

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG EPPENDORF

Aus der Klinik für Kardiologie des
Universitären Herzzentrums Hamburg GmbH

Klinikdirektor: Prof. Dr. med. Stephan Blanckenberg

**Identifizierung von Biomarkern zur
Risikoprävention von Vorhofflimmern mithilfe
der Genexpressionsanalyse von Vorhofgewebe**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin an der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Katja Khokhlova

aus Moskau

Hamburg 2016

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät Hamburg am: 19.12.2016

Veröffentlicht mit der Genehmigung der

Medizinischen Fakultät Hamburg.

Prüfungsausschuss, Vorsitzende: Prof. Dr. med. Renate Schnabel-Bonin

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Priv.-Doz. Dr. med. Alexander Schwoerer

Inhaltsverzeichnis

1	Theoretischer Hintergrund	1
1.1	Vorhofflimmern	1
1.1.1	Epidemiologie	1
1.1.2	Pathophysiologie	1
1.1.3	Einteilung	2
1.2	Postoperatives Vorhofflimmern	3
1.2.1	Epidemiologie	3
1.2.2	Pathophysiologie	3
1.2.3	Risikofaktoren	4
1.2.4	Folgen	5
1.2.5	Diagnostik	6
1.2.6	Prävention und Therapie	7
1.3	Genexpressionsanalyse	8
1.3.1	Möglichkeiten der direkten Analyse im Gewebe	8
1.3.2	Genexpressionsanalyse und POVf	8
1.4	Ziel dieser Arbeit	9
2	Material und Methoden	11
2.1	Aufbau der AFHRI-B Studie	11
2.1.1	Studiendesign	11
2.1.2	Ein- und Ausschlusskriterien sowie Studienabbruchskriterien	11
2.1.3	Einwilligungserklärungen	12
2.1.4	Ethische Aspekte	12
2.2	Datenerhebung	12
2.2.1	Teilnehmerrekrutierung und Erhebung der Baselinedaten	12
2.2.2	Intraoperative Datenerhebung und Gewinnung von Vorhofgewebe	13
2.2.3	Follow-up	13
2.2.4	Elektrokardiogramm	13

2.2.5	Weitere Erhebungen	14
2.2.6	Endpunkte	14
2.2.7	Datenmanagement	15
2.3	Genexpressionsanalysen	15
2.3.1	Geräte, Kits, Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial	15
2.3.2	Vorbereitung der Gewebeproben	16
2.3.3	Gewinnung von RNA aus den Gewebeproben	17
2.3.4	Umwandlung der RNA in cDNA	18
2.3.5	Fragmentierung, Labeling und Hybridisierung	18
2.3.6	Färbung und Waschung	19
2.4	Statistische Auswertung	19
2.5	Bioinformatische Auswertung der Genexpressionsanalysen	20
2.6	Hilfen	20
3	Ergebnisse	21
3.1	Darstellung des Patientenkollektivs	21
3.1.1	Ausgangscharakteristika	21
3.1.2	Untersuchung möglicher Risikofaktoren für VHF und POVf	22
3.1.3	Operationstypen im Bezug auf VHF und POVf und vorhandene Gewebeproben	25
3.2	Konzentrationsbestimmungen und Qualitätskontrollen der RNA, cRNA und cDNA	29
3.3	Ergebnisse der Genexpressionsanalysen	32
4	Diskussion	39
4.1	Patientenkollektiv und Risikofaktoren im Vergleich zu anderen Studien	39
4.2	Genexpressionsunterschiede zwischen VHF und Kontrollen	41
4.2.1	Muscleblind-Like Protein 3 (<i>MBNL3</i>)	43
4.2.2	Metallothionein 1L (<i>MT1L</i>)	44
4.2.3	Tumornekrosefaktor-Rezeptor-Superfamilie Mitglied 19 (<i>TNFRSF19</i>)	45

4.3	Genexpressionsunterschiede zwischen POVf und Kontrollen	46
4.3.1	Glutathion S-Transferase Theta-1 (<i>GSTT1</i>)	47
4.4	Limitationen	48
4.5	Die Bedeutung der Ergebnisse	49
4.6	Ausblick	50
5	Zusammenfassung	51
6	Literatur	53
7	Danksagung	76
8	Lebenslauf	77
9	Eidesstattliche Versicherung	78

1 Theoretischer Hintergrund

1.1 Vorhofflimmern

Vorhofflimmern (VHF) ist die häufigste anhaltende Herzrhythmusstörung, die sich durch eine unregelmäßige Kontraktion der Herzvorhöfe und unregelmäßige Erregungsüberleitung auf die Ventrikel auszeichnet. Daher kommt die Bezeichnung Arrhythmia absoluta. Das Frequenzspektrum bei VHF ist variabel. VHF kann im normofrequenten Bereich liegen oder als Brady- oder Tachyarrhythmie auftreten. Im EKG fehlen die p-Wellen, die RR-Abstände sind unregelmäßig und häufig ist eine Flimmerwelle zu beobachten [57].

1.1.1 Epidemiologie

In Deutschland beträgt die Prävalenz 2,5% [98]. Männer sind häufiger betroffen als altersgleiche Frauen [44]. Die Auftretenshäufigkeit ist stark altersabhängig [44]. In der Altersgruppe der 35- bis 44-jährigen beträgt die Prävalenz bei Männern 0,7% und bei Frauen 0,3%, während unter den 65- bis 75-jährigen bereits 10,6% der Männer und 4,9% der Frauen erkrankt sind [98]. Mit dem demographischen Altern der Bevölkerung nimmt auch die Inzidenz von VHF zu. Innerhalb von 20 Jahren (1980-2000) ist die Inzidenz von 3,04 pro 1000 Personenjahre auf 3,68 gestiegen. Bei bleibender Inzidenzzunahme wird es Schätzungen zufolge zwischen den Jahren 2050 und 2060 in den USA 16 Millionen [84] und in Europa 17 Millionen [72] Personen mit der Diagnose VHF geben.

1.1.2 Pathophysiologie

Eine zentrale Hypothese der Entstehung von VHF geht davon aus, dass hauptsächlich in den Pulmonalvenen und teilweise im Vorhof ektopische Erregungsfoci entstehen. Wenn diese auf vorgeschädigtes Vorhofmyokard treffen, bilden sich kreisende Erregungen, welche sich selbständig aufrechterhalten und die Vorhöfe unregelmäßig kontrahieren lassen [85, 6]. Durch diese unregelmäßigen Kontraktionen vermindert sich die Pumpfunktion der Vorhöfe und das Herzzeitvolumen nimmt ab.

Elektrophysiologisches und strukturelles Remodeling im Vorhofmyokard ist verantwortlich

1 Theoretischer Hintergrund

sowohl für die Entstehung als auch für die Aufrechterhaltung von VHF [110]. Herzerkrankungen wie Herzinsuffizienz, die auch durch anhaltende tachy- oder bradykarde Episoden von VHF hervorgerufen werden kann (Tachy- oder Bradykardiomyopathie), führen zu Veränderungen des Myokards und begünstigen die Entstehung von VHF [7]. Zu solchen Veränderungen führt auch die Überdehnung der Vorhöfe durch Volumenbelastung [102]. Das elektrophysiologische Remodeling ist bereits kurze Zeit nach dem Beginn von VHF zu beobachten und führt zu einer veränderten Genexpression von Ionenkanälen und Gap Junctions [87, 121]. Das strukturelle Remodeling beschreibt einen langsamen Prozess, bei dem sich während andauerndem VHF das Vorhofmyokard morphologisch verändert [14]. Durch das Remodeling wird die elektrische Überleitungsgeschwindigkeit und die effektive Refraktärzeit verändert, wodurch das Gewebe vulnerabler für die Entstehung und Aufrechterhaltung von kreisenden Erregungen wird. Der Ausdruck „Vorhofflimmern erzeugt Vorhofflimmern“ beschreibt, dass VHF als sein eigener Verstärker zu immer häufigerem Auftreten und längerer Dauer der arrhythmischen Episoden führt.

1.1.3 Einteilung

Ein progredienter Verlauf ist für VHF typisch. Die ersten Episoden sind meist von kurzer Dauer und zunächst erfolgt noch eine Spontankonversion in den Sinusrhythmus (SR). Eine Einteilung in Vorhofflimmertypen nach Dauer und Konvertierbarkeit ist künstlich. Bei wiederholtem Auftreten spricht man von paroxysmalem Vorhofflimmern, wobei sich VHF und SR spontan abwechseln. Das persistierende Vorhofflimmern ist nicht selbstlimitierend, dauert mindestens 7 Tage an und/oder lässt sich nur durch therapeutische Intervention in den SR konvertieren. Die letzte Stufe ist das permanente Vorhofflimmern, bei dem therapeutische Interventionen keine Wirkung mehr zeigen und kein SR mehr herzustellen ist oder wenn man sich gegen eine Kardioversion entschieden hat [57].

Eine besondere Form von VHF ist das postoperative Vorhofflimmern (POVF). VHF ist dann als POVHF zu bezeichnen, wenn die erste Episode innerhalb von wenigen Tagen und bis zu 30 Tagen nach einem operativen Eingriff auftritt.

1.2 Postoperatives Vorhofflimmern

1.2.1 Epidemiologie

POVF zählt zu den häufigsten Komplikationen von kardiochirurgischen Eingriffen, insbesondere der Koronarrevaskularisation und Operationen an den Herzklappen [13]. Nach anderen Operationen, wie der Pulmektomie [32] und großen abdominalen Eingriffen [117] tritt POVF ebenfalls auf. Die meisten Patienten entwickeln POVF zwischen dem ersten und vierten postoperativen Tag [96]. Nach allen kardiochirurgischen Eingriffen insgesamt bekommen 29,7% der Patienten POVF [96], wobei es Unterschiede in Abhängigkeit von der durchgeführten Operationstechnik gibt. Am seltensten ist POVF nach Eingriffen, die in Off-Pump-Technik (OPCAB) durchgeführt werden (35%) [55], gefolgt von der aortokoronaren Bypassoperation (ACB) mit der Herz-Lungen-Maschine (44%) [55]. Am häufigsten (bis zu 81%) entwickeln Patienten POVF nach solchen Eingriffen, bei welchen eine Herzklappenrekonstruktion mit der ACB kombiniert wird [55].

1.2.2 Pathophysiologie

Strukturelle Veränderungen des Myokards sind wie bei VHF auch für die Entwicklung von POVF von Bedeutung. Histologisch sind vermehrt Fibrose [45], Myolyse und Apoptosezeichen [5] in präoperativ gewonnenen Vorhofproben zu finden. In anderen Studien konnte allerdings keine verstärkte Apoptose nachgewiesen werden [2]. Im Gegensatz zu VHF sind elektrophysiologische Veränderungen für die Entstehung von POVF eher von nachrangiger Bedeutung [114, 23].

Die systemische Immunantwort, sowie die Immunreaktion durch das direkte Trauma am Myokard sind wichtige Faktoren bei der Entstehung von POVF [10]. Die Entzündungsreaktion im Myokard führt zu einer unregelmäßigen Erregungsausbreitung im rechten Vorhof, was das Auftreten von POVF begünstigt und die Episodendauer verlängert [62]. Ein sowohl prä- als auch postoperativ veränderter Anteil von neutrophilen Granulozyten an Gesamtleukozyten [42], eine postoperative Erhöhung der Gesamtleukozyten [1] und eine erhöhte postoperative TNF- α -Konzentration im Blut bei Patienten mit POVF sprechen ebenfalls für eine

Beteiligung des Immunsystems an der Genese von POVf.

Postoperativ erhöhte Peroxidasekonzentrationen im Serum und verstärkte Oxidation von Proteinen im Myokard sind Zeichen von oxidativem Stress. Reaktive Sauerstoffverbindungen entstehen durch die Ischämie und Reperfusion des Myokards [81] und sind bei Patienten, die POVf entwickeln, vermehrt zu beobachten [94].

Das autonome Nervensystem wird ebenfalls in Zusammenhang mit der Entstehung von POVf gebracht. Erhöhte Sympathikusaktivität zeigt sich kurz vor dem Eintritt von POVf durch erhöhte Herzfrequenzvariabilität [9]. Über den gleichzeitigen Einfluss der Vagusaktivität gibt es widersprüchliche Ergebnisse [9, 34].

Des Weiteren gibt es Belege für eine hereditäre Komponente für das Auftreten von POVf. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass eine Mutation im *Hsp70-Hom Gen* mit vermehrtem Auftreten von POVf einhergeht [3]. Das *Hsp70-Hom Gen* kodiert für das Hitzeschockprotein 70 und hat vermutlich eine antiarrhythmogene Funktion. In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass ein Polymorphismus in der Promoterregion des für Interleukin-6 (IL-6) kodierenden Gens zu höheren postoperativen IL-6 Konzentrationen führt und POVf begünstigt [20].

1.2.3 Risikofaktoren

Höheres Lebensalter ist ein gut belegter Risikofaktor für VHF allgemein [54, 76] und speziell auch für POVf [55, 13, 8].

Einige Studien belegen ein häufigeres Auftreten von POVf bei Frauen [55], in anderen wiederum kann dieser Zusammenhang nicht bestätigt werden [97]. Weiterhin ist Übergewicht möglicherweise ein prädiktiver Faktor für POVf [106, 56].

Nach Operationen von längerer Dauer und mit längerer Aortenklemmzeit tritt POVf gehäuft auf [55, 97]. Des Weiteren gibt es Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der intraoperativen Gabe inotroper Substanzen, dem Einsatz von Opiaten und der Zeit an der Herz-Lungen-Maschine mit dem Auftreten von POVf [97].

Das C-reaktive Protein (CRP) wird ebenfalls als prädiktiver Faktor diskutiert. CRP kann als Indikator der Akute-Phase-Reaktion betrachtet werden. Es gibt einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Akute-Phase-Reaktion nach dem Eingriff und der Häufigkeit der Kom-

plikationen inklusive postoperativer Arrhythmien [25]. Ein erhöhter präoperativer CRP-Wert deutet auf höhere postoperative Werte hin und wird als Indikator für POVf diskutiert [77]. In anderen Studien konnte ein Zusammenhang mit einer CRP-Veränderung nicht hergestellt werden [42].

Es gibt bereits Scores zur Identifizierung von Risikopatienten. Helgadottir et al. haben einen Risikoscore entwickelt, der auf der verwendeten Operationstechnik, dem Patientenalter und dem EuroSCORE zur Abschätzung der Letalität nach herzchirurgischen Eingriffen basiert [55]. Eine andere Studie nutzt die Konzentration von Biomarkern im Blut, wie das atriale natriuretische Peptid (ANP), Angiotensin II und Hyaluronsäure, als Marker für das erhöhte Risiko für POVf [101].

Eine erhöhte Konzentration des B-Typ natriuretischen Peptids (BNP), gemessen in intraoperativ entnommener Perikardflüssigkeit, wurde als prädiktiver Faktor für POVf beschrieben [86]. Das N-terminale Fragment von BNP (NT-proBNP), innerhalb von 4 Stunden postoperativ im Blut gemessen, konnte in einer Studie POVf mit der Sensitivität von 74% und Spezifität von 84% vorhersagen [65].

Weitere Untersuchungen beschäftigen sich mit der Identifikation von Risikopatienten mittels EKG [40] und transthorakaler Echokardiographie [95, 50]. Beispielweise könnte eine verlängerte p-Welle im präoperativen EKG auf verstärkte Fibrose und ein erhöhtes Risiko für POVf hinweisen [45]. Die präoperativ gemessene Vergrößerung des linken Vorhofs wird als Risikofaktor für POVf diskutiert [48].

1.2.4 Folgen

VHF geht, unabhängig von anderen Faktoren, mit erhöhter Mortalität einher [83, 18]. Patienten mit VHF entwickeln häufiger eine Herzinsuffizienz mit daraus resultierender erhöhter Morbidität und Mortalität [118]. Das Risiko, einen Schlaganfall zu erleiden, ist um das fünffache erhöht [123, 98] und rund ein Drittel aller Schlaganfälle sind mit VHF assoziiert. Die mit VHF assoziierten Schlaganfälle sind besonders schwerwiegend [49]. Dabei haben paroxysmales, persistierendes und permanentes VHF ein ähnliches Schlaganfallrisiko [39].

Auch POVf geht mit hohem Schlaganfallrisiko einher. Dabei ist das Risiko sowohl für

den Zeitraum unmittelbar nach der Operation [120], als auch das Langzeitrisiko deutlich erhöht [4]. Patienten mit POVF haben ein achtfach höheres Risiko, zukünftig weitere Vorhofflimmerepisoden zu bekommen [4]. Wundinfektionen, postoperative Pneumonien und Infektionen des Urogenitaltraktes treten gehäuft bei Patienten mit POVF auf [55]. Schwerwiegende Infektionen wie Myokarditis und Mediastinitis sind mehr als fünffach häufiger [55]. Patienten mit POVF erkranken häufiger an Multiorganversagen und dem systemischen inflammatorischen Response-Syndrom (SIRS) [55]. Bei Patienten mit POVF ist sowohl die postoperative, als auch die Langzeitmortalität erhöht [43, 55, 115].

Die genaue kausale Kette von POVF und Komplikationen des postoperativen Verlaufs ist in vielen Fällen nicht eindeutig. Zudem wirkt sich POVF negativ auf das subjektiv empfundene körperliche und psychische Wohlbefinden aus [21]. Um durchschnittlich 1,4 bis 4,9 Tage verlängerte Krankenhausaufenthaltsdauer, längere Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation mit verlängerter Beatmungsdauer, eine höhere Inanspruchnahme von Laboruntersuchungen, erhöhter Medikamentenbedarf und höhere Behandlungskosten sind weitere Folgen [8, 13, 60], die auch gesundheitsökonomisch von Bedeutung sind.

1.2.5 Diagnostik

VHF wird anhand eines 12-Kanal-EKG diagnostiziert [28], während einer bestehenden Episode reicht ein Standard-EKG aus. Bei paroxysmalem VHF kann die Diagnose durch das unregelmäßige Auftreten erschwert sein. Mittels eines Eventrekorders, der über längere Zeit eingesetzt wird, können solche Episoden aufgedeckt werden. Wegweisend können Symptome wie Herzklopfen, Schwindel, Synkopen, Dyspnoe und Palpitationen sein [57]. VHF kann aber auch komplett symptomlos verlaufen, was die Diagnose ebenfalls erschwert [90, 51]. Gerade Patienten mit asymptomatischem VHF würden von einem risikobezogenen Screening profitieren [28], denn auch bei diesem subklinischen Verlauf ist das Risiko für einen Schlaganfall oder eine periphere Embolie erhöht [51]. In solchen Fällen kann der Schlaganfall als der erste Hinweis auf VHF den Anlass zur fokussierten Suche nach VHF geben [63].

