Dennoch zeigten beide Patientengruppen normale Ejektionsfraktionen. Aus klinischer Sicht ist die Berücksichtigung echokardiographischer Parameter wie LA-Fläche oder TAPSE bei Patienten, die sich einer elektiven Bypass-Operation unterziehen von erheblicher Bedeutung. Interessanterweise haben wir auch einen experimentellen Parameter identifiziert, der in der Lage ist, das Auftreten vom POAF unabhängig vorherzusagen: Der LAA-Kraftwert bei pCa 5.5, der bei Patienten mit POAF signifikant verringert war. Bemerkenswert ist, dass dieser Wert einer relativ niedrigen Calciumkonzentration entspricht, die einen Basiszustand des Myofilaments darstellt. Dies wurde bisher in der Literatur nicht beschrieben.

---

## 4.1 Limitationen

Einige Einschränkungen dieser Studie müssen berücksichtigt werden. Zunächst wurden 286 elektive CABG-Patienten in unsere Studie einbezogen, es konnten aber nur 229 Patienten mit vollständigen klinischen und experimentellen Datensätzen eingeschlossen werden. Die Gründe hierfür waren: intraoperative Kontraindikationen für eine Vorhofresektion, wie zerbrechliches Gewebe (n = 19), unvollständige Daten (n = 20), widerrufenen Einwilligung (n = 3) oder technische Probleme bei der Aufarbeitung des Gewebes während des Experiments (n = 13). Obwohl vollständige medizinische Anamnesen erhoben wurden, können sporadische VHF-Vorfälle bei diesen Patienten nicht vollständig ausgeschlossen werden. Ungünstige Einflüsse anderer klinischer Parameter wie die höhere Prävalenz der arteriellen Hypertonie in der POAF-Gruppe oder größere Vorhofgrößen sind nicht auszuschließen und können sich auf die Kontraktilitätswerte ausgewirkt haben. Darüber hinaus könnte eine anwenderspezifische Behandlung der Gewebeproben mit einer möglichen Schädigung der Trabekel nicht komplett ausgeschlossen werden, obwohl die Behandlung des Gewebes mit einem hohen Grad an Standardisierung durchgeführt wurde. Einige unserer Ergebnisse stehen im Widerspruch zur aktuellen Literaturdatenlage, wie z. B. erhöhte MMP-9- und Pentraxin-3-Werte in der SR-Gruppe, und müssen in einer größeren Patientenkohorte neu bewertet werden.

Obwohl diese Studie bisher zu den größten gehört, sind weitere Studien notwendig, um unsere Ergebnisse zu bestätigen. Unsere ersten Beobachtungen könnten als Katalysator für zukünftige randomisierte prospektive Studien dienen, die unsere Hypothese überprüfen.

## 5 Zusammenfassung

Das postoperativ neu aufgetretene Vorhofflimmern (POAF) ist die häufigste Herzrhythmusstörung nach einer Herzoperation und mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität verbunden. Das Ziel der Studie war fibrotische und inflammatorische Biomarker sowie die kalziuminduzierte Kontraktionskraft im linken und rechten Vorhof als Prädiktoren für POAF zu bewerten.

Von den 229 eingeschlossenen Patienten im Sinusrhythmus, die sich einer elektiven Herzbypass-Operation unterzogen haben entwickelten 38 Patienten ein POAF. Klinische und laborchemische Daten sowie echokardiographische Befunde wurden erhoben und kalziuminduzierte Kraftmessungen von geschnittenen linken und rechten atrialen Muskelfasern durchgeführt.

Patienten mit POAF waren älter, hatten signifikant größere LA-Fläche und RA-Fläche, eine höhere Prävalenz der arteriellen Hypertonie und signifikant geringere TAPSE-Werte. Von den getesteten Biomarkern für Fibrose und Entzündung waren MMP-9 und Pentraxin-3 signifikant verringert und NT-Pro-BNP und GDF-15 signifikant erhöht.

Patienten mit POAF hatten zusätzlich signifikant niedrigere LA-Kraftwerte (pCa 5,5 bis 4,52;  $p < 0,04$ ) und RA-Kraftwerte (pCa 5,0 bis pCa 4,52;  $p < 0,04$ ). Die univariate Analyse ergab den LA-Kraftwert bei pCa 5,5 ( $p = 0,033$ ), das fortgeschrittene Alter ( $p = 0,033$ ), die LA-Fläche ( $p = 0,013$ ), die RA-Fläche ( $p = 0,081$ ) und das TAPSE ( $p = 0,01$ ) als unabhängige Prädiktoren für POAF.

Die Berücksichtigung dieser Parameter könnte die Identifizierung und Risikostratifizierung von Patienten mit POAF-Risiko unterstützen.

## 5.1 Publikation:

### **Atrial contractility and fibrotic biomarkers are associated with atrial fibrillation after elective coronary artery bypass grafting.**

Bening C, **Mazalu EA**, Yaqub J, Alhussini K, Glanowski M, Kottmann T, Leyh R. J Thorac Cardiovasc Surg. 2019 Feb 28.

Mein Eigenanteil an der Publikation erstreckt sich auf die Rekrutierung und Aufklärung der Patienten und Untersuchung der Patienten sowie Prä- und postoperative Blutentnahme (gemeinsam mit Herrn Jonathan Yaqub, Khaled Alhussini, Dr. med. Glanowski Michal) sowie auf die Datengewinnung und einen Teil der Datenauswertung (gemeinsam mit Frau PD Dr. med. Constanze Bening). Ebenso war ich an der Diskussion der Ergebnisse beteiligt. Bei der statistischen Auswertung erfolgte zusätzlich die Unterstützung durch Frau Dr. med. Kottmann.

Zusätzlich nahm ich bei ca. 30% der Patienten zusammen mit den Mitarbeitern des experimentellen Labors der Herzchirurgie an die Aufarbeitung der Herzohren und die Durchführung der Kraftmessungen teil.