1.2.6 Prävention und Therapie

Die aktuellen Leitlinien [28] empfehlen zur Prävention von POVf mit einer IA-Empfehlung die Gabe von β -Blockern bereits eine Woche vor dem operativen Eingriff. Bei Hochrisikopatienten für POVf sollte eine prophylaktische Gabe von Statinen und Amiodaron erfolgen (IIaA-Empfehlung). Sotalol kann eingesetzt werden (IIbA-Empfehlung), die Empfehlung ist jedoch wegen der proarrhythmogenen Wirkung eingeschränkt. Genauso verhält es sich mit der batrialen Stimulation mittels Herzschrittmacher (IIbA-Empfehlung). Kortikosteroide können ebenfalls eingesetzt werden (IIbA-Empfehlung), gehen jedoch mit vermehrter Anfälligkeit für postoperative Infektionen und einer gestörten Wundheilung einher.

Obwohl POVf in den meisten Fällen innerhalb von 24 Stunden selbstlimitierend ist, spielen neben allgemeinen Maßnahmen wie Schmerztherapie und Kreislaufstabilisierung auch andere Therapieoptionen eine wichtige Rolle. Die Herzfrequenzkontrolle wird empfohlen (IB-Empfehlung). Bei hämodynamischer Instabilität oder schwerer Kontrollierbarkeit der Herzfrequenz sollte eine elektrische oder medikamentöse Kardioversion mit Amiodaron durchgeführt werden (IC-Empfehlung). Bei hämodynamischer Stabilität können β -Blocker eingesetzt werden. Eine antikoagulative Therapie sollte ab einer POVf-Dauer von über 48 Stunden (IIaA-Empfehlung) und nach einer Kardioversion für mindestens vier Wochen (IIaB-Empfehlung) durchgeführt werden. Bei diagnostiziertem VHF ist die Einschätzung des Schlaganfallrisikos essentiell, um Niedrigrisikopatienten vor einer potentiell komplikationsreichen Therapie zu schützen. Der CHA₂DS₂-VASc-Score stellt ein besonders gutes Werkzeug dafür dar [89]. Dabei werden je ein Punkt für konzessive Herzinsuffizienz, arterielle Hypertonie, ein Alter zwischen 65 und 74 Jahren, Diabetes mellitus, Erkrankungen der Gefäße und das weibliche Geschlecht vergeben. Zwei Punkte werden für ein Alter über 75 Jahren und einen bereits überstandenen Schlaganfall vergeben. Zu den Niedrigrisikopatienten zählen nur die Patienten mit einem CHA₂DS₂-VASc-Score von null. Nur solche Niedrigrisikopatienten müssen nicht antikoaguliert werden [89].

1.3 Genexpressionsanalyse

1.3.1 Möglichkeiten der direkten Analyse im Gewebe

Die ACB-Operation ist eine hervorragende Möglichkeit, Gewebeproben aus dem Vorhofohr zu erhalten, da diese bei der Kanülierung anfallen. Eine Möglichkeit, in diesem Gewebe die Genexpression zu untersuchen, ist die Transkriptomanalyse. Das Transkriptom ist die Gesamtheit aller zu einem bestimmten Zeitpunkt von der RNA-Polymerase abgelesenen Genabschnitte. Bei der Transkriptomanalyse handelt es sich um die Untersuchung der mRNA, rRNA, tRNA und bei manchen Methoden auch der miRNA. Dabei gibt es je nach Fragestellung unterschiedliche Methoden. Für die qualitative Analyse wird die Sequenzierung durchgeführt, für die quantitative Messung stehen DNA-Microarrays zur Verfügung. Durch gewebespezifische genetische Regulationsmechanismen im Zusammenhang mit Umwelteinflüssen werden Genabschnitte in verschiedenem Gewebe unterschiedlich stark exprimiert. Die Überexpression von bestimmten Genen kann auf eine vermehrte Synthese der durch diese Gene kodierten Proteine hinweisen.

Proteomanalysen ermöglichen es, die in einer Gewebeprobe exprimierten Proteine zu erfassen. Dies ist wichtig, da die Transkriptome im Verlauf der Proteinbiosynthese modifiziert werden und die entstandenen Proteine nicht mit dem Transkriptom übereinstimmen [47].

Die Metabolomanalyse bietet mit ihren Techniken eine Möglichkeit, die aktuelle Stoffwechsellaktivität im Gewebe zu bestimmen.

1.3.2 Genexpressionsanalyse und POVf

Die Analyse der gewebespezifischen Genexpression gewinnt immer mehr an Bedeutung bei der Erforschung der Pathogenese vieler Erkrankungen. Das Wissen über veränderte Genexpression könnte zu neuen Erkenntnissen in der Pathophysiologie von POVf und der Identifikation bislang unbekannter Biomarker beitragen.

Es gibt bereits Untersuchungen der Genexpression im Myokard zum Zeitpunkt eines kardiochirurgischen Eingriffs. Arab et al. haben die myokardiale Genexpression bei Kindern während eines Eingriffs zum Verschluss des ventrikulären Septumdefekts untersucht [11]. Dabei

konnte gezeigt werden, dass das Myokard während der herbeigeführten Ischämie und Reperfusion mit deutlich veränderter Genexpression reagiert. Veränderte Expression fand sich bei Genen für Rezeptorproteine und deren Substrate, die an Signalwegen für das Zellwachstum beteiligt sind, in Genen, die mit Ischämie in Verbindung gebracht werden, wie das *Egr-1*-Gen, und bei weiteren Genen.

Kourliouros et al. haben Proteomanalysen von Vorhofohrgewebe, das während einer Bypassoperation gewonnen wurde, durchgeführt [71]. Die Analysen haben ergeben, dass, wie erwartet, bei Patienten mit POVf, Proteine, die mit oxidativem Stress und Apoptose in Zusammenhang stehen, und Komponenten der Akuten-Phase-Antwort vermehrt exprimiert waren.

Eine Transkriptomanalyse von Gewebe aus dem linken Vorhof von Schweinen, bei welchen eine Pneumektomie erfolgt ist, wurde durchgeführt und mit der Expression von nichtoperierten Schweinen verglichen. Eine über 1,5-fache Überexpression fand sich in 23 Genen, eine Unterexpression in 10 Genen. Am deutlichsten zeigte sich die verminderte Expression von KCNE1, eines für ein Kaliumkanal kodierenden Gens, welches vermutlich an der Entstehung von VHF und POVf beteiligt ist [52].

Dupont et al. untersuchten die Expression von Connexinen in Vorhofgewebeproben, die während der Bypassoperation gewonnen wurden, mittels Northern und Western Blot und stellten dabei eine signifikant erhöhte Expression des Connexin 40 fest [36].

1.4 Ziel dieser Arbeit

POVf hat schwerwiegende Folgen für den einzelnen Patienten und stellt auch aus gesundheitsökonomischer Sicht ein signifikantes Problem dar. Zukünftig sollten Risikopatienten sicherer von Patienten mit geringem Risiko unterschieden werden, um die Therapie individueller zu gestalten. Deshalb ist es wichtig, ein besseres Verständnis über die pathophysiologischen Mechanismen zu erhalten und nach weiteren diagnostischen Mitteln zu suchen. Spezifische Biomarker, wie sie heutzutage in der Diagnostik anderer Erkrankungen bereits eingesetzt werden, könnten auch die Möglichkeiten zur Risikoeinschätzung von POVf erweitern.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, mithilfe der Genexpressionsanalyse von Vorhofohrgewebe bei koronaren Bypasspatienten abweichende Expressionsmuster bei Personen, die POVf entwi-

1 Theoretischer Hintergrund

ckeln, zu erkennen und daraus sowohl Informationen zur Pathophysiologie zur Entstehung von POVF abzuleiten als auch potentielle Risikofaktoren zu identifizieren.

2 Material und Methoden

2.1 Aufbau der AFHRI-B Studie

2.1.1 Studiendesign

Die Ergebnisse dieser Arbeit basieren auf den Erhebungen und Untersuchungen von Gewebeproben im Rahmen der Atrial Fibrillation in High Risk Individuals-Biopsy (AFHRI-B)-Studie. Die AFHRI-B-Studie ist eine prospektive, monozentrische Kohortenstudie zur Verbesserung der Vorhersage des persönlichen Risikos für Vorhofflimmern. AFHRI-B ist eine Substudie der am Universitären Herzzentrum Hamburg durchgeführten klinischen Kohortenstudie (Clinical Cohort Study) mit Etablierung einer Biobank. Die AFHRI-B-Studie zeichnet sich aus durch zusätzliche Gewinnung von Gewebe bei Teilnehmern, die sich einem kardiovaskulären Eingriff unter Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine unterziehen.

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien sowie Studienabbruchskriterien

Voraussetzung für die Studienteilnahme war, dass die Teilnehmer sich einer koronaren Bypassoperation mit Unterstützung der Herz-Lungen-Maschine (ACB) unterziehen. Es wurden Patienten ausgewählt, die zur geplanten chirurgischen Versorgung am Universitären Herzzentrum Hamburg stationär aufgenommen wurden. Es wurden sowohl Patienten mit prävalentem VHF eingeschlossen, als auch solche, die keine Vorgeschichte zu VHF hatten.

Personen, die physisch oder psychisch nicht in der Lage waren, an der Studie teilzunehmen, wurden ausgeschlossen. Ebenfalls wurden Personen ausgeschlossen, die nicht über ausreichende Deutschkenntnisse verfügten, um die Einverständniserklärungen zu verstehen und am Interview teilzunehmen. Da wir uns auf nichtvalvuläres Vorhofflimmern fokussierten, wurden Individuen mit geplanter Klappenoperation oder hochgradigen Vitien ebenfalls nicht eingeschlossen. Studienteilnehmer, bei welchen im Verlauf der Operation ein Klappeneingriff erfolgte, wurden in der Analyse der Daten gesondert betrachtet.

Die Studienteilnahme ist freiwillig. Ein Studienteilnahmeabbruch würde erfolgen, wenn der Teilnehmer mündlich oder schriftlich das Einverständnis zur Studienteilnahme entzieht. Dies

kann jederzeit und ohne Nennung von Gründen erfolgen.

2.1.3 Einwilligungserklärungen

Insgesamt wurden von jedem Studienteilnehmer drei Einverständniserklärungen unterzeichnet:

1. Eine Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie mit der Befragung mittels Fragebogen, der klinischen Untersuchung, der Gewinnung und Aufbewahrung der Proben (Blut, Urin, Tränenflüssigkeit und Zahntaschenabstrich). Ein weiterer Punkt dieser Einverständniserklärung war die Entbindung des Hausarztes von der ärztlichen Schweigepflicht in Bezug auf studienrelevante Daten.
2. Die Einwilligungserklärung zu genetischen Untersuchungen der gewonnenen Biomaterialien. Zusätzlich wurde den Teilnehmern angeboten, über auffällige Befunde oder nur über auffällige Befunde mit einer Therapiemöglichkeit im Rahmen einer humangenetischen Beratung informiert zu werden.
3. Die Einwilligungserklärung zur Weitergabe von pseudonymisierten Biomaterialien und Daten an akademische und industrielle Kooperationspartner.

2.1.4 Ethische Aspekte

Die Durchführung der AFHRI-B-Studie als Substudie der Clinical Cohort Study wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg genehmigt.

2.2 Datenerhebung

2.2.1 Teilnehmerrekrutierung und Erhebung der Baselinedaten

Personen, die den Einschlusskriterien entsprachen, wurden über die Studie informiert und nach der Bereitschaft zur Teilnahme gefragt. Patienten, deren Eingriff am frühen Morgen geplant war, wurden am Vorabend angesprochen. Die für eine Operation am Nachmittag eingetragenen Patienten wurden am Morgen des gleichen Tages angesprochen.

2 Material und Methoden

Nach der Unterzeichnung der Einwilligungserklärungen wurden die Baselinedaten erhoben. Mit den Teilnehmern wurde ein Interview anhand eines ausführlichen Fragebogens nach dem Protokoll der Standard Operating Procedures (SOPs) der Clinical Cohort Study durchgeführt. Im Interview wurden bereits bekannte und mögliche Risikofaktoren für VHF, wie z.B. bestehende kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes mellitus, Rauchen, Hyperlipoproteinämie, psychosoziale Faktoren und Übergewicht erfragt. Informationen zu Vorerkrankungen und Risikofaktoren wurden anhand der elektronischen Patientenakte vervollständigt.

Zusätzlich wurde für die Biobank eine Mittelstrahlurinprobe gewonnen und eine venöse Blutentnahme durchgeführt. Das Blut und die Urinprobe wurden anschließend im Labor nach SOPs der Clinical Cohort Study verarbeitet und bei -80°C asserviert.

2.2.2 Intraoperative Datenerhebung und Gewinnung von Vorhofgewebe

Intraoperativ wurden ca. 30 Minuten vor dem Anschließen der Herz-Lungen-Maschine zusätzliche Parameter erhoben. Das beim Kanülieren des rechten Vorhofohres angefallene Gewebe wurde in einem Reagenzgefäß mit gekühltem, RNase-freiem PBS-Puffer aufgefangen und gewaschen. Anschließend wurde das gewaschene Vorhofgewebe mit einem Einmalskalpell durchgeschnitten, auf zwei Mikroreagenzgefäße verteilt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Der Transport zum Labor erfolgte in flüssigem Stickstoff. Anschließend wurden die Gewebeproben bei -80°C bis zur Verarbeitung gelagert.

2.2.3 Follow-up

Ein telefonisches Follow-up-Interview fand ca. 30 Tage nach dem Studieneinschluss statt. In diesem Interview wurden Veränderungen des Befindens und der Gewohnheiten sowie neu aufgetretene kardiovaskuläre Erkrankungen, unter anderem VHF, erfasst. Dazu wurde, wie bei dem Baselineinterview, ein standardisierter Fragebogen verwendet.

2.2.4 Elektrokardiogramm

Für jeden Studienteilnehmer wurden alle vorhandenen EKGs ausgedruckt, die im SOARIAN® CLINICALS, dem klinischen Arbeitsplatzsystem des Universitätsklinikums Hamburg-

Eppendorf, hinterlegt waren.

Die EKGs wurden in Bezug auf Rhythmus und Zeiten ausgewertet. Die EKGs wurden hierfür von zwei erfahrenen Untersuchern befundet. Bei Diskrepanzen in der Diagnose Vorhofflimmern wurde ein dritter Kardiologe oder Elektrophysiologe hinzugezogen. Die Diagnose von Vorhofflimmern wurde entsprechend internationalen Leitlinien gestellt [28].

2.2.5 Weitere Erhebungen

Aus den in der elektronischen Akte hinterlegten Dokumenten und Eintragungen wurden zusätzliche Informationen gewonnen:

Der Entlassungsbericht aus dem Universitären Herzzentrum wurde nach Angaben zu VHF in der Vorgeschichte, während des Klinikaufenthaltes neu aufgetretenem VHF, überstandem Myokardinfarkt sowie diagnostizierter Hyperlipoproteinämie untersucht. Der Entlassungsbericht der Intensivstation lieferte ergänzende Informationen zu postoperativ aufgetretenem Vorhofflimmern, der postoperativen Gabe von Katecholaminen und der Nachbeatmungszeit. Die linksventrikuläre Pumpfunktion konnte aus prä- und postoperativen Echokardiographieberichten entnommen werden. Die Klemmzeit der Aorta stammt aus dem Herz-Lungen-Maschinen-Protokoll. Aus den OP-Protokollen wurde die Angabe über die Beatmungszeit während der Operation aus den Zeiten vom Ende und Beginn der Narkose berechnet. Als präoperativer Wert für das C-reaktive Protein (CRP) wurde der letzte vorhandene Wert vor der Operation verwendet.

2.2.6 Endpunkte

Die primären Endpunkte dieser Arbeit sind das prävalente VHF und erstmalig nach dem Eingriff aufgetretene VHF, also postoperative VHF (POVF).

Als prävalentes VHF wurde definiert: eigenanamnestisch im Erstinterview angegebenes VHF, im Entlassungsbericht dokumentiertes, vorbestehendes VHF und/oder VHF im präoperativ aufgezeichneten EKG oder intraoperativ bei Entnahme des Vorhofohrgewebes bestehendes VHF. Als neu aufgetretenes VHF gilt im telefonischen Follow-up berichtetes postoperatives VHF, eine Angabe über POVF im Entlassungsbericht des Universitären Herzzentrums, Verle-

gungsbericht der Intensivstation und/oder im postoperativ geschriebenen EKG bei fehlender Vorgeschichte zu VHF.

2.2.7 Datenmanagement

Die erhobenen Daten wurden pseudonymisiert. Baselinedaten, klinische Daten und Biomaterialien werden getrennt voneinander aufbewahrt. Die Dateneingabe erfolgte manuell in eine mit Fehlergrenzen und Plausibilitätschecks programmierte Datenmaske und wurde automatisch in die Datenbank transferiert. Die Daten wurden einer Qualitätskontrolle unterzogen.

2.3 Genexpressionsanalysen

2.3.1 Geräte, Kits, Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial

Geräte	Hersteller
Array-Scanner GeneChip® Scanner 3000 7G	Affymetrix, Santa Clara USA
Autoloader GeneChip® AutoLoader	Affymetrix, Santa Clara USA
Flüssigkeitsstation Wasch-Station GeneChip® Fluidics Station 450	Affymetrix, Santa Clara USA
Gewebezerkleinerer TissueLyser®	Qiagen, Hilden
Heizblöcke	
Hybridisierofen GeneChip® Hybridization Oven 640	Affymetrix, Santa Clara USA
PCR Gerät 96-Well GeneApp® PCR System 9700	Applied Biosystems, Foster City USA
Mikropipetten	
Plattenshaker	
Schüttelgerät VortexGenie®	Scientific Industries, New York, USA
Spektralphotometer NanoDrop 2000c	Thermo Scientific, Waltham USA
Zentrifuge Centrifuge 5804/5804 R	Eppendorf, Hamburg
Zentrifugeneinsatz für 2 ml Microreaktionsgefäße	
Zentrifugeneinsatz für 96-Well Platten	

2 Material und Methoden

Software

CheneChip® Command Console® (AGCC)
Nanodrop 2000/2000c Software
Soarian Clinicals
R-3.2.2

Hersteller

Affymetrix, Santa Clara USA
Thermo Scientific, Waltham USA
Siemens, München
Lucent Technologies, Vienna Australien

Kits

GeneChip® Hybridization, Wash and Stain Kit
GeneChip® WT Terminal Labeling Kit
miRNeasy Mini Kit
The Ambion® WT Expression Kit

Hersteller

Affymetrix, Santa Clara USA
Affymetrix, Santa Clara USA
Qiagen, Hilden
Affymetrix, Santa Clara USA

Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial

Chloroform
Dekontaminationslösung RNaseZap®
Ethanol 70%
Ethanol 100%
Flüssigstickstoff
Genchips GeneChip® Human Exon 1.0 ST Array
Isopropanol 100%
Magnetische Platte
Mikroreagenzgefäße (1,5 ml; 2 ml) mit Sicherheitsverschluss
Mörser
Pipettenspitzen
Stahlkugeln Stainless Steel Beads, 5 mm®

Hersteller

Life Technologies, Carlsbad USA

Affymetrix, Santa Clara USA

Eppendorf, Hamburg

Qiagen, Hilden

2.3.2 Vorbereitung der Gewebeproben

Die Proben wurden während der folgenden Arbeitsschritte in einem Behälter mit Eis gekühlt. Bei längeren Pausen wurden die Proben im Gefrierschrank bei -80°C aufbewahrt. Die Arbeitsfläche wurde zur Vermeidung von Kontamination mit RNase mit RNaseZap® abgewischt. Die Konzentration und Qualität der RNA und DNA wurden mit dem Spektralphotometer bei

260nm und 280nm bestimmt. Für jede Probe wurde die Konzentration doppelt bestimmt und aus den beiden Konzentrationen der Mittelwert gebildet. Der Quotient der Absorption bei 260nm und 280nm gibt die Reinheit der RNA an und sollte zwischen 1,9 und 2,1 liegen.

Die Gewebeproben wurden in flüssigem Stickstoff gefroren und in einem stickstoffgefüllten Mörser gebrochen. Von den gebrochenen Proben wurde jeweils 2×50 mg abgewogen. Für die Gewebeproben jedes Teilnehmers wurden Genexpressionsanalysen doppelt, mit jeweils separaten Kits, durchgeführt.

2.3.3 Gewinnung von RNA aus den Gewebeproben

Der Aufschluss der Vorhofproben und die Aufreinigung von mRNA und miRNA erfolgte mit Hilfe des MIRNEASY® MINI KITS nach dem Protokoll „Purification of Total RNA, Including Small RNAs, from Animal Tissues“ des miRNeasy Mini Handbook 07/2012 von QIAGEN® [109].

Die Gewebeproben wurden mit Edelstahlkugeln im Tissuelyser zerrissen und homogenisiert. Dazu wurde die Lysereagenz des MIRNEASY® MINI KIT verwendet, welche die Lyse des Gewebes sowie die organische Extraktion von Proteinen und DNA bewirkt und RNasen inhibiert. Zu dem Homogenat wurde Chloroform hinzugefügt und die Lösung zentrifugiert. Durch das Zentrifugieren werden drei Phasen gebildet. Dabei handelt es sich um eine RNA-haltige, wässrige Phase, eine DNA-haltige Zwischenphase und eine organische Phase mit Proteinen. Die obere, RNA-haltige Phase wurde unter Schonung der Zwischenphase entnommen und in ein Mikroreaktionsgefäß mit einer Silicamembran gegeben. Um günstige Bindungsverhältnisse für die Bindung der RNA an die Membran zu schaffen, wurde Ethanol hinzugefügt. Das anschließende Zentrifugieren bewirkt die Bindung der RNA an die Silicamembran. Die abzentrifugierte Flüssigkeit wurde verworfen. Das Lösen der RNA von der Membran erfolgte mit RNase-freiem Wasser. Zuletzt wurde die Konzentration und Qualität der RNA im Eluat bestimmt.

2.3.4 Umwandlung der RNA in cDNA

Nach der erfolgreichen Extraktion der RNA aus dem Gewebe fand die Umschreibung der RNA in cDNA in mehreren Arbeitsschritten statt. Anschließend wurden in die cDNA dUTPs und dTTPs eingefügt. Dies erfolgte mit dem THE AMBION® WT EXPRESSION KIT nach Herstellerprotokoll. Die während der folgenden Arbeitsschritte notwendige Inkubation wurde im PCR-Gerät nach dem im Protokoll vorgegebenen Programm durchgeführt. Von jeder Probe wurde 250ng RNA eingesetzt.

Zuerst wurde unter Zugabe eines Mastermixes RNA durch reverse Transkription in Einzelstrang-cDNA umgeschrieben. Von den entstandenen cDNA-Einzelsträngen wurden im nächsten Schritt die Zweitstränge transkribiert. Hierfür wurde ein weiterer Mastermix eingesetzt, der DNA-Polymerasen und RNasen H enthält. Weiter wurde die Zweitstrang-cDNA unter Zugabe eines dritten Mastermixes in Gegenstrang-cRNA, also die zu den ursprünglichen RNA-Strängen komplementären Stränge, umgeschrieben. Anschließend wurde der cRNA Binding Mix zur Aufreinigung der cRNA eingesetzt. Die Aufreinigung erfolgt, indem zuerst die cRNA an magnetische Partikel bindet, die mit Hilfe eines Magnets an den Boden der Mikroreaktionsgefäße gebracht werden. Der Überstand mit den Abfallprodukten wird verworfen und die cRNA anschließend mit einer Elutionslösung von den magnetischen Partikeln gelöst.

Hiernach wurde die Konzentration und Qualität der cRNA bestimmt.

Als nächstes wurde die cRNA mit Hilfe von zufälligen Primern in cDNA transkribiert. Dabei wurden dUTPs und dTTPs in einem bestimmten Verhältnis zueinander in die cDNA eingebracht. Mit Hilfe von RNase H wurde im nächsten Schritt die cRNA von dem cDNA-Strang entfernt. Die Aufreinigung der cDNA erfolgte wie bei der cRNA mit Hilfe von magnetischen Partikeln des cDNA Binding Mixes.

An dieser Stelle erfolgte erneut eine Konzentrations- und Qualitätskontrolle.

2.3.5 Fragmentierung, Labeling und Hybridisierung

Die Fragmentierung und Markierung (Labeling) der DNA-Einzelstränge erfolgten mit dem GENECHIP® WT TERMINAL LABELING KIT, die Hybridisierung nach dem GENECHIP® HYBRIDIZATION, WASH AND STAIN KIT nach dem GENECHIP® WT TERMINAL LABE-

LING AND HYBRIDIZATION USER MANUAL von Affymetrix.

Zur Fragmentierung wurde ein Fragmentation Master Mix eingesetzt. Die im Mastermix enthaltene Uracil-DNA-Glycosylase (UDG) mit der AP-Endonuklease I (APE I) erkennt die zuvor eingebrachten dUTPs und schneidet die DNA an diesen Stellen.

Die so entstandenen Fragmente werden dann mit Biotin markiert, indem eine im DNA Labeling Reagent enthaltene, kovalent an Biotin gebundene Verbindung durch die terminale Desoxyribonukleotidyltransferase (TdT) an die DNA übertragen wird.

Zur Hybridisierung wurde die fragmentierte und markierte DNA zusammen mit Kontroll-Oligonukleotiden und einem Hybridisierungs-Mastermix auf die Genchips gebracht und 16 Stunden im Hybridisierofen inkubiert.

2.3.6 Färbung und Waschung

Die Färbung der Genchips wurde in der Waschstation durchgeführt. Die Kontrolle der Waschstation erfolgte mit der Software CHENECHIP® COMMAND CONSOLE® (AGCC) von Affymetrix nach Anleitung. Zur Färbung und Waschung wurden zwei Färbecocktails und ein Waschpuffer aus dem GENECHIP® HYBRIDIZATION, WASH AND STAIN KIT genutzt.

Nach erfolgter Färbung wurden die Chips im Scanner ausgelesen, welcher ebenfalls mit der CHENECHIP® COMMAND CONSOLE® (AGCC) Software gesteuert wird.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Programmiersprache R, Version 3.2.2. Die Ausgangscharakteristika wurden für kontinuierliche Variablen als Median, 25. und 75. Perzentile und für kategoriale Variablen als absolute und relative Häufigkeiten dargestellt. Pearson Korrelationen wurden für ausgewählte Variablen berechnet und als Heatmap dargestellt. Es wurden uni- und bivariable binär logistische Regressionsanalysen für VHF versus kein VHF und POVf, für VHF versus kein VHF und für POVf versus kein VHF durchgeführt. Für das Modell wurden die Variablen Alter zum Zeitpunkt der Operation, Body-mass-index, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, systolischer Blutdruck, Dyslipidämie, Rauchverhalten und Herzinsuffizienz verwendet. Univariate Modelle wurden für jede einzelne dieser Variablen

berechnet.

2.5 Bioinformatische Auswertung der Genexpressionsanalysen

Für die bioinformatischen Analysen wurde ebenfalls die Statistiksprache R verwendet. Die Microarrays wurden unter Verwendung des R-Paketes 'xps' eingelesen. Alle Gene, die in mindestens 50% der prävalenten VHF Fälle und 50% der Kontrollen signifikant exprimiert waren, wurden für die folgenden Analysen verwendet. Es wurden insgesamt 16286 Gene verwendet. Die differenzielle Genexpression zwischen POVf und Kontrollen, bzw. zwischen prävalentem VHF und Kontrollen wurde mit Hilfe von linearer Regression unter Adjustierung auf das Alter berechnet. Hierfür wurde das R-Paket 'limma' verwendet. Alle Gene mit einem Fold Change > 2 und einem p-Wert $< 0,05$ wurden in den Ergebnissen berücksichtigt. Um biologische Zusammenhänge zwischen differenziell exprimierten Genen zu erkennen, wurden Pathway-Analysen mit dem WEB-BASED GENE SET ANALYSIS TOOLKIT von WebGestalt® [125] durchgeführt.

2.6 Hilfen

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Hilfe von Francisco Ojeda Echevarria, Universitäres Herzzentrum Hamburg.

Die bioinformatische Auswertung der Daten erfolgte mit der Hilfe von Christian Müller, Universitäres Herzzentrum Hamburg.

3 Ergebnisse

3.1 Darstellung des Patientenkollektivs

3.1.1 Ausgangscharakteristika

Insgesamt konnten 80 Teilnehmer in die Studie eingeschlossen werden, davon waren 77 männlich. Das durchschnittliche Alter zum Studienbeginn lag bei 66 Jahren. Bei 13 (16%) Studienteilnehmern wurde bereits vor Studieneinschluss VHF diagnostiziert (prävalentes VHF). Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses standen die Teilnehmer unmittelbar vor einer koronaren Bypassoperation.

Tabelle 1: Ausgangscharakteristika des an der Studie teilgenommenen Gesamtkollektivs und der Untergruppen (kein VHF, prävalentes VHF und POVf)

	Gesamtkollektiv (N=80)	Kein VHF (N=53)	Prävalentes VHF (N=13)	POVF (N=14)
Alter (Jahre)	66 (57, 72)	63 (56, 70)	72 (69, 76)	70 (61, 74)
Männlich (%)	77 (96)	51 (96)	13 (100)	13 (93)
Body-mass-index (kg/m ²)	28 (25, 30)	28 (25, 30)	28 (25, 31)	28 (26, 35)
Arterielle Hypertonie (%)	50 (64)	34 (65)	7 (59)	9 (64)
Systolischer Blutdruck (mmHg)	130 (120, 140)	128 (111, 140)	134 (120, 153)	130 (125, 140)
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	75 (70, 80)	76 (71, 80)	78 (72, 84)	70 (60, 83)
Diabetes mellitus (%)	22 (28)	14 (26)	3 (23)	5 (36)
Dyslipidämie (%)	44 (55)	28 (53)	9 (69)	7 (50)
Raucher (%)	24 (30)	16 (30)	3 (23)	5 (36)
Ehemalige Raucher(%)	39 (49)	24 (45)	7 (53)	8 (57)
Myokardinfarkt (%)	34 (43)	23 (44)	5 (39)	6 (43)
Herzinsuffizienz (%)	17 (22)	9 (17)	6 (50)	2 (14)
Prävalentes VHF (%)	13 (16)	0 (0)	13 (100)	0 (0)
Prävalentes VHF im EKG* (%)	3 (6)	0 (0)	3 (50)	0 (0)
POVF (%)	23 (29)	0 (0)	9 (69)	14 (100)
POVF im EKG** (%)	14 (18)	0 (0)	7 (54)	7 (50)
Statineinnahme (%)	42 (53)	28 (53)	6 (46)	8 (57)
% Fibrose (%)	17 (14, 19)	17 (14, 20)	19 (16, 26)	15 (12, 18)

*Kontinuierliche Daten sind als Median und (25., 75. Perzentile) dargestellt, dichotome Variablen als Anzahl (%). *Prävalentes VHF bei Studienbeginn im EKG dokumentiert. ** POVf postoperativ im EKG dokumentiert.*

Die Teilnehmer, die POVf entwickelt haben, waren im Durchschnitt älter als diejenigen, die

3 Ergebnisse

postoperativ im Sinusrhythmus waren, jedoch jünger als die Teilnehmer, die bereits vor dem Studieneinschluss diagnostiziertes VHF hatten. Von den 77 männlichen Teilnehmern blieben 51 postoperativ im Sinusrhythmus, 13 hatten prävalentes VHF und 14 haben POVF entwickelt. Weitere Ausgangscharakteristika, die zu Studienbeginn erhoben wurden, sind in Tabelle 1 aufgeführt.

3.1.2 Untersuchung möglicher Risikofaktoren für VHF und POVF

Die Korrelationen nach Pearson zeigten für vor Studieneinschluss bestehendes VHF Zusammenhänge mit dem Alter zum Studienbeginn 0,28 ($p < 0,05$) und Herzinsuffizienz 0,20 ($p < 0,05$). Weitere Zusammenhänge ergaben sich zwischen Alter und Dyslipidämie, BMI und systolischem Blutdruck, Dyslipidämie und Statineinnahme und Dyslipidämie und arterieller Hypertonie (Abbildung 1).

3 Ergebnisse

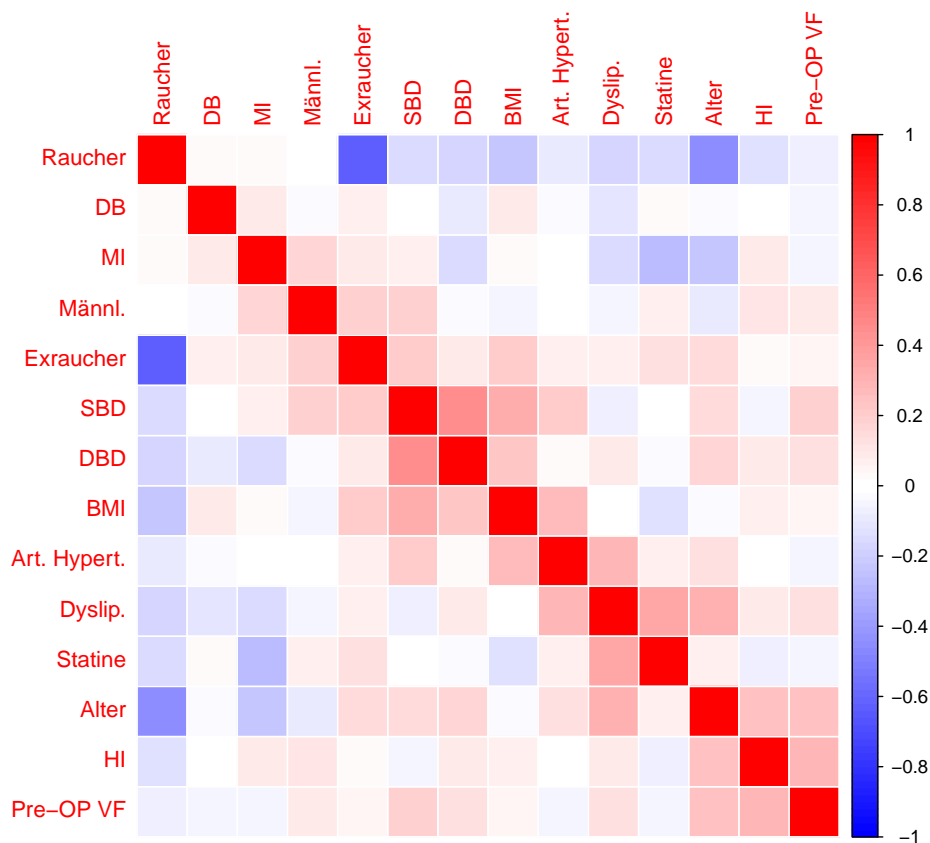


Abbildung 1: Ergebnisse der Pearson-Korrelation zwischen den Ausgangscharakteristika

Abkürzungen der Abbildung 1: DB: Diabetes Mellitus II, MI: Myokardinfarkt, Männl.: Männlich, SBD: systolischer Blutdruck, DBD: diastolischer Blutdruck, BMI: Body Mass Index, Art.Hypert. Arterielle Hypertonie, Dyslip.: Dyslipidämie, Statine: Einnahme von Statinen, HI: Herzinsuffizienz, Pre-OP VF: VHF welches bereits vor Studieneinschluss bestanden hat.

Die Intensität der Farbe entspricht der Größe des Spearman Korrelationskoeffizienten.

Die Korrelationen nach Pearson zeigten für POVF die stärksten Zusammenhänge mit dem Alter zum Studienbeginn 0,23 ($p = 0,06$) und dem BMI 0,17 ($p = 0,17$). Weitere Zusammenhänge ergaben sich zwischen dem systolischen Blutdruck und dem BMI, Alter zum Studienbeginn und arterieller Hypertonie, Dyslipidämie und der Statineinnahme, Dyslipidämie

3 Ergebnisse

und Alter zum Studienbeginn, BMI und arterieller Hypertonie, Dyslipidämie und arterieller Hypertonie, sowie dem systolischen und diastolischen Blutdruck (Abbildung 2).

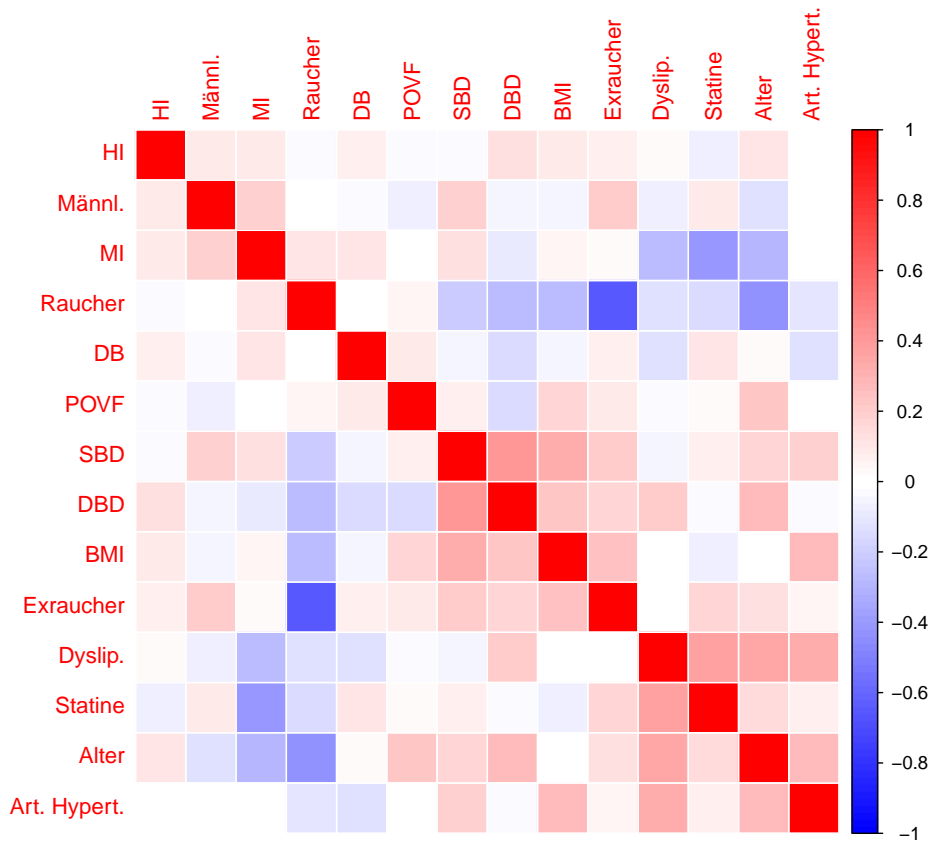


Abbildung 2: Ergebnisse der Pearson-Korrelation zwischen den Ausgangscharakteristika

Abkürzungen der Abbildung 2: DB: Diabetes Mellitus II, MI: Myokardinfarkt, Männl.: Männlich, SBD: systolischer Blutdruck, DBD: diastolischer Blutdruck, BMI: Body Mass Index, Art.Hypert. Arterielle Hypertonie, Dyslip.: Dyslipidämie, Statine: Einnahme von Statinen, HI: Herzinsuffizienz.