Durch Herrn Prof. Dr. med. Leyh erfolgte die umfassende Korrektur.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Lip GY, Beevers DG. ABC of atrial fibrillation. History, epidemiology, and importance of atrial fibrillation. *British Medical Journal*. 1995; 311:1361–1363.
2. Brandes A, Smit MD, Nguyen BO, Rienstra M, Van Gelder IC. Risk Factor Management in Atrial Fibrillation. *Arrhythmia & Electrophysiology Review*. 2018; 7: 118–127.
3. Heeringa J , van der Kuip D, Hofman A, Kors JA, van Herpen G et al. Prevalence, Incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: the Rotterdam study. *European Heart Journal*. 2006; 27:949–953.
4. Filardo G, Damiano RJ Jr, Ailawadi G, Thourani VH, Pollock BD, Sass DM et al. Epidemiology of new-onset AF following coronary artery bypass graft surgery. *Heart*. 2018; 10:985-992.
5. Filardo G, Ailawadi G, Pollock BD, da Graca B, Sass DM, Phan TK et al. Sex Differences in the Epidemiology of New-Onset In-Hospital Post-Coronary Artery Bypass Graft Surgery AF: A Large Multicenter Study. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*. 2016; 9:723-730.
6. Pollock BD, Filardo G, da Graca B, Phan TK, Ailawadi G, Thourani V et al. Predicting New-Onset Post-Coronary Artery Bypass Graft AF With Existing Risk Scores. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2018;105:115-121.
7. Rostagno C, La Meir M, Gelsomino S et al. Atrial fibrillation after cardiac surgery: incidence, risk factors, and economic burden. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. 2010; 24:952–958.
8. LaPar JD, Speir AM, Crosby IK, Fonner E, Brown M, Rich JB, Quader M, Kern JA, MD, Kron IL, MD, Ailawadi G. Postoperative Atrial Fibrillation Significantly Increases Mortality, Hospital Readmission, and Hospital Costs. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2014; 98:527–533.
9. Mathew JP, Parks R, Savino JS et al. Atrial fibrillation following coronary artery bypass graft surgery: predictors, outcomes and resource utilization. MultiCenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. *Journal of the American Medical Association*. 1996; 276:300–306.

10. Villareal RP, Hariharan R, Liu BC et al. Postoperative atrial fibrillation and mortality after coronary artery bypass surgery. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004; 43:742–748.
11. Saxena A, Dinh DT, Smith JA, Shardey GC, Reid CM, Newcomb AE. Usefulness of Postoperative Atrial Fibrillation as an Independent Predictor for Worse Early and Late Outcomes After Isolated Coronary Artery Bypass Grafting. *The American Journal of Cardiology*. 2012; 109:219-225.
12. Camm AJ; Lip GY, De Caterina R, Savelieva I, Atar D, Hohnloser SH et al. 2012 Focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation a: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation- developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. *Europace*. 2012; 14:1385-1413.
13. Almassi GH, Schowalter T, Nicolosi AC, Aggarwal A, Moritz TE, Henderson WG, Tarazi R, Shroyer AL, Sethi GK, Grover FL, Hammermeister KE. Atrial fibrillation after cardiac surgery: a major morbid event? *Annals of Surgery*. 1997; 226:501–511.
14. Villareal RP, Hariharan R, Liu BC, Kar B, Lee VV, Elayda M, Lopez JA, Rasekh A, Wilson JM, Massumi A. Postoperative atrial fibrillation and mortality after coronary artery bypass surgery. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004; 43:742–748.
15. Oliveira DC, Ferro CR, Oliveira JB, Prates GJ, Torres A, Egito ES, Arraes MS, Souza LC, Jatene AD, Piegas LS. Postoperative atrial fibrillation following coronary artery bypass graft: clinical factors associated with in-hospital death. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2007; 89:16 –21.
16. Kalavrouziotis D, Buth KJ, Ali IS. The impact of new-onset atrial fibrillation on in-hospital mortality following cardiac surgery. *Chest*. 2007; 131:833– 839.
17. Creswell LL, Schuessler RB, Rosenbloom M, Cox JL. Hazards of postoperative atrial arrhythmias. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1993; 56:539–549.
18. Mathew JP, Fontes ML, Tudor IC, Ramsay J, Duke P, Mazer CD, Barash PG, Hsu PH, Mangano DT et al. A multicenter risk index for atrial fibrillation after

- cardiac surgery. *Journal of the American Medical Association*. 2004; 291:1720–1729.
19. Albahrani MJ, Swaminathan M, Phillips-Bute B, Smith PK, Newman MF, Mathew JP, Stafford-Smith M. Postcardiac surgery complications: association of acute renal dysfunction and atrial fibrillation. *Anesthesia & Analgesia*. 2003; 96:637–643.
  20. Andersson B, Nilsson J, Brandt J, Höglund P, Andersson R. Gastrointestinal complications after cardiac surgery. *British Journal of Surgery*. 2005; 92:326–333.
  21. Omae T, Kanmura Y. Management of postoperative atrial fibrillation. Review Article. *Journal of Anesthesia*. 2012; 26:429–437.
  22. Ismail M, El-mahrouk A, Hamouda TH, Radwan H, Haneef A, Jamjoom AA. Factors influencing postoperative atrial fibrillation in patients undergoing on-pump coronary artery bypass grafting, single center experience. *Journal of Cardiothoracic Surgery*. 2017; 12:40.
  23. Ting PC, Chou AH, Chien-Chia WV, Tsai FC, Chu JJ, Chen CY, Lan TY, Chen SW. Relationship Between Right Ventricular Function and Atrial Fibrillation After Cardiac Surgery. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. 2017; 5:1663-1671.
  24. Rongxin L, Nan M, Zhaolei J, Ju M. Hemodynamic parameters predict the risk of atrial fibrillation after cardiac surgery in adults. *Clinical Cardiology*. 2017; 40: 1100–1104.
  25. Mariscalco G, Engelström KG, Ferrarese S, Cozzi G, Bruno VD et al. Relationship between atrial histopathology and AF after coronary artery bypass surgery. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2006; 13:1364-1372.
  26. Page PL, Hassanalizadeh H, Cardinal R. Transitions among AF, atrial flutter and sinus rhythm during procainamide infusions and vagal stimulation in dogs with sterile pericarditis. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1991; 69:5-24.

27. Sideris DA, Toumanidis ST, Tselepatiotis E, Kostopoulos K, Stringli T, Kitsiou T et al. Atrial pressure and experimental AF. *Pacing and Clinical Electrophysiology*. 1995; 18:1679-1685.
28. Vardas PE, Vemmos K, Sideris DA. Susceptibility of the left and right atria to fibrillation in hyperglycemia and hypoglycemia. *Journal of Electrocardiology*. 1993; 26:147-153.
29. Kazui T, Henn MC, Watanabe Y, Kovacs SJ, Lawrance CP, Greenberg JW et al. The impact of 6 weeks of AF on left atrial and ventricular structure and function. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2015; 150:1602-1608.
30. Wu G, Wang S, Cheng M, Peng B, Liang J, Huang H et al. The serum matrix metalloproteinase-9 level is an independent predictor of recurrence after ablation of persistent AF. *Clinics*. 2016;71:251-260.
31. Narducci ML, Pelargonio G, Rio T, Leo M, Di Monaco A, Musaico F et al. Predictors of postoperative AF in patients with coronary artery disease undergoing cardiopulmonary bypass: a possible role for myocardial ischemia and atrial inflammation. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. 2014; 28:512-519.
32. Adeniran I, MacIver D, Garratt C, Ye J, Hancox J, Zhang H. Effects of Persistent AF-Induced Electrical Remodeling on Atrial Electro-Mechanics – Insights from a 3D Model of the Human Atria. *PLoS ONE*. 2015; 10:1-24.
33. Uijl DW, Cabanelas N, Benito EM, Figueras R, Alarcón F, Borràs R et al. Impact of left atrial volume, sphericity and fibrosis on the outcome of catheter ablation for AF. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2018; 29:740-746.
34. Hansen BJ, Zhao J, Fedorov VV. Fibrosis and AF: Computerized and Optical Mapping; A View into the Human Atria at Submillimeter Resolution. *Journal of the American College of Cardiology: Clinical Electrophysiology*. 2017; 3:531-546.
35. Luo T, Chang CX, Zhou X, Gu SK, Jiang TM, Li YM. Characterization of atrial histopathological and electrophysiological changes in a mouse model of aging. *International Journal of Molecular Medicine*. 2013; 31:138-146.

36. Van Wagoner DR. Oxidative stress and inflammation in AF: role in pathogenesis and potential as a therapeutic target. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2008; 52:306-313.
37. Friedrichs K, Klinke A, Baldus S. Inflammatory pathways underlying AF. *Trends in Molecular Medicine*. 2011; 17:556-563.
38. Goldberger JJ, Arora R, Green D, Greenland P, Lee DC, Lloyd-Jones DM et al. Evaluating the Atrial Myopathy Underlying AF: Identifying the Arrhythmogenic and Thrombogenic Substrate". *Circulation*. 2015; 132:278-291.
39. Engelman M, Svendsen J. Inflammation in the genesis and perpetuation of AF. *European Heart Journal*. 2005; 26:2083-2092.
40. Soeki T, Bando S, Uematsu E, Matsuura T, Niki T, Ise T et al. Pentraxin 3 is a local inflammatory marker in AF. *Heart Vessels*. 2014; 29:653-658.
41. Roldán V, Marín F, Blann AD, García A, Marco P, Sogorb F et al. Interleukin-6, endothelial activation and thrombogenesis in chronic AF. *European Heart Journal*. 2003; 24:1373-1380.
42. Corradi D. AF from the pathologist's perspective. *Cardiovascular Pathology*. 2014; 23:71-84.
43. Brandenburg S, Arakel EC, Schwappach B, Lehnart SE. The molecular and functional identities of atrial cardiomyocytes in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2016; 1863:1882-1893.
44. Belus A, Piroddi N, Ferrantini C, Tesi C, Cazorla O, Toniolo L et al. Effect of chronic AF on active and passive force generation in human atrial myofibrils. *Circulation Research* 2010; 107:144-152.
45. Gasparovic H, Cikes M, Kopjar T, Hlupic L, Velagic V, Milicic D et al. Atrial apoptosis and fibrosis adversely affect atrial conduit, reservoir and contractile function. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*. 2014; 19:223-230.
46. Ross Agner BF, Katz MG, Williams ZR, Dixen U, Jensen GB, Schwarz KQ. Left ventricular systolic function assessed by global longitudinal strain is impaired in AF compared to sinus rhythm. *Journal of Atrial Fibrillation*. 2017; 10:1437.

47. January CT, Wann LS, Alpert JS et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014; 64:1-76.
48. Moe G. On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*. 1962; 140:183-188.
49. Moe GK, Abildskov JA. Atrial fibrillation as a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge. *American Heart Journal*. 1959; 58:59-70.
50. Cox JL. The surgical treatment of atrial fibrillation. IV. Surgical technique. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1991; 101:584-592.
51. Haissaguerre M, Jais P, Shah DC et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *The New England Journal of Medicine*. 1998; 339:659-666.
52. Jais P, Haissaguerre M, Shah DC et al. A focal source of atrial fibrillation treated by discrete radiofrequency ablation. *Circulation*. 1997; 95: 572-576.
53. Nademanee K et al. A new approach for catheter ablation of atrial fibrillation: mapping of the electrophysiologic substrate. *Journal of American College of Cardiology*. 2004; 43:2044-2053.
54. Staerk L, Sherer JA, Ko D., Benjamin EJ, Helm RH. Atrial Fibrillation: Epidemiology, Pathophysiology, and Clinical Outcomes. *Circulation Research*. 2017; 120:1501–1517.
55. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*. 1995; 92:1954-68.
56. Allesie M, Ausma J, Schotten U. Electrical, contractile and structural remodeling during atrial fibrillation. *Cardiovascular Research*. 2002; 54:230-246.
57. Talman V, Ruskoaho H. Cardiac fibrosis in myocardial infarction-from repair and remodeling to regeneration. *Cell Tissue Research*. 2016; 365:563-581.
58. Maisel WH, Rawn JD, Stevenson WG. Atrial fibrillation after cardiac surgery. *Annals of Internal Medicine*. 2001; 135:1061–1073.

59. Lau HD, Nattel S, Kalman JM, Sanders P. Modifiable Risk Factors and Atrial Fibrillation. *Circulation*. 2017; 136:583–596.
60. Leung JM, Bellows WH, Schiller NB. Impairment of left atrial function predicts post-operative atrial fibrillation after coronary artery bypass graft surgery. *European Heart Journal*. 2004; 25:1836–1844.
61. Nakai T, Lee RJ, Schiller NB, Bellows WH, Dzankic S, Reeves J et al. The relative importance of left atrial function versus dimension in predicting atrial fibrillation after coronary artery bypass graft surgery. *American Heart Journal*. 2002; 143:181–186.
62. Jais P, Peng J, Shah D, Garrigue S, Hocini M, Yamane T, Haissaguerre M, Barold SS, Roudaut R, Clémenty J. Left ventricular diastolic dysfunction in patients with so-called lone atrial fibrillation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2000; 11:623–625.
63. Aranki SF, Shaw DP, Adams DH, Rizzo RJ, Couper GS, VanderVliet M, Collins JJ, Cohn LH, Burstin HR. Predictors of atrial fibrillation after coronary artery surgery. *Circulation*. 1996; 94:390–397.
64. Mullen JC, Khan N, Weisel RD, Christakis GT, Teoh KH, Madonik M, et al. Atrial activity during cardioplegia and postoperative arrhythmias. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1987; 94:558-565.
65. Dunning J, Treasure T, Versteegh M, Nashef SA et al. Guidelines on the prevention and management of de novo atrial fibrillation after cardiac and thoracic surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2006; 30: 852-872.
66. Burgess DC, Kilborn MJ, Keech AC. Interventions for prevention of post-operative atrial fibrillation and its complications after cardiac surgery: a meta-analysis. *European Heart Journal*. 2006; 27:2846-2857.
67. Miller S, Crystal E, Garfinkle M, Lau C, Lashevsky I, Connolly SJ. Effects of Magnesium on atrial fibrillation after cardiac surgery: a meta-analysis. *Heart*. 2005; 91:618-23.
68. Hu YF, Chen YJ, Lin YJ, Chen SA. Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation. *Nature Reviews Cardiology*. 2015; 12:230-243.