Die Intensität der Farbe entspricht der Größe des Spearman Korrelationskoeffizienten.

Um die Assoziation von kardiovaskulären Risikofaktoren auf VHF zu untersuchen, wurden binäre logistische Regressionsanalysen durchgeführt. Es wurde je ein multivariablen Regressionsmodell für prävalentes VHF versus kein VHF und POVf (Tabelle 2), für prävalentes VHF

3 Ergebnisse

versus kein VHF (Tabelle 3) und für POVf versus kein VHF (Tabelle 4) erstellt. Multivariable Regressionsanalysen wurden für Individuen mit vollständiger Anzahl an Variablen durchgeführt. Da nicht zu jedem Studienteilnehmer alle Variablen bekannt waren, wurden die Analysen für 58 (VHF versus kein VHF und POVf), 49 (VHF versus kein VHF) und 50 Individuen (POVf versus kein VHF) durchgeführt. Die univariablen logistischen Regressionsanalysen (Tabelle 5 bis 7) wurden durchgeführt, weil der empfohlene Wert von 10 [91] für die Zahl der Ereignisse pro Variable (events per variable, EPV) in keiner der multivariablen Regressionsanalysen erreicht wurde. Die Odds Ratio (OR) beschreibt bei Vorliegen einer Variablen, hier z.B. Herzinsuffizienz, die Chance für das Auftreten eines Ereignisses, hier prävalentes VHF, an. Die Berechnung der OR pro Standardabweichung (OR pro SD) ist eine Möglichkeit die OR von Kovariablen, die unterschiedliche Maßeinheiten haben, zu vergleichen.

Das multivariable Regressionsmodell für prävalentes VHF versus kein VHF und POVf (Tabelle 2) und für prävalentes VHF versus kein VHF (Tabelle 3) zeigte keine Veränderungen auf einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Das multivariable Regressionsmodell für POVf versus kein VHF (Tabelle 4) ergab für die Variable Alter (Jahre) eine OR von 1,19 und eine OR pro SD von 4,47 und für die Variable Raucher (%) eine OR von 13,26 und eine OR pro SD von 3,5 ($p < 0,05$).

Das univariabel adjustierte Regressionsmodell für prävalentes VHF versus kein VHF und POVf (Tabelle 5) zeigte für die Variable Herzinsuffizienz (%) eine signifikant erhöhte OR von 7,33 und OR pro SD von 2,14 ($p < 0,05$). Das univariable Regressionsmodell für prävalentes VHF versus kein VHF (Tabelle 6) zeigte ebenfalls für die Variable Herzinsuffizienz (%) eine signifikant erhöhte OR von 7,20 und OR pro SD von 2,16 ($p < 0,05$). Das univariable Regressionsmodell für POVf versus kein VHF (Tabelle 7) zeigte keine signifikanten Veränderungen.

3.1.3 Operationstypen im Bezug auf VHF und POVf und vorhandene Gewebeproben

Das Ziel war es, diejenigen Patienten in die Studie aufzunehmen, bei denen eine Bypassoperation mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine (ACB), ohne Eingriff an den Herzklappen, geplant war. Bei einigen Teilnehmern wurde, nach erneuter kardiochirurgischer Eva-

3 Ergebnisse

Tabelle 2: Binär logistische multivariable Regressionsanalysen für prävalentes VHF versus kein VHF und POVf

	OR* (95% KI** VHF/ kein VHF und POVf	OR* pro SD*** (95% KI**)	P-Wert
Alter (Jahre)	1.03 (0.91, 1.22)	1.33 (0.41, 6.00)	0.66
Body-mass-index (kg/m ²)	1.18 (0.87, 1.62)	1.75 (0.62, 5.10)	0.28
Arterielle Hypertonie (%)	0.39 (0.05, 3.26)	0.65 (0.24, 1.72)	0.37
Diabetes mellitus (%)	0.96 (0.08, 7.66)	0.98 (0.32, 2.46)	0.97
Systolischer Blutdruck (mmHg)	1.03 (0.97, 1.13)	1.86 (0.55, 10.60)	0.41
Dyslipidämie (%)	2.17 (0.29, 22.99)	1.47 (0.54, 4.75)	0.47
Raucher (%)	1.53 (0.12, 16.86)	1.23 (0.36, 3.87)	0.73
Herzinsuffizienz (%)	6.98 (0.99, 59.56)	2.10 (1.00, 4.75)	0.05

*Ergebnis eines Regressionsmodells für die dargestellten Variablen. Zur Berechnung dieses Modells wurden 58 Individuen herangezogen, von denen 8 prävalentes VHF hatten. Die Zahl der Ereignisse pro Variable (events per variable, EPV) betrug 0,9. * Odds Ratio, ** Konfidenzintervall, *** Standardabweichung*

Tabelle 3: Binär logistische multivariable Regressionsanalysen für prävalentes VHF versus kein VHF

	OR* (95% KI**) VHF/kein VHF	OR* pro SD*** (95% KI**)	P-Wert
Alter (Jahre)	1.08 (0.94, 1.30)	1.99 (0.56, 10.76)	0.34
Body-mass-index (kg/m ²)	1.21 (0.87, 1.73)	1.91 (0.61, 6.46)	0.26
Arterielle Hypertonie (%)	0.17 (0.01, 1.91)	0.44 (0.12, 1.34)	0.17
Diabetes mellitus (%)	0.88 (0.05, 9.70)	0.95 (0.27, 2.68)	0.92
Systolischer Blutdruck (mmHg)	1.05 (0.98, 1.17)	2.81 (0.60, 27.10)	0.28
Dyslipidämie (%)	3.59 (0.38, 69.10)	1.89 (0.62, 8.19)	0.31
Raucher (%)	8.17 (0.45, 187.78)	2.66 (0.69, 11.45)	0.15
Herzinsuffizienz (%)	11.33 (1.13, 217.20)	2.59 (1.05, 8.21)	0.06

*Ergebnis eines Regressionsmodells für die dargestellten Variablen. Zur Berechnung dieses Modells wurden 49 Individuen herangezogen, von denen 8 prävalentes VHF hatten. Die Zahl der Ereignisse pro Variable (events per variable, EPV) betrug 0,9. * Odds Ratio, ** Konfidenzintervall, *** Standardabweichung*

3 Ergebnisse

Tabelle 4: Binär logistische multivariable Regressionsanalysen für POVf versus kein VHF

	OR* (95% KI**)	OR* pro SD***	P-Wert
	POVF/kein VHF	(95% KI**)	
Alter (Jahre)	1.19 (1.03, 1.45)	4.47 (1.30, 23.35)	0.04
Body-mass-index (kg/m ²)	1.14 (0.86, 1.55)	1.52 (0.62, 3.98)	0.36
Arterielle Hypertonie (%)	0.67 (0.08, 5.83)	0.84 (0.32, 2.22)	0.71
Diabetes mellitus (%)	1.69 (0.27, 9.62)	1.26 (0.56, 2.73)	0.55
Systolischer Blutdruck (mmHg)	1.01 (0.96, 1.08)	1.27 (0.49, 4.31)	0.65
Dyslipidämie (%)	0.59 (0.05, 5.03)	0.77 (0.23, 2.25)	0.64
Raucher (%)	13.26 (1.72, 161.86)	3.50 (1.30, 11.78)	0.02
Herzinsuffizienz (%)	0.52 (0.02, 6.37)	0.81 (0.26, 1.84)	0.65

*Ergebnis eines Regressionsmodells für die dargestellten Variablen. Zur Berechnung dieses Modells wurden 50 Individuen herangezogen, von denen 9 POVf hatten. Die Zahl der Ereignisse pro Variable (events per variable, EPV) betrug 1. * Odds Ratio,*

*** Konfidenzintervall, *** Standardabweichung*

Tabelle 5: Binär logistische univariable Regressionsanalysen für prävalentes VHF versus kein VHF und POVf

	OR* (95% KI**)	OR* pro SD***	P-Wert
	VHF/ kein VHF und POVf	(95% KI**)	
Alter (Jahre)	1.06 (0.97, 1.19)	1.72 (0.77, 4.57)	0.22
Body-mass-index (kg/m ²)	1.17 (0.94, 1.46)	1.68 (0.81, 3.61)	0.16
Arterielle Hypertonie (%)	0.65 (0.14, 3.49)	0.82 (0.40, 1.78)	0.59
Diabetes mellitus (%)	0.95 (0.13, 4.74)	0.98 (0.40, 1.99)	0.95
Systolischer Blutdruck (mmHg)	1.02 (0.98, 1.07)	1.45 (0.66, 3.79)	0.40
Dyslipidämie (%)	2.36 (0.49, 17.17)	1.53 (0.70, 4.11)	0.32
Raucher (%)	0.59 (0.08, 2.89)	0.78 (0.30, 1.66)	0.55
Herzinsuffizienz (%)	7.33 (1.42, 39.74)	2.14 (1.14, 4.07)	0.02

*Ergebnisse von univariablen Regressionsanalysen, dabei stellt jede Zeile ein eigenständiges Modell dar. * Odds Ratio, ** Konfidenzintervall, *** Standardabweichung*

3 Ergebnisse

Tabelle 6: Binär logistische univariable Regressionsanalysen für prävalentes VHF versus kein VHF

	OR* (95% KI**)	OR* pro SD***	P-Wert
	VHF/kein VHF	(95% KI**)	
Alter (Jahre)	1.07 (0.98, 1.20)	1.86 (0.81, 5.12)	0.18
Body-mass-index (kg/m^2)	1.18 (0.94, 1.50)	1.73 (0.82, 3.94)	0.16
Arterielle Hypertonie (%)	0.61 (0.13, 3.37)	0.80 (0.39, 1.74)	0.54
Diabetes mellitus (%)	1.03 (0.14, 5.37)	1.01 (0.42, 2.08)	0.97
Systolischer Blutdruck (mmHg)	1.02 (0.98, 1.07)	1.48 (0.67, 3.88)	0.37
Dyslipidämie (%)	2.35 (0.47, 17.35)	1.53 (0.69, 4.13)	0.33
Raucher (%)	0.72 (0.10, 3.63)	0.86 (0.34, 1.82)	0.71
Herzinsuffizienz (%)	7.20 (1.34, 41.15)	2.16 (1.12, 4.28)	0.02

Ergebnisse von univariablen Regressionsanalysen, dabei stellt jede Zeile ein eigenständiges Modell dar. * Odds Ratio, ** Konfidenzintervall, *** Standardabweichung

Tabelle 7: Binär logistische univariable Regressionsanalysen für POVf versus kein VHF

	OR* (95% KI**)	OR* pro SD***	P-Wert
	POVf/kein VHF	(95% KI**)	
Alter (Jahre)	1.06 (0.97, 1.18)	1.62 (0.75, 4.04)	0.25
Body-mass-index (kg/m^2)	1.03 (0.81, 1.30)	1.09 (0.52, 2.27)	0.81
Arterielle Hypertonie (%)	0.73 (0.16, 3.94)	0.87 (0.44, 1.86)	0.69
Diabetes mellitus (%)	1.55 (0.29, 7.11)	1.21 (0.57, 2.38)	0.58
Systolischer Blutdruck (mmHg)	1.01 (0.97, 1.06)	1.23 (0.59, 2.96)	0.61
Dyslipidämie (%)	0.98 (0.23, 4.46)	0.99 (0.47, 2.12)	0.98
Raucher (%)	2.69 (0.62, 12.53)	1.62 (0.79, 3.41)	0.19
Herzinsuffizienz (%)	0.90 (0.04, 6.69)	0.97 (0.36, 1.87)	0.93

Ergebnisse von univariablen Regressionsanalysen, dabei stellt jede Zeile ein eigenständiges Modell dar. * Odds Ratio, ** Konfidenzintervall, *** Standardabweichung

3 Ergebnisse

luation, kurzfristig beschlossen in Off-Pump-Technik (OPCAB) zu operieren oder zusätzlich eine Operation der Aortenklappe durchzuführen. Insgesamt haben 64 Studienteilnehmer eine ACB-Operation erhalten, 10 wurden in der OPCAB-Technik operiert und 6 haben einen kombinierten ACB Eingriff mit Aortenklappenersatz (AKE) erhalten.

Es konnten Gewebeproben von 50 Teilnehmern gewonnen werden. Da die OPCAB-Technik ohne Herz-Lungen-Maschine auskommt und somit keine Kanülierung des rechten Vorhofohres erfolgt, konnte bei diesen Teilnehmern kein Gewebe gewonnen werden. Von denjenigen Teilnehmern, die zusätzlich zur ACB-Operation einen AKE erhalten haben, wurde das Gewebe ebenfalls asserviert und untersucht. Insgesamt konnte nicht von allen ACB und ACB mit AKE operierten Patienten Gewebe gewonnen werden. Beispielsweise war dies bei Patienten mit sehr kleinen Vorhöfen nicht möglich.

Tabelle 8: Anzahl der asservierten Gewebeproben zugeordnet zu den Operationstechniken und zu dem Herzrhythmus

	Kein VHF	Prävalentes VHF	POVF	Gesamt
ACB*	31	8	7	46
ACB mit AKE**	2	1	1	4
OPCAB***	0	0	0	0

*Aortokoronarer Bypass, **Aortenklappenersatz, ***Off-Pump-Coronary-Artery-Bypass (aortokoronarer Bypass ohne Einsatz der Herz-Lungen-Maschine)

3.2 Konzentrationsbestimmungen und Qualitätskontrollen der RNA, cRNA und cDNA

Insgesamt konnte aus 51 Vorhofgewebeproben RNA gewonnen werden. Bei allen RNA Proben lag der Absorptionsquotient im erstrebten Bereich zwischen 1,9 und 2,1. Die niedrigste gemessene Konzentration betrug 76 ng/μl, die höchste 897 ng/μl (Tabelle 9).

Die Qualitätskontrolle der cRNA nach dem nächsten Schritt ergab ebenfalls Absorptionsquotienten im erstrebten Bereich zwischen 1,9 und 2,1. Die niedrigste gemessene Konzentration lag bei 510 ng/μl, die höchste bei 2569 ng/μl (Tabelle 10).

Die Qualitätskontrolle der cDNA zeigte ebenfalls Absorptionsquotienten im Bereich zwi-

3 Ergebnisse

Tabelle 9: RNA Konzentrationsbestimmung

Teilnehmer ID	Konzentration in ng/ μ l	260/280*	Teilnehmer ID	Konzentration in ng/ μ l	260/280*
AT 10001	597	2,0	AT 10053	339	2,0
AT 10002	471	2,0	AT 10054	869	2,0
AT 10003	337	2,0	AT 10055	628	2,0
AT 10004	597	2,0	AT 10056	585	2,0
AT 10007	418	2,0	AT 10061	519	1,9
AT 10009	655	2,0	AT 10062	864	2,0
AT 10010	443	2,0	AT 10065	710	2,0
AT 10012	577	2,0	AT 10067	634	2,0
AT 10014	179	2,0	AT 10071	547	2,0
AT 10016	76	2,0	AT 10075	675	2,0
AT 10017	340	2,0	AT 10076	523	2,0
AT 10018	476	2,0	AT 10077	790	2,0
AT 10019	606	1,9	AT 10078	897	2,0
AT 10025	715	2,0	AT 10079	681	2,0
AT 10026	637	2,0	AT 10080	461	2,0
AT 10027	488	2,0	AT 10081	573	2,0
AT 10028	629	2,0	AT 10084	581	2,0
AT 10031	519	1,9	AT 10085	703	2,0
AT 10036	564	2,0	AT 10087	558	2,0
AT 10037	595	2,0	AT 10089	662	2,0
AT 10040	661	2,0	AT 10090	565	2,0
AT 10047	630	2,0	AT 10095	707	2,0
AT 10048	499	2,0	AT 10096	654	2,0
AT 10049	452	2,0	AT 10097	471	2,0
AT 10050	371	2,0	AT 10098	586	2,0
AT 10051	616	2,0			

* *Absorptionsquotient*

3 Ergebnisse

Tabelle 10: cRNA Konzentrationsbestimmung

Teilnehmer ID	Konzentration in ng/μl	260/280*	Teilnehmer ID	Konzentration in ng/μl	260/280*
AT 10001	510	2,0	AT 10053	882	2,2
AT 10002	892	2,1	AT 10054	625	2,1
AT 10003	1057	2,1	AT 10055	1455	2,2
AT 10004	777	2,1	AT 10056	1411	2,2
AT 10007	693	2,1	AT 10061	1516	2,1
AT 10009	976	2,1	AT 10062	2065	2,2
AT 10010	926	2,1	AT 10065	575	2,1
AT 10012	854	2,1	AT 10067	1602	2,2
AT 10014	911	2,1	AT 10071	1500	2,2
AT 10016	1222	2,0	AT 10075	1133	2,2
AT 10017	1020	2,1	AT 10076	1038	2,2
AT 10018	1057	2,1	AT 10077	1792	2,2
AT 10019	2569	2,1	AT 10078	1244	2,1
AT 10025	1126	2,1	AT 10079	1658	2,2
AT 10026	1257	2,1	AT 10080	1135	2,2
AT 10027	1559	2,2	AT 10081	1164	2,2
AT 10028	1101	2,2	AT 10084	1057	2,2
AT 10031	1554	2,2	AT 10085	983	2,2
AT 10036	1157	2,2	AT 10087	1572	2,2
AT 10037	699	2,2	AT 10089	1156	2,2
AT 10040	1259	2,2	AT 10090	1515	2,2
AT 10047	1260	2,2	AT 10095	1780	2,2
AT 10048	1459	2,2	AT 10096	1643	2,2
AT 10049	1644	2,2	AT 10097	2244	2,1
AT 10050	1265	2,1	AT 10098	1198	2,2
AT 10051	1425	2,2			

* *Absorptionsquotient*

schen 1,9 und 2,1. Die niedrigste Konzentration lag bei 63ng/ μ l, die höchste bei 326ng/ μ l (Tabelle 11).