69. Lau DH, Schotten U, Mahajan R, Antic NA, Hatem SN, Pathak RK, Hendriks JM, Kalman JM, Sanders P. Novel mechanisms in the pathogenesis of atrial fibrillation: practical applications. *European Heart Journal*. 2016; 37:1573-1581.
70. Tinica G, Mocanu V, Zugun-Eloae F, Butcovan D. Clinical and histological predictive risk factors of atrial fibrillation in patients undergoing open-heart surgery. *Experimental and therapeutic medicine*. 2015; 10:2299-2304.
71. Zakkar M, Ascione R, James AF, Angelini GD, Suleiman MS. Inflammation, oxidative stress and postoperative atrial fibrillation in cardiac surgery. *Pharmacology & Therapeutics*. 2015; 154:13–20.
72. Sumeet C, Joseph B, Win-Kuang S, Stephen H, Bernard G. Epidemiology and Natural History of Atrial Fibrillation: Clinical Implications. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001; 37:371–378.
73. Staerk L, Sherer JA, Ko D, Benjamin E, Helm RH. Atrial Fibrillation. Epidemiology, Pathophysiology, and Clinical Outcomes. *Circulation Research*. 2017; 120:1501-1517.
74. Hertervig EJ, Yuan S, Carlson J, Kongstad-Rasmussen O, Olsson SB. Evidence for electrical remodelling of the atrial myocardium in patients with atrial fibrillation. A study using the monophasic action potential recording technique. *Clinical Physiology and Functional Imaging*. 2002; 22:8-12.
75. Kostin S, Klein G, Szalay Z, Hein S, Bauer EP, Schaper J. Structural correlate of atrial fibrillation in human patients. *Cardiovascular Research*. 2002; 54:361–379.
76. Engelman MDM., Svendsen JH. Inflammation in the genesis and perpetuation of atrial fibrillation. *European Heart Journal*. 2005; 26:2083–2092.
77. Szegedi I, Szapáry L, Csécsei P, Csanádi Z, Csiba L. Potential Biological Markers of Atrial Fibrillation: A Chance to Prevent Cryptogenic Stroke. *BioMed Research International*. 2017; 2017: ID 8153024.
78. Begg G, Lip GYH, Plein S, Tavejee MH. Circulating biomarkers of fibrosis and cardioversion of atrial fibrillation: A prospective, controlled cohort study. *Clinical Biochemistry*. 2017; 50:11–15.

79. Patel P, Dokainish H, Tsai P, Lakkis N. Update on the association of inflammation and atrial fibrillation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2010; 21:1064-70.
80. Pan M, Zhu JH, Jiang WP, Liu ZH, Li HM, Yu XH, Yang XJ. Inflammation: a possible pathogenic link to atrial fibrillation. *Medical Hypotheses*. 2006; 67:1305-7.
81. Elahi MM, Flatman S, Matata BM. Tracing the origins of postoperative atrial fibrillation: the concept of oxidative stress-mediated myocardial injury phenomenon. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*. 2008; 15:735-41.
82. de Boer RA, Voors AA, Muntendam P, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. *European Journal of Heart Failure*. 2009; 11:811-817.
83. Elola MT, Wolfenstein-Todel C, Troncoso MF, Vasta GR, Rabinovich GA. Galectins: matricellular glycan-binding proteins linking cell adhesion, migration, and survival. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2007; 64:1679-700.
84. Domic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2006; 1760:616-635.
85. Christenson RH, Duh SH, Wu AH, Smith A, Abel G, deFilippi CR, Wang S, Adourian A, Adiletto C, Gardiner P. Multi-center determination of galectin-3 assay performance characteristics: Anatomy of a novel assay for use in heart failure. *Clinical Biochemistry*. 2010; 43:683-690.
86. Djoussé L, Matsumoto C, Petrone A, Weir NL, Tsai MY, Gaziano JM. Plasma galectin 3 and heart failure risk in the Physicians' Health Study. *European Journal of Heart Failure*. 2014; 16:350-354.
87. Fashanu OE, Norby FL, Aguilar D, Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Chen L Y, Soliman EZ, Alonso A, Folsom AR. Galectin-3 and Incidence of Atrial Fibrillation: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American Heart Journal*. 2017; 192: 19–25.

88. Sonmez O, Ertem FU, Vatankulu MA et al. Novel fibro-inflammation markers in assessing left atrial remodeling in non-valvular atrial fibrillation. *Medical Science Monitor*. 2014; 20:463–470.
89. Kornej J, Schmidl J, Ueberham L et al. Galectin-3 in patients with atrial fibrillation undergoing radiofrequency catheter ablation. *PloS One*. 2015; 10: e0123574.
90. Clementy N, Benhenda N, Piver E et al. Serum galectin-3 levels predict recurrences after ablation of atrial fibrillation. *Scientific Reports* 2016; 6:34357.
91. Ho JE, Yin X, Levy D, Vasan RS, Magnani JW, Ellinor PT, McManus DD, Lubitz SA, Larson MG, Benjamin EJ. Galectin 3 and incident atrial fibrillation in the community, *American Heart Journal*. 2014; 167:729–734.
92. Gurses KM, Yalcin MU, Kocyigit D, Canpinar H, Evranos B, Yorgun H, Sahiner ML, Kaya EB, Ozer N, Tokgozoglu L, Oto MA, Guc D, Aytemir K. Effects of Persistent Atrial Fibrillation on Serum Galectin-3 Levels. *American Journal of Cardiology*. 2015; 115:647-651.
93. Bootcov MR, Bauskin AR, Valenzuela SM, Moore AG, Bansal M, He XY, Zhang HP, Donnellan M, Mahler S, Pryor K, Walsh BJ, Nicholson RC, Fairlie WD, Por SB, Robbins JM, Breit SN. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF- $\beta$  superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1997; 94:11514 –11519.
94. Schlittenhardt D, Schober A, Strelau J, Bonaterra GA, Schmiedt W, Unsicker K, Metz J, Kinscherf R. Involvement of growth differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in oxLDL-induced apoptosis of human macrophages in vitro and in arteriosclerotic lesions. *Cell and Tissue Research*. 2004; 318:325–333.
95. Kempf T, Eden M, Strelau J, Naguib M, Willenbockel C, Tongers J, Heineke J, Kotlarz D, Xu J, Molkentin JD, Niessen HW, Drexler H, Wollert KC. The transforming growth factor- $\beta$  superfamily member growth-differentiation factor-15 protects the heart from ischemia/ reperfusion injury. *Circulation Research*. 2006; 98:351–360.

96. Lind L, Wallentin L, Kempf T et al. Growth-differentiation factor-15 is an independent marker of cardiovascular dysfunction and disease in the elderly: results from the Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS) study. *European Heart Journal*. 2009; 30:2346–2353.
97. Wollert KC, Kempf T. Growth differentiation factor 15 in heart failure: an update. *Current heart failure reports*. 2012; 9:337–345.
98. Foley PW, Stegemann B, Ng K, Ramachandran S, Proudler A, Frenneaux MP, Leyva F. Growth differentiation factor-15 predicts mortality and morbidity after cardiac resynchronization therapy. *European Heart Journal*. 2009; 30:2749–2757.
99. Kempf T, von Haehling S, Peter T et al. Prognostic utility of growth differentiation factor-15 in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007; 50:1054–1060.
100. Kempf T, Horn-Wichmann R, Brabant G et al. Circulating concentrations of growth-differentiation factor 15 in apparently healthy elderly individuals and patients with chronic heart failure as assessed by a new immunoradiometric sandwich assay. *Clinical Chemistry*. 2007; 53:284–291.
101. Shao Q, Liu H, Ng CY et al. Circulating serum levels of growth differentiation factor-15 and neuregulin-1 in patients with paroxysmal non-valvular atrial fibrillation. *International Journal of Cardiology*. 2014; 172: 311-331.
102. Yalcin MU, Gurses KM, Kocyigit D et al. The association of serum galectin-3 levels with atrial electrical and structural remodeling. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2015; 26:635–640.
103. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY, Goeddel DV. The murine transforming growth factor-beta precursor. *Journal of Biological Chemistry*. 1986; 261:4377-4379.
104. Sato K, Kawasaki H, Nagayama H, Enomoto M, Morimoto C, Tadokoro K, Juji T, Takahashi TA. TGF-beta 1 reciprocally controls chemotaxis of human peripheral blood monocyte-derived dendritic cells via chemokine receptors. *Journal of Immunology*. 2000; 164:2285-2295.

105. Ashcroft GS, Roberts AB. Loss of Smad3 modulates wound healing. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2000; 11:125-131.
106. Wahl SM, Orenstein JM, Chen W. TGF-beta influences the life and death decisions of T lymphocytes. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2000; 11:71-79.
107. Verheule S, Sat T, Everett T et al. Increased vulnerability to atrial fibrillation in transgenic mice with selective atrial fibrosis caused by overexpression of TGF- $\beta$ 1. *Circulation Research*. 2004; 94:1458–1465.
108. Lin X, Wu N, Shi Y et al. Association between transforming growth factor  $\beta$ 1 and atrial fibrillation in essential hypertensive patients. *Clinical and Experimental Hypertension*. 2015; 37:82–87.
109. Heissig B, Nishida C, Tashiro Y, Sato Y, Ishihara M, Ohki M, Gritli I, Rosenkvist J, Hattori K. Role of neutrophil-derived matrix metalloproteinase-9 in tissue regeneration. *Histology & Histopathology*. 2010; 25:765-770.
110. Ram M, Sherer Y, Shoenfeld Y. Matrix metalloproteinase-9 and autoimmune diseases. *Journal of Clinical Immunology*. 2006; 26:299-307.
111. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Research*. 2006; 69:562-573.
112. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *European Journal of Cell Biology*. 1997; 74:111-22.
113. Borkakoti N. Matrix metalloproteases: variations on a theme. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 1998; 70:73-94.
114. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *The FASEB (Federation of American Societies for Experimental Biology) Journal*. 1998;12:1075-1095.
115. Bode W, Fernandez-Catalan C, Tschesche H, Grams F, Nagase H, Maskos K. Structural properties of matrix metalloproteinases. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 1999; 55:639-52.

116. Borden P, Heller RA. Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*. 1997; 7:159-178.
117. Lewkowicz J, Knapp M, Tankiewicz-Kwedlo A, Sawicki R, Kamińska M, Waszkiewicz E, Musiał WJ. MMP-9 in atrial remodeling in patients with atrial fibrillation. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. 2015; 64:285-291.
118. Wang W, Zhang HT, Yang XL. Effect of matrix metalloproteinase and their inhibitors on atrial myocardial structural remodeling. *Journal of Cardiovascular Medicine*. 2013; 14:265–269.
119. Pellman J, Lyon RC, Sheikh F. Extracellular matrix remodeling in atrial fibrillation: mechanisms and implications in atrial fibrillation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2010; 48:461–467.
120. Xu J, Cui G, Esmailian F et al. Atrial extracellular matrix remodeling and the maintenance of atrial fibrillation. *Circulation*. 2004; 109:363–368.
121. Mukherjee R, Herron AR, Lowry AS et al. Selective induction of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in atrial and ventricular myocardium in patients with atrial fibrillation. *American Journal of Cardiology*. 2006; 97:532–537.
122. Okumura K. Extracellular matrix remodeling as a cause of persistent atrial fibrillation: another therapeutic target. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2007; 18:1083–5.
123. Tobacman LS. Thin filament-mediated regulation of cardiac contraction. *Annual Review of Physiology*. 1996; 58:447–481.
124. Dobreaanu D. *Physiology of the heart*. University Press. 2007; ISBN: 978-973-7665-41-6.
125. J. Moraczewska. Structural determinants of cooperativity in acto-myosin interactions. *Acta Biochimica Polonica*. 2002; 49:805–812.
126. Ginghina C et al. *Small compendium of cardiology*. Editura Academiei Romane, 2010; ISBN: 978-973-27-1931-2.
127. Brown JH, Cohen C. Regulation of muscle contraction by tropomyosin and troponin: how structure illuminates function. *Advances in Protein Chemistry*. 2005; 71:121–159.