3.3 Ergebnisse der Genexpressionsanalysen

Für alle Proben wurde die durchschnittliche Genexpression bestimmt. Anschließend wurde die Expression der Proben von Studienteilnehmern mit prävalentem VHF mit den Kontrollen, also der Proben der Studienteilnehmer ohne VHF und der Proben von Studienteilnehmern mit POVF mit den Kontrollen verglichen. Um den Einfluss der biologischen Variabilität zu reduzieren, wurden nur männliche Teilnehmer in die Analyse einbezogen, eine weibliche Teilnehmerin wurde ausgeschlossen. Als Signifikanzkriterien wurden ein p-Wert $< 0,05$ und ein Fold Change größer als 2 und kleiner als -2 festgelegt. Als Fold Change (FC) wird eine x-fache Veränderung der Genexpression bezeichnet.

Der Vergleich der Proben von Studienteilnehmern mit prävalentem VHF mit den Kontrollen zeigte sich unter der Anwendung der beschriebenen Signifikanzkriterien für 37 Gene eine signifikant veränderte Genexpression (Tabelle 12).

Der Vergleich der POVF Fälle mit den Kontrollen ergab eine signifikante Veränderung der Genexpression in einem Gen (Tabelle 13).

Wie in der Abbildung 3 dargestellt, zeigte sich im Vergleich von prävalentem VHF und Kontrollen die Expression des *MTIL*-Gens mit einem Fold Change von $-4,172$ und einem p-Wert von $0,0118$ am stärksten verringert. Am stärksten erhöht war die Expression des *MBNL3*-Gens mit einem Fold Change von $3,483$ und einem p-Wert von $0,000351$. Eine mit dem Fold Change von $2,366$ erhöhte Expression des *TNFRSF19*-Gens zeigte den niedrigsten p-Wert von $5,16 \cdot 10^{-6}$.

Im Vergleich von POVF mit Kontrollen war das Gen *GSTT1* mit einem FC von $-2,1$ bei einem p-Wert von $0,04$ unterexprimiert (Abbildung 4).

3 Ergebnisse

Tabelle 11: cDNA Konzentrationsbestimmung

Teilnehmer ID	Konzentration in ng/μl	260/280*	Teilnehmer ID	Konzentration in ng/μl	260/280*
ID	in ng/μl		ID	in ng/μl	
AT 10001	135	1,9	AT 10053	190	2,0
AT 10002	183	1,9	AT 10054	150	2,0
AT 10003	188	1,9	AT 10055	220	2,0
AT 10004	167	1,9	AT 10056	219	2,0
AT 10007	147	1,9	AT 10061	194	2,0
AT 10009	221	1,9	AT 10062	180	2,0
AT 10010	189	1,9	AT 10065	63	2,0
AT 10012	80	1,9	AT 10067	154	2,0
AT 10014	171	2,0	AT 10071	193	2,0
AT 10016	152	2,0	AT 10075	197	2,0
AT 10017	177	1,9	AT 10076	161	2,0
AT 10018	189	2,0	AT 10077	155	2,0
AT 10019	326	2,0	AT 10078	132	2,0
AT 10025	202	2,0	AT 10079	107	2,0
AT 10026	196	2,0	AT 10080	187	2,0
AT 10027	237	2,0	AT 10081	208	2,0
AT 10028	184	2,0	AT 10084	230	2,0
AT 10031	191	2,0	AT 10085	221	2,0
AT 10036	182	2,0	AT 10087	210	2,0
AT 10037	177	2,0	AT 10089	226	2,0
AT 10040	205	2,0	AT 10090	242	2,0
AT 10047	185	2,0	AT 10095	213	2,0
AT 10048	220	2,0	AT 10096	160	1,9
AT 10049	220	2,0	AT 10097	208	2,0
AT 10050	153	2,0	AT 10098	182	2,0
AT 10051	192	2,0			

* *Absorptionsquotient*

3 Ergebnisse

Tabelle 12: Veränderung der Genexpression* bei Studienteilnehmern mit prävalentem VHF im Vergleich zu den Studienteilnehmern ohne VHF

Gen	Durchschnittliche Expression in allen Proben	p-Wert	x-fache Veränderung der Genexpression
MBNL3	7,913	3,51E-4	3,483
SERPINA3	7,726	2,70E-2	2,879
AZGP1	5,891	3,37E-2	2,490
TNFRSF19	7,264	5,16E-6	2,366
AKR1C1	7,273	4,62E-2	2,349
NID1	7,373	6,25E-5	2,302
GPD1	6,574	4,55E-2	2,236
COQ10A	8,491	2,30E-2	2,232
VIT	6,262	4,12E-3	2,228
TFRC	6,760	3,03E-2	2,168
TIMP4	7,013	2,73E-3	2,146
GALNTL2	5,493	9,96E-4	2,115
ACSM3	4,447	3,01E-3	2,096
LGI3	5,453	2,96E-3	2,082
CKB	7,886	3,49E-3	2,065
FCN3	6,127	2,02E-3	2,060
KCNIP2	8,665	1,12E-2	2,025
ZNF99	5,936	4,17E-2	2,015
APCDD1	7,951	2,03E-2	2,002
PTN	6,778	1,58E-2	-2,037
LRRC17	6,012	2,40E-4	-2,065
TNFSF13B	5,421	9,96E-3	-2,127
BTN3A2	6,484	4,23E-3	-2,129
CYP4X1	6,704	1,65E-2	-2,157
CCR1	5,682	3,43E-2	-2,175
TMEM176B	7,350	2,86E-3	-2,210
ARHGAP19	4,653	1,19E-3	-2,221
HGF	4,784	3,85E-3	-2,232
ANGPTL7	5,822	9,28E-4	-2,238
C6orf115	4,672	4,55E-3	-2,248
P2RX7	5,921	2,48E-5	-2,254
UCHL1	6,931	2,22E-3	-2,540
TMEM176A	7,781	1,42E-2	-2,647
ASPN	7,268	4,23E-2	-2,846
NEB	8,219	1,29E-2	-3,279
MUSTN1	8,388	7,39E-4	-3,554
MT1L	5,284	1,18E-2	-4,172

* Dargestellt sind Gene mit mindestens 2-fach veränderter Genexpression und einem P-Wert < 0,05

3 Ergebnisse

Tabelle 13: Veränderung der Genexpression* bei Studienteilnehmern mit POVf im Vergleich zu den Studienteilnehmern ohne VHF

Gen	Durchschnittliche Expression in allen Proben	p-Wert	x-fache Veränderung der Genexpression
GSTT1	7,644	0,04	-2,1

* Dargestellt sind Gene mit mindestens 2-fach veränderter Genexpression und einem p-Wert < 0,05

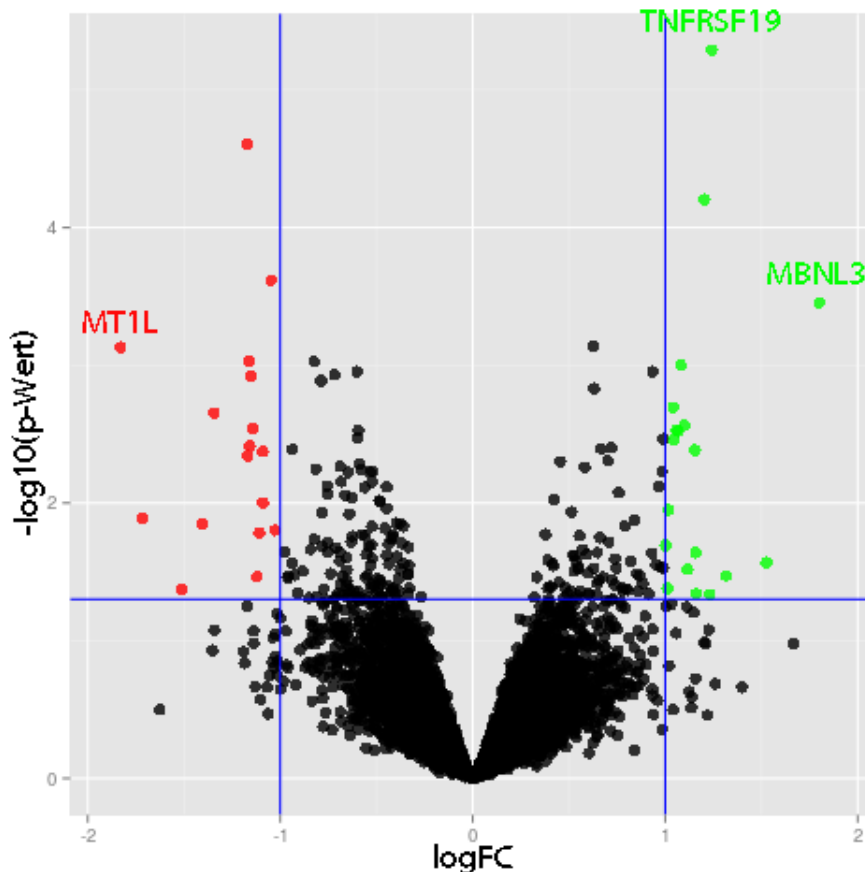


Abbildung 3: Differenzielle Genexpression bei VHF im Vergleich zu Kontrollen

Vulkandiagramm zur Darstellung der Veränderung der Genexpression bei Studienteilnehmern mit prävalentem VHF versus Studienteilnehmern ohne VHF; die blauen Linien stellen die Signifikanzgrenzen dar. Die Gene oberhalb der waagerechten blauen Linie zeigen signifikante Ergebnisse mit einem p-Wert < 0,05. Die senkrechten Linien markieren die Grenzen des Fold Change > 2 und < -2. Somit sind durch die grün markierten Gene als signifikant verstärkt exprimiert und die roten als signifikant vermindert exprimiert dargestellt.

3 Ergebnisse

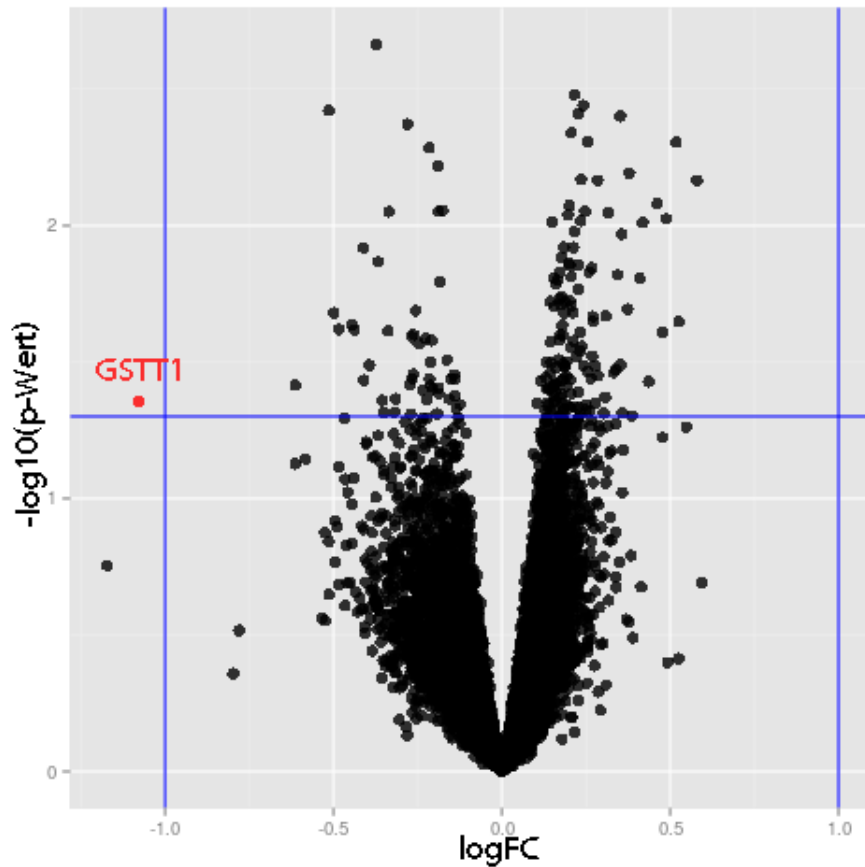


Abbildung 4: Differenzielle Genexpression bei POVf im Vergleich zu Kontrollen

Vulkandiagramm zur Darstellung der Veränderung der Genexpression bei Studienteilnehmern mit POVf versus Studienteilnehmern ohne VHF; die blauen Linien stellen die Signifikanzgrenzen dar. Die Gene oberhalb der waagerechten blauen Linie zeigen signifikante Ergebnisse mit einem p -Wert $< 0,05$. Die senkrechten Linien markieren die Grenzen des Fold Change > 2 und < -2 . Somit sind die grün markierten Gene als signifikant verstärkt exprimiert und die roten als signifikant vermindert exprimiert dargestellt.

3 Ergebnisse

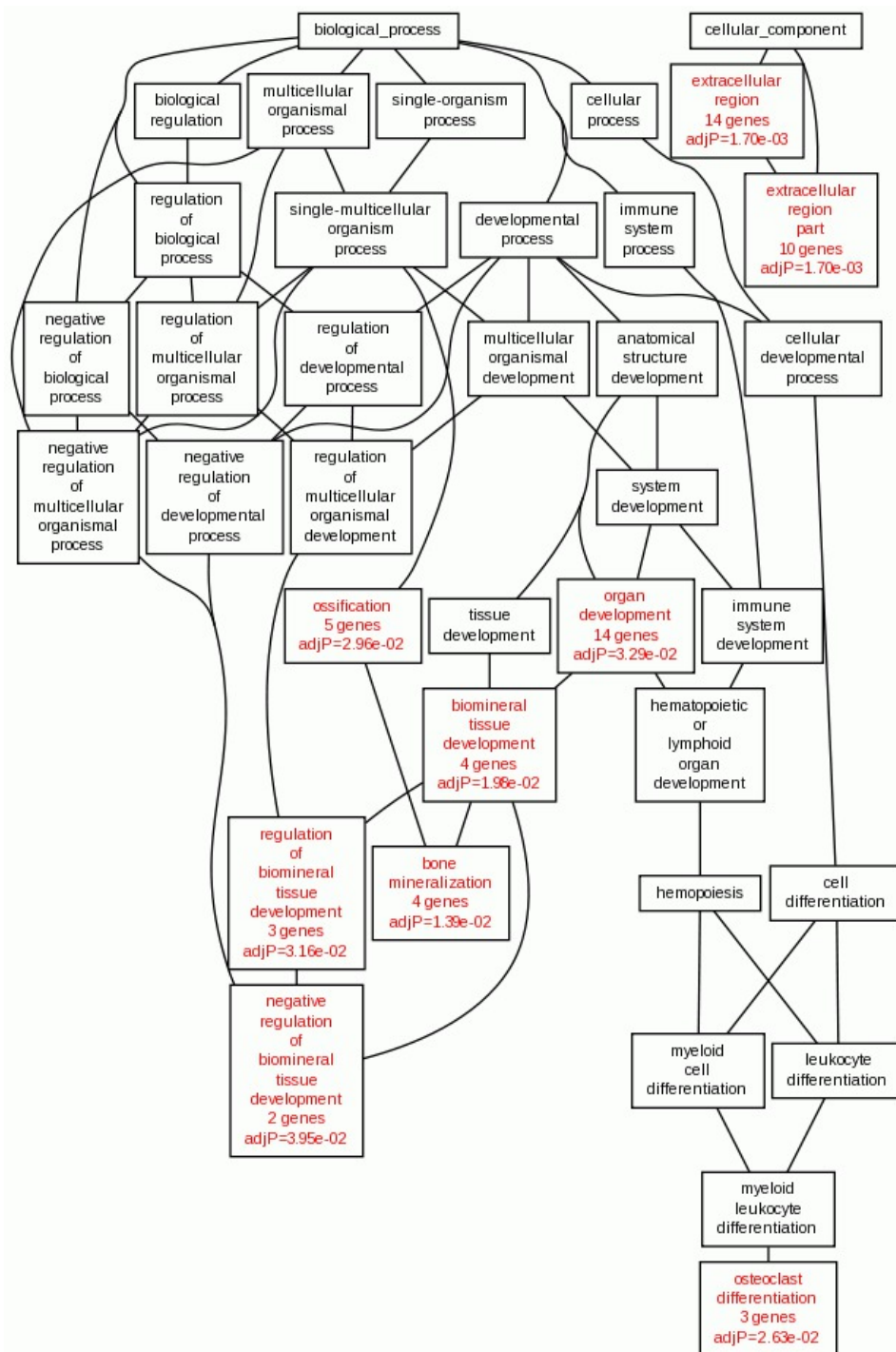


Abbildung 5: Pathway Analyse der differenziell exprimierten Gene im Vorhofgewebe von Patienten mit prävalentem VHF

Dargestellt sind die biologischen Prozesse, an denen die im Vorhofgewebe der Patienten mit prävalentem VHF differenziell exprimierten Gene beteiligt sind. Das Schaubild wurde mit dem WEB-BASED GENE SET ANALYSIS TOOLKIT von WebGestalt® [125] generiert. Die in rot dargestellten Prozesse sind statistisch signifikant für die Beteiligung der in dieser Arbeit beschriebenen differenziell exprimierten Gene (adjustierter p-Wert < 0.05).

3 Ergebnisse

Tabelle 14: In die Organentwicklung involvierte Gene bei Patienten mit prävalentem VHF

Gen	Genname
NID1	nidogen 1
ASPN	asporin
CCR1	chemokine (C-C motif) receptor 1
MBNL3	muscleblind-like splicing regulator 3
P2RX7	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 7
HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)
CKB	creatine kinase, brain
LRRC17	leucine rich repeat containing 17
TNFRSF19	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 19
NEB	nebulin
APCDD1	adenomatosis polyposis coli down-regulated 1
TMEM176B	transmembrane protein 176B
PTN	pleiotrophin
TFRC	transferrin receptor (p90, CD71)

Dargestellt sind Gene, die im Vorhofgewebe von Patienten mit prävalentem VHF über- oder unterexprimiert sind.

Für die differenziell exprimierten Gene von Patienten mit VHF wurden Pathwayanalysen durchgeführt (Abbildung 3.3). Es konnten 14 Gene mit einer Funktion im extrazellulären Raum gefunden werden. Weiterhin wurde mit einem adjustierten p-Wert von 0,03 die Organentwicklung als eine Kategorie mit einer statistisch signifikanten Beteiligung von 14 differenziell exprimierten Genen identifiziert. An der Ossifikation sind 5 Gene statistisch signifikant beteiligt, an der biomineralen Gewebeentwicklung und der Knochenmineralisierung jeweils 4 Gene, an der Regulation der biomineralen Gewebeentwicklung und der Osteoklastendifferenzierung jeweils 3 Gene und an der negativen Regulation der biomineralen Entwicklung 2 Gene.

In der Tabelle 14 sind die Gene aufgeführt, die an der Organentwicklung beteiligt sind. Neben anderen Genen, ist auch das in dieser Untersuchung am stärksten Exprimierte Gen *MBNL3* und das Gen mit der genomweiten statistischen Signifikanz *TNFRSF19* an der Organentwicklung beteiligt.