128. Risi C, Eisner J, Belknap B, Heeley DH, White HD, Schroder GF, Galkin VE. Ca (2+)-induced movement of tropomyosin on native cardiac thin filaments revealed by cryoelectron microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017; 114:6782–6787.
129. Moore JR, Campbell SG, Lehman W. Structural determinants of muscle thin filament cooperativity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2016; 594:8–17.
130. Layland J, Solaro RJ, Shah AM. Regulation of cardiac contractile function by troponin I phosphorylation. *Cardiovascular Research*. 2005; 66:12–21.
131. Craig R, Lee KH, Mun JY, Torre I, Luther PK. Structure, sarcomeric organization, and thin filament binding of cardiac myosin-binding protein-C. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*. 2014; 466:425–431.
132. Eisner DA, Caldwell JL, Kistamas K, Trafford AW. Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. *Circulation Research*. 2017; 121:181–195.
133. Kennedy A, Finlay DD, Guldenring D, Bond R, Moran K, McLaughlin J. The Cardiac Conduction System: Generation and Conduction of the Cardiac Impulse. *Critical Care Nursing Clinics of North America*. 2016; 28:269-279.
134. Morad M, Zhang XH. Mechanisms of spontaneous pacing: sinoatrial nodal cells, neonatal cardiomyocytes, and human stem cell derived cardiomyocytes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2017; 95:1100-1107.
135. Vahl CF, Lange R, Bauemschmiu R, Herold U, Tischmeger K, Hagl S. Analyzing Contractile Responses in Demembranized Pig Papillary Muscle Fibres: The Influence of Calcium, Resting Force, and Temperature. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*. 1991; 39:329-337.
136. Solaro RJ, Pang DC, Briggs FN. The purification of cardiac myofibrils with Triton X-100. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1971; 245:259-262.
137. Vahl CF, Timek T, Bonz A, Kochsiek N, Fuchs H, Schäffer L, Rosenberg M, Dillmann R, Hagl S. Myocardial length-force relationship in end stage dilated cardiomyopathy and normal human myocardium: analysis of intact and skinned left ventricular trabeculae obtained during 11 heart transplantations. *Basic Research in Cardiology*. 1997; 92:261-270.

138. Geeves MA, Ranatunga KW. Tuning the Calcium Sensitivity of Cardiac Muscle. *Biophysical Journal*. 2012; 103:849–850.
139. Gwathmey JK, Hajjar RJ, Solaro RJ. Contractile deactivation and uncoupling of crossbridges. Effects of 2,3-butanedione monoxime on mammalian myocardium. *Circulation Research*. 1991; 69:1280-92.
140. Mulieri LA, Hasenfuss G, Ittleman F, Blanchard EM, Alpert NR. Protection of human left ventricular myocardium from cutting injury with 2,3-butanedione monoxime. *Circulation Research*. 1989; 65:1441-9.
141. Perreault CL, Mulieri LA, Alpert NR, Ransil BJ, Allen PD, Morgan JP. Cellular basis of negative inotropic effect of 2,3-butanedione monoxime in human myocardium. *American Journal of Physiology*. 1992; 263:503-510.
142. Solaro RJ, Pang DC, Briggs FN. The purification of cardiac myofibrils with Triton X-100. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1971; 245:259-262.
143. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*. 2015; 72:4-15.
144. Butler JE, Peterman JH, Suter M, Dierks SE. The immunochemistry of solid-phase sandwich enzyme-linked immunosorbent assays. *Federation proceedings*. 1987; 46:2548-56.
145. Schotten U, Ausma J, Stellbrink C, Sabatschuss I, Vogel M, Frechen D, Schoendube F, Hanrath P, Allessie MA. Cellular mechanisms of depressed contractility in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation*. 2001; 103: 691–698.
146. Schotten U, Greiser M, Benke D, Buerkel K, Ehrenteidt B, Stellbrink C, Vazquez-Jimenez JF, Schoendube F, Hanrath P, Allessie M. Atrial fibrillation-induced atrial contractile dysfunction: a tachycardiomyopathy of a different sort. *Ca Cardiovascular Research*. 2002; 53:192-201.
147. Prabhu S, Voskoboinik A, McLellan AJA, Peck KY, Pathik B, Nalliah CJ, Wong GR, Azzopardi SM, Lee G, Mariani J, Ling LH, Taylor AJ, Kalman JM, Kistler PM. A comparison of the electrophysiologic and electroanatomic characteristics between the right and left atrium in persistent atrial fibrillation:

- Is the right atrium a window into the left? *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2017; 28:1109-1116.
148. Matějková A, Šteiner I. Association of Atrial Fibrillation with Morphological and Electrophysiological Changes of the Atrial Myocardium. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2016; 59:43-49.
149. Narducci ML, Pelargonio G, Rio T, Leo M, Di Monaco A, Musaico F et al. Predictors of postoperative atrial fibrillation in patients with coronary artery disease undergoing cardiopulmonary bypass: a possible role for myocardial ischemia and atrial inflammation. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. 2014; 28:512-9.
150. Holubcova Z, Kunes P, Mandak J, Vlaskova D, Kolackova M, Holmannova D, Andrys C, Krejsek J, Holubec T. Pentraxin 3 and other inflammatory biomarkers related to atrial fibrillation in cardiac surgery. *Perfusion*. 2017; 32: 269–278.
151. Patton KK, Ellinor PT, Heckbert SR et al. N-Terminal pro-b-type natriuretic peptide is a major predictor of the development of atrial fibrillation: The cardiovascular health study. *Circulation*. 2009; 120:1768–1774.
152. Bouchot O, Guenancia C, Kahli A, Pujos C, Malapert G, Vergely C, Laurent G. Low Circulating Levels of Growth Differentiation Factor-15 Before Coronary Artery Bypass Surgery May Predict Postoperative Atrial Fibrillation. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. 2015; 29:1131-9.
153. Lewkowicz J, Knapp M, Tankiewicz-Kwedlo A, Sawicki R, Kamińska M, Waszkiewicz E, Musiał WJ. MMP-9 in atrial remodeling in patients with atrial fibrillation. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. 2015; 64:285-291.
154. Li M, Yang G, Xie B, Babu K, Huang C. Changes in matrix metalloproteinase-9 levels during Progression of atrial fibrillation. *Journal of International Medical Research*. 2014; 42:224–230.
155. Stanciu AE, Vatasescu RG, Stanciu MM, Serdarevic N, Dorobantu M. The role of pro-fibrotic biomarkers in paroxysmal and persistent AF. *Cytokine*. 2018; 103:63-68.
156. Sharma UC, Pokharel S, Brakel TJ Van, Berlo JH Van, Cleutjens JPM, Schroen B et al. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone

- hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation*. 2004; 110:3121–8.
157. Ho JE, Yin X, Levy D, Vasan RS, Magnani JW, Ellinor PT et al. Galectin 3 and incident atrial fibrillation in the community. *American Heart Journal*. 2014; 167:729–34.
158. Fashanu OE, Norby FL, Aguilar D, Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Chen LY, Soliman EZ, Alonso A, Folsom AR. Galectin-3 and incidence of atrial fibrillation: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *American Heart Journal*. 2017; 192:19-25.
159. Berger WR, Jagu B, Van den Berg N, Chan Pin Yin, Van Straalen JP, De Boer OJ, Driessen AHG, Neefs J, Krul S, van Boven WP, van der Wal AC, de Groot JR. The change in circulating galectin-3 predicts absence of atrial fibrillation after thoracoscopic surgical ablation. *Europace*. 2018; 20:764-771.
160. Zhou YM, Li MJ, Zhou YL, Ma LL, Yi X. Growth differentiation factor-15 (GDF-15), novel biomarker for assessing atrial fibrosis in patients with atrial fibrillation and rheumatic heart disease. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2015; 8:21201-7.
161. Rosenberg MA, Maziarz M, Tan AY, Glazer NL, Zieman SJ, Kizer JR et al. Circulating fibrosis biomarkers and risk of atrial fibrillation: The Cardiovascular Health Study (CHS). *American Heart Journal*. 2014; 16:723–8.
162. Kim SK, Pak HN, Park JH et al. Clinical and serological predictors for the recurrence of atrial fibrillation after electrical cardioversion. *Europace*. 2009; 11:1632–8.
163. On YK, Jeon ES, Lee SY et al. Plasma transforming growth factor beta1 as a biochemical marker to predict the persistence of atrial fibrillation after the surgical maze procedure. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2009; 137:1515–20.
164. Lo B, Fijnheer R, Nierich AP, Bruins P, Kalkman CJ. C-reactive protein is a risk indicator for atrial fibrillation after myocardial revascularization. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2005; 79:1530–1535.

165. Ahlsson AJ, Bodin L, Lundblad OH, Englund AG. Postoperative atrial fibrillation is not correlated to C-reactive protein. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2007; 83:1332–1337.
166. Masson S, Aleksova A, Favero C et al. Predicting atrial fibrillation recurrence with circulating inflammatory markers in patients in sinus rhythm at high risk for atrial fibrillation: data from the GISSI atrial fibrillation trial. *Heart*. 2010; 96:1909–191.
167. Vaziri SM, Larson MG, Benjamin EJ, Levy D. Echocardiographic Predictors of Nonrheumatic Atrial Fibrillation. *The Framingham Heart Study*. *Circulation*. 1994; 89:724-30.
168. Aksu U, Gulcu O, Aksakal E, Topcu S, Sevimli S, Tanboga IH. Comparison of the three conventional methods for the postoperative AF prediction. *Echocardiography*. 2017; 34:831-834.
169. Tsang TSM, Barnes ME, Bailey KR, Leibson CL, Montgomery SC, Takemoto Y, Diamond PM, Marra MA, Gersh BJ, Wiebers DO, Petty GW, Seward JB. Left Atrial Volume: Important Risk Marker of Incident Atrial Fibrillation in 1655 Older Men and Women. *Mayo Clin Proceedings*. 2001; 76:467-475.
170. Tsang TSM, Gersh BJ, Appleton CP, Tajik AJ, Barnes, ME, Bailey KR, Oh JK, Leibson C, Montgomery SC, Seward JB. Left Ventricular Diastolic Dysfunction as a Predictor of the First Diagnosed Nonvalvular Atrial Fibrillation in 840 Elderly Men and Women. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002; 40:ISSN 0735-1097/02.
171. Wen S, Liu N, Bai R, Tang RB, Yu RH et al. Right atrial diameter and outcome of catheter ablation of atrial fibrillation. *Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology*. 2017; 49:157-164.
172. Magne J, Salerno B, Mohty D, Serena C, Rolle F, Piccardo A, Echahidi N, Le Guyader A, Aboyans V. Echocardiography is useful to predict postoperative atrial fibrillation in patients undergoing isolated coronary bypass surgery: A prospective study. *European Heart Journal - Acute Cardiovascular Care*. 2019; 8:104-113.

173. Barbara DW, Rehfeldt KH, Pulido JN, Li Y, White RD, Schaff HV and Mauermann WJ. Diastolic function and new-onset atrial fibrillation following cardiac surgery. *Annals of Cardiac Anaesthesia*. 2015; 18: 8–14.
174. Gorter TM, van Melle JP, Rienstra M, Borlaug BA, Hummel YM, van Gelder IC. Right Heart Dysfunction in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: The Impact of AF. *Journal of Cardiac Failure*. 2018; 24:177-185.
175. Waligóra M, Tyrka A, Miszański-Jamka T, Urbańczyk-Zawadzka M, Podolec P, Kopeć G. Right atrium enlargement predicts clinically significant supraventricular arrhythmia in patients with pulmonary arterial hypertension. *Heart Lung*. 2018; 47: 237-242.
176. Biernacka A, Frangogiannis NG. Aging and Cardiac Fibrosis. *Aging and Disease*. 2011; 2:158–173.
177. Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, D’Agostino RB, Belanger AJ, Wolf PA. Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. The Framingham Heart Study. *Journal of the American Medical Association*. 1994; 271: 840–844
178. Fort J. Chronic renal failure: a cardiovascular risk factor. *Kidney International Supplements*. 2005; 99:25-29.
179. Ziad H, Lars W. Renal Function in Atrial Fibrillation. A Multifaceted Dilemma. *Circulation*. 2016; 134:48-51.
180. Vidotti E, Vidotti LFK, Arruda Tavares CAG, Ferraz ÉDZ, Oliveira V, de Andrade AG, Cardoso JMB, Cardoso MH. Predicting postoperative atrial fibrillation after myocardial revascularization without cardiopulmonary bypass: A retrospective cohort study. *Journal of Cardiac Surgery*. 2019; 34:577-582.
181. Perrier S, Meyer N, Hoang Minh T, Announe T, Bentz J, Billaud P, Mommerot A, Mazzucotelli JP, Kindo M. Predictors of Atrial Fibrillation After Coronary Artery Bypass Grafting: A Bayesian Analysis. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2017; 103:92-97.
182. Ruggieri VG, Bounader K, Verhoye JP, Onorati F, Rubino AS, Gatti G, Tauriainen T et al. Prognostic Impact of Prolonged Cross-Clamp Time in Coronary Artery Bypass Grafting. *Heart, Lung and Circulation*. 2018; 27:1476-1482.

183. LaPar DJ, Speir AM, Crosby IK, Fonner E, Brown M, Rich JB, Quader M, Kern JA, Kron IL, Ailawadi G. Postoperative Atrial Fibrillation Significantly Increases Mortality, Hospital Readmission, and Hospital Costs. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2014; 98:527–33.