4 Diskussion

In der prospektiven Kohorte von Patienten, die sich einer Bypassoperation unterzogen haben, konnten deutliche Unterschiede in der Verteilung klassischer Risikofaktoren bei Patienten mit prävalentem VHF, POVF und ohne VHF nachgewiesen werden. In der Genexpressionsanalyse von intraoperativ entnommenem Vorhofohrgewebe war bei Patienten mit prävalentem VHF im Vergleich zu Patienten ohne VHF die Expression von 37 Genen statistisch signifikant verändert. Davon waren 19 Gene verstärkt exprimiert. Ein Gen zeigte eine genomweit signifikante Überexpression, 18 Gene waren vermindert exprimiert.

Bei den Patienten, die POVF entwickelt haben, fand sich im Vergleich zu den Patienten ohne VHF ein signifikant unterexprimiertes Gen.

In der Pathwayanalyse der differenziell exprimierten Gene von Patienten mit VHF konnte ein Zusammenhang mit der Organentwicklung identifiziert werden.

4.1 Patientenkollektiv und Risikofaktoren im Vergleich zu anderen Studien

In dieser Arbeit wurden 80 Studienteilnehmer untersucht, die sich einer koronaren Bypassoperation unterzogen haben. Die Studienteilnehmer wurden in drei Gruppen unterteilt. Die erste Gruppe bilden die Teilnehmer mit bereits bei Studienbeginn prävalentem VHF. Zu der zweiten Gruppe gehören Teilnehmer, die während des Krankenhausaufenthaltes POVF entwickelt haben. Zu der dritten Gruppe zählen Studienteilnehmer, bei welchen sich zu keinem Zeitpunkt VHF eruieren ließ. Neben der Erhebung von allgemeinen kardiovaskulären Risikofaktoren konnte bei insgesamt 50 Teilnehmern eine Genexpressionsuntersuchung vom Vorhofgewebe durchgeführt werden.

Das mediane Alter der Studienteilnehmer betrug 66 Jahre. Das in der Literatur beschriebene durchschnittliche Alter der Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung bei welchen eine operative Versorgung mit einem Koronararterienbypass erfolgt, liegt ebenfalls bei 66 Jahren. Der Anteil der männlichen Studienteilnehmer ist mit 96% höher als der durchschnittliche Anteil der männlichen Patienten von ca. 75%, die sich einer koronaren Bypassoperation unter-

ziehen [24]. Wie erwartet ist die Prävalenz von VHF mit 16% höher als in einer vergleichbaren Altersgruppe in der Normalbevölkerung [98, 54] und auch höher als in anderen Studien bei Patientengruppen mit kardiovaskulären Erkrankungen gezeigt werden konnte (Prävalenz von 9,1%) [27, 79]. Die Studienteilnehmer mit bereits bei Studienbeginn diagnostiziertem VHF waren im Durchschnitt 6 Jahre älter als Studienteilnehmer ohne VHF und 2 Jahre älter als Teilnehmer, die POVF entwickelt haben. Die Inzidenz von POVF lag mit 18% deutlich unter den in der Literatur beschriebenen Inzidenzen im Bereich zwischen 29,7% und 44% [96, 55]. Diese Unterschiede lassen sich anhand der vorliegenden Daten nicht eindeutig erklären und können an der sorgfältigen chirurgischen Patientenauswahl und Operationstechnik an einem hochspezialisierten Zentrum liegen. Es wurden lediglich elektive Patienten eingeschlossen, was die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von POVF deutlich verringert.

Klinische Risikofaktoren für VHF

Klinische Risikofaktoren für VHF sind in der Literatur vielfach untersucht worden. Als der sicherste Prädiktor gilt das höhere Alter [19, 99]. Weitere Risikofaktoren sind die Herzinsuffizienz, Klappenvitien, das männliche Geschlecht, die positive Raucheranamnese und weitere allgemeine kardiovaskuläre Risikofaktoren [19, 53, 99]. In der Pearson-Korrelation konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen prävalentem VHF und dem Alter und prävalentem VHF und Herzinsuffizienz gezeigt werden. Entsprechend zeigten auch die univariablen Regressionsanalysen für prävalentes VHF die Herzinsuffizienz als einen starken Risikofaktor. Auch für POVF sind multiple Risikofaktoren beschrieben worden, die sich überwiegend mit Risikofaktoren für VHF decken.

In der Pearson-Korrelation zeigte POVF den stärksten Zusammenhang mit den Risikofaktoren Alter und BMI, diese waren jedoch statistisch nicht signifikant. Adipositas wird in der Literatur als ein eher moderater Risikofaktor für POVF eingeschätzt [56, 22]. Logistische Regressionsanalysen haben gezeigt, dass das Alter zum Studienbeginn ein viereinhalb-faches ($P = 0,04$) und die positive Raucheranamnese ein dreieinhalb-faches Risiko ($P = 0,02$) darstellen. Das Alter ist auch in vielen Studien ein gut belegter Risikofaktor für POVF [96, 108, 55, 22].

In einigen Studien wurde eine positive Raucheranamnese als ein Risikofaktor für POVf beschrieben [12, 111], in anderen wiederum wurde der Nikotinkonsum als protektiver Faktor bewertet [80]. Als weitere Risikofaktoren sind eine Vorhofgröße von über 40 mm, bereits vorher diagnostiziertes VHF, eine kombinierte Bypassoperation mit einem Ersatz der Aortenklappe und die Herzinsuffizienz bekannt [96, 55].

4.2 Genexpressionsunterschiede zwischen VHF und Kontrollen

Im Vergleich der Genexpression bei Patienten mit VHF zu Kontrollen zeigte sich für insgesamt 37 Gene eine signifikant veränderte Genexpression. Als stärkste Gene erschienen das Muscleblind-Like Protein 3 (*MBNL3*) mit einer Fold Change von 3,483 ($P = 0,000351$) und das Metallothionein 1L (*MT1L*) mit einer Fold Change von $-4,172$ ($P = 0,0118$). Die stärkste statistische Signifikanz zeigte das Tumornekrosefaktor-Rezeptor-Superfamilie Mitglied 19 Gen (*TNFRSF19*) mit einem P-Wert von $5,16 \cdot 10^{-6}$ und der Fold Change von 2,366.

Stand der Wissenschaft

Deshmukh et al. untersuchten die unterschiedliche Genexpression im Gewebe des linken Herzvorhofes von Patienten, die sich einer kardiovaskulären Bypassoperation unterzogen haben. In dieser Studie wurde das Kollektiv in drei Gruppen unterteilt: Patienten mit diagnostiziertem VHF, die zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme im VHF waren (VHF/VHF), solche, die ein diagnostiziertes VHF hatten und zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme im Sinusrhythmus (SR) waren (VHF/SR) und Patienten ohne VHF (SR/SR). Die Unterschiede in der Expression zwischen (VHF/SR) und (SR/SR) wurden als Anfälligkeit für VHF interpretiert. Als das Korrelat für die Aktivität von VHF wurde der Vergleich der Genexpression von Patienten interpretiert, die auch während der Gewebeentnahme im VHF waren (VHF/VHF) mit den Patienten mit diagnostiziertem VHF, die zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme im SR waren (VHF/SR). Sowohl für den Vergleich (VHF/SR) mit (SR/SR) als auch für (VHF/VHF) mit (VHF/SR) konnten abweichende Expressionsmuster nachgewiesen werden. Die beiden Vergleichsgruppen zeigten zudem unterschiedliche Abweichungen. Für die Anfälligkeit für VHF spricht die herabgesetzte Expression vieler Gene, die für die Zellstressantwort, insbesondere für oxidati-

4 Diskussion

ven Stress verantwortlich sind. Dies lässt vermuten, dass nicht die Zellstressantwort an sich, sondern die Insuffizienz der Zellstressantwort für VHF prädisponierend wirkt.

In dieser Arbeit konnten die Ergebnisse von Deshmukh et al. nicht reproduziert werden. Allerdings zeigte sich im Vergleich der POVF-Gruppe mit den Kontrollen das *GSTT1*-Gen, welches auch mit Zellstressantwort im Zusammenhang steht, ebenfalls unterexprimiert [93].

In dem Vergleich von (VHF/VHF) mit (VHF/SR), der für Aktivität von VHF steht, zeigte sie eine veränderte Expression verschiedener Gene, die für Ionenkanäle kodieren. Dies kann durch das Remodelling aufgrund der Persistenz von VHF erklärt werden [33]. Auch andere Studien haben einen Zusammenhang von VHF mit veränderter Genexpression von Genen, die an der Expression von Ionenkanälen beteiligt sind, hergestellt [16, 88, 113, 26].

Zhou et al. fanden in einer Transkriptomstudie ebenfalls eine Vielzahl über- und unterexprimierter Gene im Vorhofgewebe von Patienten mit VHF. Die verändert exprimierten Gene hatten unterschiedliche Funktionen. Veränderte Expressionsmuster fanden sich für Gene, die an verschiedenen Stoffwechselprozessen beteiligt sind, für plättchenaktivierende Faktoren, Kardiomyozytenspezifische Wachstumsfaktoren, für Proteine, die in der zellulären Stressantwort involviert sind und andere [126].

Mit zunehmend breiter eingesetzten Techniken zur Genexpressionsanalyse, werden auch Genexpressionsanalysen aus peripherem Blut in größeren Kohorten durchgeführt. So hat die Framingham Heart Studie in einer großen Kohorte der Allgemeinbevölkerung (177 Fälle mit prävalentem VHF, 143 mit inzidentem VHF und 2446 Kontrollen) Genexpressionsanalysen von peripheren Blut durchgeführt. Am signifikantesten war bei Teilnehmern mit VHF das Gen *PBX1* überexprimiert, das für einen Transkriptionsfaktor für die PBX-homeobox-Familie kodiert [75]. Dieser Transkriptionsfaktor ist dafür bekannt, in der embryonalen kardiovaskulären Entwicklung eine Rolle zu spielen.

Insgesamt fällt auf, dass die Ergebnisse für die einzelnen Genexpressionsmuster sich zwischen den Studien nicht überschneiden. Dies hängt mit unterschiedlichsten Faktoren zusammen. Zum einen haben die bisherigen, meist relativ kleinen Studien mit Gewebeexpressionsdaten unterschiedliche Einschlusskriterien für ihre Patienten gewählt. Das Set an untersuchten Genen variierte breit. Die Ergebnisse von peripheren Blutexpressionsanalysen und Gewebeex-

4 Diskussion

pressionsanalysen von betroffenem Vorhofgewebe variieren verständlicherweise hochgradig. Insgesamt lassen sich jedoch Gemeinsamkeiten in den Funktionen der veränderten Gene feststellen. So berichten beispielsweise Deshmukh et al. sowie Zhou et al. von Genen, die an der zellulären Stressantwort beteiligt sind, was im Einklang mit erhöhtem oxidativen Stress, Inflammation und zellulärer Stressantwort bei der Entstehung von VHF steht.

Auch die Ergebnisse dieser Arbeit unterscheiden sich von den Ergebnissen bestehender Studien. Auch hier ist die Varietät der differenziell exprimierten Gene durch Unterschiede im Studienaufbau erklärbar. So wurden Expressionsanalysen hier beispielsweise mit Vorhofgewebe und in der Framingham Heart Studie mit peripherem Blut durchgeführt. Jedoch zeigen sich auch in dieser Arbeit funktionale Übereinstimmungen der differenziell exprimierten Gene.

4.2.1 Muscleblind-Like Protein 3 (*MBNL3*)

Das Muscleblind-Like Protein 3 Gen (*MBNL3*) war mit einer Fold Change von 3,483 ($P = 0,000351$) am stärksten überexprimiert.

Die Funktion von Proteinen der MBNL Gruppe

Die Proteine, die zu der MBNL Familie gehören, sind am alternativen Spleißen von prä-mRNA beteiligt [58, 46]. Beim Spleißen werden nichtkodierende Introns aus der prä-mRNA (precursor messenger RNA) herausgeschnitten. Die aus den übriggebliebenen Exons bestehende mRNA wird zu einem Protein übersetzt. Alternatives Spleißen bedeutet, dass aus der gleichen prä-mRNA unterschiedliche Introns rausgeschnitten werden können, sodass aus einer von einem DNA Abschnitt abgelesenen prä-mRNA unterschiedliche Proteine entstehen [116]. Neben anderen proteinkodierenden prä-mRNAs, wird prä-mRNA, die für das kardiale Troponin T (cTNT) kodiert, von allen drei Proteinen aus der MBNL Familie gespleißt [58].

Die Bedeutung von *MBNL3*

Es scheint einen Zusammenhang zwischen den Proteinen aus der MBNL Familie und Spleißmustern, wie man sie im undifferenzierten Gewebe während der Embryonalentwicklung findet, zu geben. Eine verstärkte Expression des *mbnl1*-Gens wurde in der frühen Phase der postnatalen Herzentwicklung von Mäusen nachgewiesen. Die darauf in Knock-Out-Mäusen indu-

zierte Überexpression des *mbnl1*-Gens führte zu embryonalen Spleißmustern im Herzgewebe [66]. *MBNL3* wird in der Literatur im Zusammenhang mit der Myotonen Muskeldystrophie Typ 1 diskutiert. Dabei wird davon ausgegangen, dass die Erhöhung der *MBNL3*-Expression mit der Muskeldystrophie assoziiert ist. *MBNL3* bewirkt durch veränderte Spleißmuster, die sich den Spleißmustern aus der Embryogenese ähneln, die Inhibition der Muskeldifferenzierung. Dies stellt einen Faktor für die Entstehung von degenerativen Muskelerkrankungen wie der Myotonen Muskeldystrophie Typ 1 dar [73].

Somit lässt sich vermuten, dass die verstärkte Expression von *MBNL3* im Vorhofgewebe dort ebenfalls zu veränderten Spleißmustern führt. Analog zu den Veränderungen im Skelettmuskelgewebe könnte dies auch zur Entdifferenzierung der Herzmuskelzellen führen und zu der Entstehung von Herzmuskelerkrankungen beitragen. Ein möglicher Zusammenhang mit VHF müsste in weiteren Studien untersucht werden.

4.2.2 Metallothionein 1L (*MT1L*)

Das am stärksten unterexprimierte Gen war das Metallothionein 1L-Gen (*MT1L*) mit einer Fold Change von $-4,172$ ($p = 0,0118$).

Das Metallothionein (MT) ist ein metallbindendes Protein, welches in verschiedenen Isoformen exprimiert wird. Die beiden Isoformen MT1 und MT2 werden im Gewebe vieler Organe gebildet, während MT3 vorwiegend im Gehirn und MT4 im Plattenepithel gebildet wird. MT1 wird in weitere Unterformen eingeteilt: MT1A, MT1B, MT1E und weitere [112, 64, 105]. Die in dieser Untersuchung vermindert exprimierte Isoform MT1L hat an der Stelle 26 ein Stopcodon und ist vermutlich nicht in der Lage, funktionale Proteine zu bilden [59].

Funktion der Proteine aus der Metallothioneingruppe

Den Proteinen der Metallothioneingruppe wird eine Vielzahl von möglichen Funktionen zugeschrieben. Es ist bekannt, dass MT1X teilweise für die zelluläre Stressantwort auf Schwermetalle, oxidativen Stress und andere zellschädigende Substanzen verantwortlich ist [112, 41]. Kanekiyo et al. haben festgestellt, dass MT durch die Bildung von proinflammatorischen Zytokinen in Makrophagen von Mäusen an der Entzündungsreaktion beteiligt ist [67]. In mehreren

Studien konnte gezeigt werden, dass MT einen Schutz vor Fibrose bietet [104, 124]. Vermutlich hat MT außerdem mehrere Aufgaben im Zellzyklus: die Regulation der Genexpression, Apoptoseschutz und die Zellproliferation [29]. Es konnte einerseits die Überexpression von MT Proteinen in der Phase der Zellproliferation nachgewiesen werden [29], andererseits die Zellproliferation in Zusammenhang mit einer verminderten Expression von insbesondere *MT2A* in proliferierenden Fibroblasten gebracht werden [112].

Die Bedeutung von *MT1L*

Das in dieser Arbeit bei den Studienteilnehmern unterexprimierte *MT1L* kodiert wahrscheinlich für kein funktionsfähiges Protein. Ein Zusammenhang mit einer kardialen Erkrankung im Allgemeinen und VHF im Speziellen ist somit unwahrscheinlich. Die Bedeutung bei VHF bleibt in unseren Daten unklar und bedarf der funktionellen Aufarbeitung.

4.2.3 Tumornekrosefaktor-Rezeptor-Superfamilie Mitglied 19 (*TNFRSF19*)

Die höchste Signifikanz zeigte sich mit einem p-Wert von $5,16 \cdot 10^{-6}$ für die Überexpression des *Tumornekrosefaktor-Rezeptor Superfamilie Mitglied 19* Gens ($FC = 2,366$).

Die Tumornekrosefaktor-Rezeptor-Superfamilie (TNFRSF) beinhaltet eine große Anzahl von Rezeptorproteinen, welche meist von Zellen des Immunsystems gebildet werden und eine wichtige Rolle bei der Zellproliferation, Differenzierung und Apoptose spielen [15]. *TNFRSF19*, ebenfalls als *TAJ* oder *TROY* bezeichnet, ist ein membranständiger Tumornekrosefaktor-Rezeptor. Die Expression dieses Rezeptors konnte bereits in vielen Geweben nachgewiesen werden. Bei Mäusen wurden hohe Expressionsraten in Hirngewebe nachgewiesen. Im Gegensatz zu anderen Tumornekrosefaktor-Rezeptoren, wurden jedoch keine hohen Expressionsraten des TNFRSF19 in lymphatischem Gewebe wie der Milz gefunden. Daraus lässt sich vermuten, dass dieser Rezeptor weniger stark an der Immunreaktion beteiligt ist, als andere Vertreter der TNFRSF [61, 69]. Erhöhte Expressionsraten konnten in embryonalem Gewebe von Mäusen nachgewiesen werden [69, 37]. Mäßige Expression wurde in Gewebe aus Reproduktionsorganen, Lunge, Leber, aber auch Herz und Skelettmuskeln nachgewiesen. Bei Menschen wurde die höchste Expressionsrate in Prostatagewebe nachgewiesen, während

TGFRSF19 in anderem Gewebe eine nur geringe Expressionsaktivität zeigte [37].

Die Funktion von TNFRSF19

Die Funktion von TNFRSF19 ist nur teilweise geklärt. Wie andere Mitglieder der TNFR-Familie, aktiviert auch TNFRSF19 den JNK- und NF- κ -B-Signalweg und ist somit für die Regulation des Zellüberlebens und des Zelltodes wichtig [15]. Auch ist TNFRSF19 ein Induktor der Caspase-unabhängigen Apoptose und wird wegen der hohen Expressionsraten in embryonalem Gewebe als ein Regulator des programmierten Zelltodes in der Embryogenese diskutiert [37]. Bei Mäusen konnte eine Beteiligung an der axonalen Regeneration im ZNS sowohl in der Embryonalperiode, als auch bei adulten Individuen nachgewiesen werden [82].

Die Bedeutung von TNFRSF19

Es ist bekannt, dass viele immunvermittelte Erkrankungen mit veränderter Expression einzelner Tumornekrosefaktor-Rezeptoren (TNFR) einhergehen [78]. Assoziationen mit anderen Erkrankungen, wie beispielsweise Asthma bronchiale und Diabetes mellitus sind ebenfalls beschrieben worden [122, 38]. Eine Erhöhte Expression von TNFRSF19 wurde in Melanomgewebe nachgewiesen und stellt einen möglichen neuen Biomarker und Therapietarget für das maligne Melanom dar [103]. Schön et al. beschreiben eine Überexpression von TNFRSF19 in Zelllinien vom kolorektalen Karzinom [100]. Zudem konnte eine Assoziation mit Karzinomen des Nasopharynx nachgewiesen werden [17]. Ein Zusammenhang mit dem Gefäßsystem im Rahmen der vaskulären Demenz wird diskutiert [70].

Aktuell gibt es in der Literatur keine Hinweise auf eine Verbindung zwischen einer erhöhten TNFRSF19 Expression und VHF. Alledings wäre ein Zusammenhang zwischen einer verstärkten Apoptose in Herzmuskelzellen und VHF denkbar.

4.3 Genexpressionsunterschiede zwischen POVf und Kontrollen

In dieser Arbeit konnte unter der Wahl konservativer statistischer Signifikanzwerte lediglich ein Gen mit statistisch signifikanten Expressionsunterschieden zwischen Studienteilnehmern mit POVf und ohne VHF festgestellt werden. Das *GSTT1* war bei einem p-Wert von 0,04 mit

einer FC von $-2,1$ unterexprimiert.

Stand der Wissenschaft

In der Literatur werden veränderte Expressionsmuster von Genen im Zusammenhang mit POVf beschrieben. Als Beispiel sind die Gene, die für Funktionsbereiche wie Zellwachstum, oxidativen Stress und Apoptose stehen zu nennen, Gene, die für Akute-Phase-Proteine und Rezeptorproteine und deren Substrate kodieren, und auch *KCNE1*, ein für einen Kaliumkanal kodierendes Gen [11, 71, 52]. Es bleibt zu vermuten, dass bei höheren Fallzahlen ebenfalls mehr Unterschiede hätten nachgewiesen werden können.

4.3.1 Glutathion S-Transferase Theta-1 (*GSTT1*)

Die Glutathion S-Transferase Theta-1 (*GSTT1*) ist ein Mitglied einer Familie der Glutathion S-Transferasen (GST), zu der zahlreiche Isoformen des Enzyms zählen [119]. Die Enzyme der GST Familie werden ubiquitär im Organismus exprimiert. Eine Studie an Mäusen konnte die Expression des *gstt1*-Gens und anderen Mitgliedern der GST-Familie in Gewebeproben aus der Leber, Lunge, Niere, dem Gastrointestinaltrakt und Proben aus dem Herzgewebe nachweisen [68].

Die Funktion von *GSTT1*

Wie andere Enzyme der GST Familie ist auch *GSTT1* an der Entgiftung von unterschiedlichen Substanzen mit kanzerogener Wirkung aber auch an der Metabolisation von Medikamenten und Umwelttoxinen beteiligt. Das Fehlen dieses Enzyms geht mit höheren Konzentrationen an schädlichen Stoffen im Organismus einher und stellt somit einen Risikofaktor für Malignome und andere Erkrankungen dar [107, 92].

Die Bedeutung von *GSTT1*

Die fehlende Expression von *GSTT1* ist mit zahlreichen malignen, aber auch mit kardiologischen Erkrankungen assoziiert [30, 127]. Probst-Hensch et al. zeigten einen Zusammenhang

zwischen dem Fehlen beider *GSTT1*-Allele und anderen an der zellulären Stressantwort beteiligten Isoformen des Enzyms und erniedrigter Herzfrequenzvariabilität als Ausdruck einer Störung der autonomen Herzregulation [93]. In einer anderen Studie, in welcher der Einfluss des Zigarettenkonsums der Eltern auf das kindliche Risiko für angeborene Herzfehler untersucht wurde, konnte gezeigt werden, dass Kinder, die einen *GSTT1*- und *GSTM1*-Mangel haben, ein erhöhtes Risiko für angeborene Herzfehler haben [31]. Weiterhin konnte in einer Metaanalyse ein Zusammenhang zwischen *GSTT1*-Mangel und Koronarer Herzkrankheit bestätigt werden [35]. Ebenso ist ein erhöhtes Risiko für periphere arterielle Sklerosierung bei Rauchern mit einem *GSTT1*-Polymorphismus bekannt [74].

Ein Zusammenhang zwischen VHF oder POVf mit fehlender Expression von *GSTT1* oder anderen Enzymen der GST Gruppe wurde in der Literatur noch nicht beschrieben. Es lässt sich jedoch zu den beschriebenen Zusammenhängen zwischen der Unterexpression von Genen, die an der Zellstressantwort beteiligt sind und der Anfälligkeit für VHF [33, 126] einordnen. Die verminderte Expression von *GSTT1* wäre somit ein denkbarer Risikofaktor für POVf und für inzidenten VHF im Allgemeinen.

4.4 Limitationen

Eine Limitation dieser Arbeit ist das relativ kleine Kollektiv mit verhältnismäßig wenigen neu aufgetretenen POVf-Fällen in der Pilotstudie zur Etablierung von Genexpressionsanalysen bei POVf. Dies führte zu einer erheblichen Einschränkung der statistischen Aussagekraft der Analysen und wahrscheinlich zum Befund lediglich eines differenziell exprimierten Gens für inzidenten POVf bei konservativem statistischem Grenzwert. Bei Patienten mit Operation in Off-Pump-Technik oder aus anderen, logistischen sowie Gewebequalitätsgründen war die Entnahme qualitativ hochwertiger Gewebestücke nicht immer möglich. Eine Untersuchung der differentiellen Genexpression bei Patienten mit POVf wird bei fortgesetzter Patientenrekrutierung mit einem größeren Patientenkollektiv und damit besserer Aussagekraft zukünftig folgen. Eine Replikation der Daten in einem unabhängigen Kollektiv müsste stattfinden, um die Zufälligkeit der gefundenen Ergebnisse auszuschließen. Weiterhin müsste eine funktionale Aufarbeitung der Ergebnisse stattfinden. Eine Untersuchung der Genexpression im peripheren

Blut würde die Nutzbarkeit der gefundenen Ergebnisse als eventuelle Biomarker evaluieren. Zu erwähnen ist, dass die Ergebnisse dieser Genexpressionsuntersuchung bei sehr geringem Anteil an weiblichen Patienten auf das männliche Geschlecht begrenzt sind und eventuelle Unterschiede bei Frauen nicht erfasst wurden. Der Ausschluss von Frauen war aufgrund der geringen Fallzahl und allein durch Geschlechtsunterschiede in der Genexpression zu erwartender hoher Variabilität der Assoziationen erfolgt.

4.5 Die Bedeutung der Ergebnisse

Das Ziel dieser Arbeit war es, Genexpressionsunterschiede zwischen dem Vorhofgewebe von Patienten, bei denen POVf auftrat, zu erkennen. Zusätzlich wurden Patienten mit bereits diagnostiziertem VHF in die Studie aufgenommen und mit Patienten ohne VHF verglichen, um Genexpressionsunterschiede bei manifester Erkrankung zu identifizieren. Die hier vorgestellten initialen Ergebnisse sind als Hypothesen-generierend anzusehen. Weitere Untersuchungen werden folgen.

Im Vergleich von Studienteilnehmern mit VHF und ohne VHF fanden sich insgesamt 37 Gene mit veränderter Expression. Am stärksten überexprimiert war das *MBNL3*-Gen, welches am alternativen Spleißen von prä-mRNA beteiligt ist und in der Embryogenese verstärkt exprimiert wird. Dieses Gen wird auch mit der Myotonen Muskeldystrophie Typ 1 assoziiert. Das am stärksten unterexprimierte Gen war das *MTIL*-Gen. Wahrscheinlich kodiert dieses Gen aufgrund eines vorzeitigen Stopkodons für kein funktionsfähiges Protein. Das *TNFRSF19*-Gen, welches mit der höchsten Signifikanz überexprimiert war, kodiert für einen Tumornekrosefaktor-Rezeptor, welcher für die Regulation von Zellüberleben und Zelltod beteiligt ist und als ein Regulator der Apoptose in der Embryogenese diskutiert wird. Von den differenziell exprimierten Genen sind 14 an einem Signalweg für die Organentwicklung beteiligt.

Im Hinblick auf diese Ergebnisse kann vermutet werden, dass VHF mit veränderten Spleißmustern und einer veränderten Apoptoseregulation zusammenhängt. Eine Entdifferenzierung der Zellen ist im Rahmen des Remodeling eine mögliche Ursache oder Folge von VHF. Die Beteiligung der bei VHF differenziell exprimierten Gene am Signalweg für die Organentwick-

lung und die Assoziation des *MBNL3*-Gens und des *TNFRSF19*-Gens mit der Embryogenese ist ein weiterer Hinweis darauf.

Um diese Aussage zu verifizieren, wäre eine qualitative Untersuchung dieser Mechanismen notwendig. Um zu unterscheiden, ob diese Faktoren zu VHF führen oder eine Folge von VHF sind, müsste man ähnlich wie in der Studie von Desmukah et al. ein Studiensetting wählen, welches die Vulnerabilität für VHF und die Aktivität differenziert untersucht.

Das bei Patienten mit POVf unterexprimierte *GSTT1*-Gen kodiert für ein Enzym, welches an der Entgiftung von körperfremden Toxinen, Kanzerogenen und Medikamenten beteiligt ist.

Dies könnte ein Hinweis auf einen möglichen neuen Risikofaktor für POVf und inzidenten VHF darstellen und sollte in weiteren Untersuchungen aufgegriffen werden.

4.6 Ausblick

Im Vergleich der Studienteilnehmer mit POVf und ohne VHF fand sich in einem Gen ein signifikanter Expressionsunterschied. Die Neuartigkeit der Untersuchungen und Ergebnisse dieser Studie werden daran deutlich, dass bisher kaum eines der identifizierten Gene mit VHF und kardialen Erkrankungen in Verbindung gebracht wurde. Die Daten erfordern nun der weiteren molekularbiologischen Aufarbeitung und prospektiver Untersuchungen sowohl in Kohorten mit erkrankten als auch mit initial gesunden Individuen. Langfristig können die Ergebnisse der AFHRI-B-Studie dazu beitragen, die Pathophysiologie der häufigen Erkrankung VHF besser zu verstehen und eventuell präventive und therapeutische Ziele ableiten zu können.

5 Zusammenfassung

Vorhofflimmern ist die häufigste Herzrhythmusstörung mit hoher Prävalenz speziell bei älteren Menschen. Es ist sowohl mit potenziell schweren gesundheitlichen Folgen für den einzelnen Patienten als auch mit einer relevanten ökonomischen Belastung des Gesundheitssystems verbunden.

Postoperatives Vorhofflimmern kann in den ersten Tagen nach chirurgischen und insbesondere nach thoraxchirurgischen Eingriffen auftreten und ist ein Risikofaktor für ein Wiederauftreten und die Chronifizierung von Vorhofflimmern.

In dieser Arbeit wurde eine Kohorte von 80 Studienteilnehmern, die sich einer koronaren Bypassoperation unterzogen haben, auf kardiovaskuläre Risikofaktoren untersucht. Zusätzlich fand eine Genexpressionsanalyse von 50 Gewebeproben aus dem rechten Vorhof statt. Es wurden Genexpressionsunterschiede von Studienteilnehmern mit prävalentem Vorhofflimmern und von Studienteilnehmern, die postoperatives Vorhofflimmern entwickelt haben, mit einer Kontrollgruppe verglichen.

In der Gruppe mit prävalentem Vorhofflimmern zeigten sich für 37 Gene signifikante Expressionsunterschiede. Das *TNFRSF19*-Gen zeigte eine genomweite Signifikanz. In der Gruppe mit postoperativen Vorhofflimmern war ein Gen differenziell exprimiert.

Atrial fibrillation is the most common arrhythmia with a high prevalence especially in advanced age. It implicates potentially heavy health damage as well as an economical burden on the health care system.

Postoperative atrial fibrillation can occur during the first days after surgery particularly after thoracic surgery and is a well-known risk factor for the later recurrence and chronification of atrial fibrillation.

In this study a cohort of 80 patients undergoing a coronary arterial bypass graft surgery has been screened for cardiovascular risk factors. Additional gene expression analysis has been made for 50 right atrial tissue probes. The gene expression of the participations with prevalent atrial fibrillation and of the participations with new onset postoperative atrial fibrillation has been compared with controls.

5 Zusammenfassung

There were 37 different expressed genes in the prevalent atrial fibrillation group. The *TNFRSF19*-gene showed a genome wide significance. In the new onset atrial fibrillation group there was one different expressed gene.

6 Literatur

- [1] Raed H. Abdelhadi, Hitinder S. Gurm, David R. Van Wagoner, and Mina K. Chung. Relation of an exaggerated rise in white blood cells after coronary bypass or cardiac valve surgery to development of atrial fibrillation postoperatively. *The American journal of cardiology*, 93(9):1176–8, may 2004.
- [2] N Ad, E Snir, B A Vidne, and E Golomb. Histologic atrial myolysis is associated with atrial fibrillation after cardiac operation. *The Annals of thoracic surgery*, 72(3):688–93, sep 2001.
- [3] Ali R Afzal, Kaushik Mandal, Samuel Nyamweya, Georgios Foteinos, Jan Poloniecki, A John Camm, Marjan Jahangiri, and Qingbo Xu. Association of Met439Thr substitution in heat shock protein 70 gene with postoperative atrial fibrillation and serum HSP70 protein levels. *Cardiology*, 110(1):45–52, jan 2008.
- [4] Anders Ahlsson, Espen Fengsrud, Lennart Bodin, and Anders Englund. Postoperative atrial fibrillation in patients undergoing aortocoronary bypass surgery carries an eight-fold risk of future atrial fibrillation and a doubled cardiovascular mortality. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 37(6):1353–9, jun 2010.
- [5] Koray Ak, Serdar Akgun, Tulay Tecimer, Cemil Selim Isbir, Ali Civelek, Atike Tekeli, Sinan Arsan, and Adnan Cobanoglu. Determination of histopathologic risk factors for postoperative atrial fibrillation in cardiac surgery. *The Annals of thoracic surgery*, 79(6):1970–5, jun 2005.
- [6] M. A. Allesie, F. I. Bonke, and F. J. Schopman. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. III. The "leading circle"concept: a new model of circus movement in cardiac tissue without the involvement of an anatomical obstacle. *Circulation Research*, 41(1):9–18, jul 1977.
- [7] Maurits Allesie, Jannie Ausma, and Ulrich Schotten. Electrical, contractile and struc-

tural remodeling during atrial fibrillation. *Cardiovascular research*, 54(2):230–46, may 2002.

- [8] David Amar, Hao Zhang, Denis H Y Leung, Nancy Roistacher, and Alan H Kadish. Older age is the strongest predictor of postoperative atrial fibrillation. *Anesthesiology*, 96(2):352–6, feb 2002.
- [9] David Amar, Hao Zhang, Saul Miodownik, and Alan H Kadish. Competing autonomic mechanisms precede the onset of postoperative atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*, 42(7):1262–8, oct 2003.
- [10] Amedeo Anselmi, Gianfederico Possati, and Mario Gaudino. Postoperative inflammatory reaction and atrial fibrillation: simple correlation or causation? *The Annals of thoracic surgery*, 88:326–333, 2009.
- [11] Sara Arab, Igor E Konstantinov, Cathy Boscarino, Eva Cukerman, Alessandro Mori, Jia Li, Peter P Liu, Andrew N Redington, and John G Coles. Early gene expression profiles during intraoperative myocardial ischemia-reperfusion in cardiac surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 134(1):74–81, 81.e1–2, jul 2007.
- [12] Miwa Arakawa, Hiroaki Miyata, Naomichi Uchida, Noboru Motomura, Akira Katayama, Kentaro Tamura, Taijiro Sueda, and Shinichi Takamoto. Postoperative Atrial Fibrillation After Thoracic Aortic Surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*, 99(1):103–108, jan 2015.
- [13] S. F. Aranki, D. P. Shaw, D. H. Adams, R. J. Rizzo, G. S. Couper, M. VanderVliet, J. J. Collins, L. H. Cohn, and H. R. Burstin. Predictors of atrial fibrillation after coronary artery surgery. Current trends and impact on hospital resources. *Circulation*, 94(3):390–397, aug 1996.
- [14] J Ausma, N Litjens, M H Lenders, H Duimel, F Mast, L Wouters, F Ramaekers, M Allessie, and M Borgers. Time course of atrial fibrillation-induced cellular structural remodeling in atria of the goat. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 33(12):2083–94, dec 2001.

- [15] S J Baker and E P Reddy. Modulation of life and death by the TNF receptor superfamily. *Oncogene*, 17:3261–3270, 1998.
- [16] Andreas S. Barth. Reprogramming of the Human Atrial Transcriptome in Permanent Atrial Fibrillation: Expression of a Ventricular-Like Genomic Signature. *Circulation Research*, 96(9):1022–1029, may 2005.
- [17] Jin-Xin Bei, Yi Li, Wei-Hua Jia, Bing-Jian Feng, Gangqiao Zhou, Li-Zhen Chen, Qi-Sheng Feng, Hui-Qi Low, Hongxing Zhang, Fuchu He, E Shyong Tai, Tiebang Kang, Edison T Liu, Jianjun Liu, and Yi-Xin Zeng. A genome-wide association study of nasopharyngeal carcinoma identifies three new susceptibility loci. *Nature genetics*, 42(7):599–603, jul 2010.
- [18] E. J. Benjamin, P. A. Wolf, R. B. D’Agostino, H. Silbershatz, W. B. Kannel, and D. Levy. Impact of Atrial Fibrillation on the Risk of Death : The Framingham Heart Study. *Circulation*, 98(10):946–952, sep 1998.
- [19] Emelia J Benjamin. Independent Risk Factors for Atrial Fibrillation in a Population-Based Cohort. *JAMA*, 271(11):840, mar 1994.
- [20] Mohamad N Bittar, John A Carey, James Barnard, James E Fildes, Vera Pravica, Nizar Yonan, and Ian V Hutchinson. Interleukin 6 G-174C polymorphism influences outcome following coronary revascularization surgery. *The heart surgery forum*, 8(3):E140–5; discussion E145, jan 2005.
- [21] Sander Bramer, F Joost ter Woorst, Martijn W A van Geldorp, Krista C van den Broek, Jos G Maessen, Eric Berreklouw, and Albert H van Straten. Does new-onset postoperative atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting affect postoperative quality of life? *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 146(1):114–8, jul 2013.
- [22] Sander Bramer, Albert H.M. van Straten, Mohamed A Soliman Hamad, Eric Berreklouw, Krista C. van den Broek, and Jos G Maessen. Body mass index predicts new-onset atrial fibrillation after cardiac surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 40:1182–1187, mar 2011.