## 6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Struktur des Sarkomers während der Kontraktion (Wiedergabe nach Dobreanu D. Physiology of the heart. University Press, 2007. ISBN: 978-973-7665-41-6.) .....	18
Abbildung 2: Aktin-Myosin Komplex und Konformationsänderung des Myosinmoleküls während Kontraktion. Die Bindung von ATP dissoziiert Myosin aus Aktin. Die ATP-Hydrolyse induziert dann eine Konformationsänderung, die die Myosinkopfgruppe verdrängt. ....	19
Abbildung 3: Verteilung der positiv und negativ geladenen Ionen zwischen Zellinnerem und Zelläußerem .....	21
Abbildung 4: Die Phasen des Aktionspotentials im Herzmuskel.....	22
Abbildung 5: Die spontane Depolarisierung in den "low-response" Zellen .....	23
Abbildung 6: Einteilung des Herzohres .....	33
Abbildung 7: Die geskinnten Trabekel werden in mehrere, dünne Fasern geteilt .....	34
Abbildung 8: Die Vorbereitung verschiedener Kalziumkonzentrationen durch das Mischen geeigneter Volumina der Relaxationspuffer und Kontraktionspuffer .....	35
Abbildung 9: Die Faser wird zwischen den zwei Pinzetten des Systems eingespannt und in zunehmende Kalziumkonzentrationen eingeführt .....	36
Abbildung 10: pCa/Kraft-Kurve. Bei zunehmenden $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen (pCa 4,5 bis pCa 7,5) entwickeln die Muskelfaser unterschiedliche Kraftwerte anhand dessen die pCa/Kraft Kurve erstellt wird. Die pCa/Kraft Kurve weist eine sigmoide Form auf. Im Bereich zwischen pCa 6 und pCa 5 findet eine starke Kraftentwicklung statt. ....	37
Abbildung 11: Schematische Darstellug eines ELISA-Tests .....	40
Abbildung 12: Boxplotdarstellung des Alters für Patienten in Gruppe A (postop VHF) und Gruppe B (postop SR) .....	48
Abbildung 13: Boxplotdarstellung des BMI-Werts bei Patienten in Gruppe A (VHF) und Gruppe B (postop SR) .....	49

Abbildung 14: Boxplotdarstellung der präoperativen Creatinin-Werte bei Patienten in Gruppe A (VHF) und Gruppe B (postop SR). 2 Extremausreißer > 3,0 mg/dL wurden graphisch nicht dargestellt) .....	50
Abbildung 15: Darstellung der präoperativen GFR-Werte bei Patienten in Gruppe A (VHF) und Gruppe B (postop SR). .....	51
Abbildung 16 Boxplotdarstellung der MMP-9 Werte bei Patienten mit postoperativem VHF (Gruppe A) und Patienten mit postoperativem SR (Gruppe B) .....	56
Abbildung 17: Boxplotdarstellung der linksatrialen Kraftwerte von Patienten mit POAF (Gruppe A) im Vergleich zu den Patienten mit postoperativem SR (Gruppe B) bei progredienten Kalziumkonzentrationen.....	58
Abbildung 18: Entwickelte LAA-Kraft in Gruppe A (grün) im Vergleich zur Gruppe B (blau) bei steigenden Kalziumkonzentrationen. Ab pCa 5,5 sind die LAA-Kraftwerte in Gruppe A signifikant niedriger vergleichend mit Gruppe B.....	59
Abbildung 19: Entwickelte RAA-Kraft in Gruppe A (postop VHF) im Vergleich zur Gruppe B-postop SR (unterbrochene Linie) bei steigenden Kalziumkonzentrationen. Ab pCa 4,75 sind die RAA-Kraftwerte in Gruppe A signifikant niedriger gegenüber Gruppe B. ....	60

## 6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Normalverteilungstest und Auswahl der anzuwendenden Testverfahren .....	45
Tabelle 2: Vergleich der demographischen Daten zwischen Gruppe A und Gruppe B.....	47
Tabelle 3: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen für LVEF, LA Fläche (cm <sup>2</sup> ), RA Fläche (cm <sup>2</sup> ), TAPSE, E/A und E/Lat E´ (zur Beurteilung der diastolischen Dysfunktion) in Gruppe A und Gruppe B .....	52
Tabelle 4: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen für Cross-Clamping-Zeit, Bypass-Zeit und Anzahl der arteriellen und venösen Anastomosen in Gruppe A und Gruppe B. HLM: Herz-Lungen-Maschine	54
Tabelle 5: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen für Biomarker.....	55
Tabelle 6: Darstellung der links- und rechtsatrialen Muskelkraftwerte (als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) bei progredienten Kalziumkonzentrationen in Gruppe A und Gruppe B.....	57
Tabelle 7: Independenten Prädiktoren für postoperatives VHF.....	62

### 6.3 Abkürzungen

AF: atrial fibrillation

ACVB-Operation: Aorto-Coronarer-Venen-Bypass

ATP: Adenosintrifosfat

BMI: Body Mass Index

BDM-Lösung (BDM= 2,3-butanedione monoxime)

CTGF: connective tissue growth factor

DM: Diabetes Mellitus

EH: Essentielle Hypertonie

ECM: Extrazelluläre Matrix

EGTA ethylenglycol-bis(2-aminoethyl)-tetraessigsäure

ELISA: Enzym Linked Immunosorbent Assays

Gal-3: Galectin 3

GDF-15: Growth Differentiation Factor 15

GLS: global longitudinal strain

VHF: Vorhofflimmern

HLM: Herz-Lungen-Maschine

hsCRP: high sensitive C Reactive Protein

IL-1: Interleukin 1

IL-6: Interleukin 6

LA: Left Atrium

LAA: Left Atrial Auricle

LA-Diameter: left atrial diameter

LV: Linker Ventrikel

LVEF: Left Ventricular Ejection Fraction

MMP9: Matrix Metalloproteinase 9

mN: milli Newton

NT-ProBNP: N-Terminal Pro Brain Natriuretic Peptide

POAF: postoperative atrial fibrillation

PCWP: pulmonary capillary wedge pressure

PTX-3: Pentraxin 3

RA: Right Atrium

RV: Rechter Ventrikel

RAA: Right Atrial Auricle

sPAP: Systolic Pulmonary Artery Pressure

SR: Sinusrhythmus

TAPSE: Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion

TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor  $\alpha$

TGF- $\beta$ 1: Transforming growth factor  $\beta$ 1

TIMP: tissue inhibitor of metalloproteinases