- [23] M C Brandt, L Priebe, T Böhle, M Südkamp, and D J Beuckelmann. The ultrarapid and the transient outward K(+) current in human atrial fibrillation. Their possible role in postoperative atrial fibrillation. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 32(10):1885–96, oct 2000.
- [24] Ben Bridgewater, Bruce Keogh, Robin Kinsman, and Peter Walton. *SCTS 6th National Adult Cardiac Surgical Database Report 2008*, volume 33. jun 2008.
- [25] P. Bruins, H. t. Velthuis, A. P. Yazdanbakhsh, P. G. M. Jansen, F. W. J. van Hardevelt, E. M. F. H. de Beaumont, C. R. H. Wildevuur, L. Eijssman, A. Trouwborst, C. E. Hack, and H te Velthuis. Activation of the Complement System During and After Cardiopulmonary Bypass Surgery : Postsurgery Activation Involves C-Reactive Protein and Is Associated With Postoperative Arrhythmia. *Circulation*, 96(10):3542–3548, nov 1997.
- [26] B J Brundel, I C van Gelder, R H Henning, A E Tuinenburg, L E Deelman, R G Tieleman, J G Grandjean, W H van Gilst, and H J Crijns. Gene expression of proteins influencing the calcium homeostasis in patients with persistent and paroxysmal atrial fibrillation. *Cardiovascular research*, 42:443–454, 1999.
- [27] Airlie Cameron, Miles J. Schwartz, Richard A. Kronmal, and Andrzej S. Kosinski. Prevalence and significance of atrial fibrillation in coronary artery disease (CASS registry). *The American Journal of Cardiology*, 61(10):714–717, 1988.
- [28] A John Camm, Paulus Kirchhof, Gregory Y H Lip, Ulrich Schotten, Irene Savelieva, Sabine Ernst, Isabelle C Van Gelder, Nawwar Al-Attar, Gerhard Hindricks, Bernard Prendergast, Hein Heidbuchel, Ottavio Alfieri, Annalisa Angelini, Dan Atar, Paolo Colonna, Raffaele De Caterina, Johan De Sutter, Andreas Goette, Bulent Gorenek, Magnus Heldal, Stefan H Hohloser, Philippe Kolh, Jean-Yves Le Heuzey, Piotr Ponikowski, and Frans H Rutten. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *European heart journal*, 31:2369–2429, 2010.

- [29] M G Cherian and M D Apostolova. Nuclear localization of metallothionein during cell proliferation and differentiation. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, 46(2):347–56, 2000.
- [30] Ender Coskunpinar, Emel Canbay, Yasemin Musteri Oltulu, Necip Ozan Tiryakioglu, and Dursun Bugra. GSTT1 is deregulated in left colon tumors. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(5):2319–2321, 2014.
- [31] Monica Cresci, Ilenia Foffa, Lamia Ait-Ali, Silvia Pulignani, Emilio Antonio, Luca Gianicolo, Nicoletta Botto, Eugenio Picano, and Maria Grazia Andreassi. Maternal and Paternal Environmental Risk Factors, Metabolizing GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms, and Congenital Heart Disease. *AJC*, 108:1625–1631, 2011.
- [32] J J Curtis, B M Parker, C A McKenney, C C Wagner-Mann, J T Walls, T L Demmy, and R A Schmaltz. Incidence and predictors of supraventricular dysrhythmias after pulmonary resection. *The Annals of thoracic surgery*, 66(5):1766–71, nov 1998.
- [33] Amrish Deshmukh, John Barnard, Han Sun, David Newton, Laurie Castel, Gosta Pettersson, Douglas Johnston, Eric Roselli, A. Marc Gillinov, Kenneth McCurry, Christine Moravec, Jonathan D. Smith, David R. Van Wagoner, and Mina K. Chung. Left Atrial Transcriptional Changes Associated with Atrial Fibrillation Susceptibility and Persistence. *Circulation. Arrhythmia and electrophysiology*, 8(1):CIRCEP.114.001632–, feb 2014.
- [34] C Dimmer, R Tavernier, N Gjorgov, G Van Nooten, D L Clement, and L Jordaens. Variations of autonomic tone preceding onset of atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *The American journal of cardiology*, 82(1):22–5, jul 1998.
- [35] Yuming Du, Hongmin Wang, Xin Fu, Rongqing Sun, and Yuqian Liu. GSTT1 null genotype contributes to coronary heart disease risk: a meta-analysis. *MOLECULAR BIOLOGY REPORTS*, 2012.
- [36] E Dupont, Y Ko, S Rothery, S R Coppen, M Baghai, M Haw, and N J Severs. The

gap-junctional protein connexin40 is elevated in patients susceptible to postoperative atrial fibrillation. *Circulation*, 103(6):842–9, feb 2001.

- [37] M T Eby, A Jasmin, A Kumar, K Sharma, and P M Chaudhary. TAJ, a novel member of the tumor necrosis factor receptor family, activates the c-Jun N-terminal kinase pathway and mediates caspase-independent cell death. *The Journal of biological chemistry*, 275(20):15336–42, may 2000.
- [38] Lars Feuk, Jonathan A. Prince, Kaj Blennow, and Anthony J. Brookes. Further evidence for role of a promoter variant in the TNFRSF6 gene in Alzheimer disease. *Human Mutation*, 21:53–60, 2003.
- [39] Leif Friberg, Niklas Hammar, and Mårten Rosenqvist. Stroke in paroxysmal atrial fibrillation: report from the Stockholm Cohort of Atrial Fibrillation. *European heart journal*, 31:967–975, 2010.
- [40] Yi Gang, Katerina Hnatkova, Kaushik Mandal, Azad Ghuran, and Marek Malik. Pre-operative electrocardiographic risk assessment of atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, 15(12):1379–86, dec 2004.
- [41] S H Garrett, M Belcastro, M A Sens, S Somji, and D A Sens. Acute exposure to arsenite induces metallothionein isoform-specific gene expression in human proximal tubule cells. *Journal Of Toxicology And Environmental Health. Part A*, 64(4):343–355, 2001.
- [42] Patrick H Gibson, Brian H Cuthbertson, Bernard L Croal, Daniela Rae, Hussein El-Shafei, George Gibson, Robert R Jeffrey, Keith G Buchan, and Graham S Hillis. Usefulness of neutrophil/lymphocyte ratio as predictor of new-onset atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *The American journal of cardiology*, 105(2):186–91, jan 2010.
- [43] Nicolas Girerd, Philippe Pibarot, Pascal Daleau, Pierre Voisine, Gilles O’Hara, Jean-Pierre Després, and Patrick Mathieu. Statins reduce short- and long-term mortality

associated with postoperative atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting: impact of postoperative atrial fibrillation and statin therapy on survival. *Clinical cardiology*, 35(7):430–6, jan 2012.

- [44] A S Go, E M Hylek, K A Phillips, Y Chang, L E Henault, J V Selby, and D E Singer. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 285:2370–2375, 2001.
- [45] Andreas Goette, Gina Juenemann, Brigitte Peters, Helmut U Klein, Albert Roessner, Christof Huth, and Christoph Röcken. Determinants and consequences of atrial fibrosis in patients undergoing open heart surgery. *Cardiovascular research*, 54(2):390–6, may 2002.
- [46] Ioannis Grammatikakis, Young Hwa Goo, Gloria V. Echeverria, and Thomas a. Cooper. Identification of MBNL1 and MBNL3 domains required for splicing activation and repression. *Nucleic Acids Research*, 39(7):2769–2780, 2011.
- [47] S P Gygi, B Rist, S A Gerber, F Turecek, M H Gelb, and R Aebersold. Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags. *Nature biotechnology*, 17(10):994–9, oct 1999.
- [48] T Hakala, A Hedman, A Turpeinen, R Kettunen, O Vuolteenaho, and M Hippeläinen. Prediction of atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting by measuring atrial peptide levels and preoperative atrial dimensions. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 22(6):939–43, dec 2002.
- [49] Niamh Hannon, Orla Sheehan, Lisa Kelly, Michael Marnane, Aine Merwick, Alan Moore, Lorraine Kyne, Joseph Duggan, Joan Moroney, Patricia M E McCormack, Leslie Daly, Nicola Fitz-Simon, Dawn Harris, Gillian Horgan, Emma B Williams, Karen L Furie, and Peter J Kelly. Stroke associated with atrial fibrillation—incidence and early

outcomes in the north Dublin population stroke study. *Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland)*, 29:43–49, 2010.

- [50] Nima Hatam, Ali Aljalloud, Karl Mischke, Elias A Karfis, Rüdiger Autschbach, Rainer Hoffmann, and Andreas Goetzenich. Interatrial conduction disturbance in postoperative atrial fibrillation: a comparative study of P-wave dispersion and Doppler myocardial imaging in cardiac surgery. *Journal of cardiothoracic surgery*, 9(1):114, jan 2014.
- [51] Jeff S. Healey, Stuart J. Connolly, Michael R. Gold, Carsten W. Israel, Isabelle C. Van Gelder, Alessandro Capucci, C.P. Lau, Eric Fain, Sean Yang, Christophe Bailleul, Carlos A. Morillo, Mark Carlson, Ellison Themeles, Elizabeth S. Kaufman, and Stefan H. Hohnloser. Subclinical Atrial Fibrillation and the Risk of Stroke, 2012.
- [52] Paul M Heerdt, Ritu Kant, Zhaoyang Hu, Vikram A Kanda, David J Christini, Jaideep K Malhotra, and Geoffrey W Abbott. Transcriptomic analysis reveals atrial KCNE1 down-regulation following lung lobectomy. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 53(3):350–3, sep 2012.
- [53] Jan Heeringa, Jan a Kors, Albert Hofman, Frank J a van Rooij, and Jacqueline C M Witteman. Cigarette smoking and risk of atrial fibrillation: the Rotterdam Study. *American heart journal*, 156(6):1163–9, dec 2008.
- [54] Jan Heeringa and DAM van der Kuip. Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: the Rotterdam study. *European heart . . .*, 27(8):949–53, apr 2006.
- [55] Solveig Helgadóttir, Martin I Sigurdsson, Inga L Ingvarsdóttir, David O Arnar, and Tomas Gudbjartsson. Atrial fibrillation following cardiac surgery: risk analysis and long-term survival. *Journal of cardiothoracic surgery*, 7(1):87, jan 2012.
- [56] Adrian V Hernandez, Roop Kaw, Vinay Pasupuleti, Pouya Bina, John P A Ioannidis, Hector Bueno, Eric Boersma, and Marc Gillinov. Association between obesity and postoperative atrial fibrillation in patients undergoing cardiac operations: a systematic review and meta-analysis. *The Annals of thoracic surgery*, 96(3):1104–16, sep 2013.

- [57] Gerd Herold. *Innere Medizin*. Köln, 2012.
- [58] Thai H Ho, Nicolas Charlet-B, Michael G Poulos, Gopal Singh, Maurice S Swanson, and Thomas A Cooper. Muscleblind proteins regulate alternative splicing. *The EMBO Journal*, 23:3103–3112, 2004.
- [59] Adele F Holloway, Fiona a Stennard, and Adrian K West. Human metallothionein gene MT1L mRNA is present in several human tissues but is unlikely to produce a metallothionein protein. *FEBS Letters*, 404(1):41–44, mar 1997.
- [60] M Hravnak, L A Hoffman, M I Saul, T G Zullo, and G R Whitman. Resource utilization related to atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *American Journal of Critical Care*, 11(3):228–238, 2002.
- [61] Shimin Hu, Koji Tamada, Jian Ni, Claudius Vincenz, and Lieping Chen. Characterization of TNFRSF19, a novel member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Genomics*, 62(1):103–7, nov 1999.
- [62] Yosuke Ishii, Richard B Schuessler, Sydney L Gaynor, Kiyomi Yamada, Annabel S Fu, John P Boineau, and Ralph J Damiano. Inflammation of atrium after cardiac surgery is associated with inhomogeneity of atrial conduction and atrial fibrillation. *Circulation*, 111(22):2881–8, jun 2005.
- [63] Denis Jabaudon, Juan Sztajzel, Katia Sievert, Theodor Landis, and Roman Sztajzel. Usefulness of ambulatory 7-day ECG monitoring for the detection of atrial fibrillation and flutter after acute stroke and transient ischemic attack. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 35(7):1647–51, jul 2004.
- [64] J H Kagi and Y Kojima. Chemistry and biochemistry of metallothionein. *Experientia Suppl*, 52:25–61, 1987.
- [65] S Kallel, A Jarrya, Z Triki, M Abdenadher, J Frikha, and A Karoui. The use of N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a predictor of atrial fibrillation after cardiac surgery. *The Journal of cardiovascular surgery*, 54(3):403–11, jun 2013.

- [66] Auinash Kalsotra, Xinshu Xiao, Amanda J Ward, John C Castle, Jason M Johnson, Christopher B Burge, and Thomas A Cooper. A postnatal switch of CELF and MBNL proteins reprograms alternative splicing in the developing heart. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(51):20333–8, dec 2008.
- [67] Masako Kanekiyo, Norio Itoh, Atsuko Kawasaki, Akiko Matsuyama, Kimihiro Matsuda, Tsuyoshi Nakanishi, and Keiichi Tanaka. Metallothionein modulates lipopolysaccharide-stimulated tumour necrosis factor expression in mouse peritoneal macrophages. *The Biochemical journal*, 361(Pt 2):363–9, jan 2002.
- [68] Tamara Raphael Knight, Supratim Choudhuri, and Curtis D Klaassen. Constitutive mRNA Expression of Various Glutathione S-Transferase Isoforms in Different Tissues of Mice. *TOXICOLOGICAL SCIENCES*, 100(2):513–524, 2007.
- [69] Tetsuo Kojima, Yoshihiro Morikawa, Neal G. Copeland, Debra J. Gilbert, Nancy A. Jenkins, Emiko Senba, and Toshio Kitamura. TROY, a newly identified member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, exhibits a homology with Edar and is expressed in embryonic skin and hair follicles. *Journal of Biological Chemistry*, 275:20742–20747, 2000.
- [70] Minyoung Kong, Younyoung Kim, and Chaeyoung Lee. A strong synergistic epistasis between FAM134B and TNFRSF19 on the susceptibility to vascular dementia. *Psychiatric genetics*, 21(1):37–41, feb 2011.
- [71] Antonios Kourliouros, Xiaoke Yin, Athanasios Didangelos, Morteza Tavakkoli Hoss-eini, Oswaldo Valencia, Manuel Mayr, and Marjan Jahangiri. Substrate modifications precede the development of atrial fibrillation after cardiac surgery: a proteomic study. *The Annals of thoracic surgery*, 92(1):104–10, jul 2011.
- [72] Bouwe P Krijthe, Anton Kunst, Emelia J Benjamin, Gregory Y H Lip, Oscar H Franco, Albert Hofman, Jacqueline C M Witteman, Bruno H Stricker, and Jan Heeringa.

Projections on the number of individuals with atrial fibrillation in the European Union, from 2000 to 2060. *European heart journal*, 34(35):2746–51, sep 2013.

- [73] K.-S. Lee, Yi Cao, Hanna E Witwicka, Susan Tom, Stephen J Tapscott, and Edith H Wang. RNA-binding Protein Muscleblind-like 3 (MBNL3) Disrupts Myocyte Enhancer Factor 2 (Mef2) -Exon Splicing. *Journal of Biological Chemistry*, 285(44):33779–33787, oct 2010.
- [74] R Li, A R Folsom, A R Sharrett, D Couper, M Bray, and H A Tyroler. Interaction of the glutathione S-transferase genes and cigarette smoking on risk of lower extremity arterial disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis*, 154(3):729–738, feb 2001.
- [75] Honghuang Lin, Xiaoyan Yin, Kathryn L Lunetta, Josée Dupuis, David D McManus, Steven A Lubitz, Jared W Magnani, Roby Joehanes, Peter J Munson, Martin G Larson, Daniel Levy, Patrick T Ellinor, and Emelia J Benjamin. Whole blood gene expression and atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. *PloS one*, 9(5):e96794, jan 2014.
- [76] Donald M Lloyd-Jones, Thomas J Wang, Eric P Leip, Martin G Larson, Daniel Levy, Ramachandran S Vasan, Ralph B D’Agostino, Joseph M Massaro, Alexa Beiser, Philip A Wolf, and Emelia J Benjamin. Lifetime risk for development of atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 110(9):1042–6, aug 2004.
- [77] Bernard Lo, Rob Fijnheer, Arno P Nierich, Peter Bruins, and Cor J Kalkman. C-reactive protein is a risk indicator for atrial fibrillation after myocardial revascularization. *The Annals of thoracic surgery*, 79(5):1530–5, may 2005.
- [78] Richard M. Locksley, Nigel Killeen, and Michael J. Lenardo. The TNF and TNF Receptor Superfamilies. *Cell*, 104(4):487–501, feb 2001.
- [79] Sergiy Lokshyn, Christian Mewis, and Volker Kuhlham. Atrial fibrillation in coronary artery disease. *International Journal of Cardiology*, 72:133–136, 2000.

- [80] Giovanni Mariscalco and Karl Gunnar Engström. Are current smokers paradoxically protected against atrial fibrillation after cardiac surgery? *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 11(1):58–63, jan 2009.
- [81] J M McCord. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England journal of medicine*, 312(3):159–63, jan 1985.
- [82] Sha Mi. Troy/Taj and its role in CNS axon regeneration. *Cytokine & growth factor reviews*, 19(3-4):245–51, 2008.
- [83] Yoko Miyasaka, Marion E. Barnes, Kent R. Bailey, Stephen S. Cha, Bernard J. Gersh, James B. Seward, and Teresa S M Tsang. Mortality trends in patients diagnosed with first atrial fibrillation: a 21-year community-based study. *Journal of the American College of Cardiology*, 49(9):986–92, mar 2007.
- [84] Yoko Miyasaka, Marion E Barnes, Bernard J Gersh, Stephen S Cha, Kent R Bailey, Walter P Abhayaratna, James B Seward, and Teresa S M Tsang. Secular trends in incidence of atrial fibrillation in Olmsted County, Minnesota, 1980 to 2000, and implications on the projections for future prevalence. *Circulation*, 114(2):119–25, jul 2006.
- [85] Gordon K Moe, Werner C Rheinboldt, and J.A Abildskov. A computer model of atrial fibrillation. *American Heart Journal*, 67(2):200–220, feb 1964.
- [86] Takeshi Nakamura, Akihiro Azuma, Takahisa Sawada, Kenzo Sakamoto, Tetsuhiro Yamano, Hitoshi Yaku, and Hiroaki Matsubara. Brain natriuretic peptide concentration in pericardial fluid is independently associated with atrial fibrillation after off-pump coronary artery bypass surgery. *Coronary artery disease*, 18(4):253–8, jun 2007.
- [87] S Nattel. Atrial electrophysiological remodeling caused by rapid atrial activation: underlying mechanisms and clinical relevance to atrial fibrillation. *Cardiovascular research*, 42(2):298–308, may 1999.

- [88] Stanley Nattel. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature*, 415(6868):219–226, 2002.
- [89] Jonas Bjerring Olesen, Christian Torp-Pedersen, Morten Lock Hansen, and Gregory Y H Lip. The value of the CHA2DS2-VASc score for refining stroke risk stratification in patients with atrial fibrillation with a CHADS2 score 0-1: a nationwide cohort study. *Thrombosis and haemostasis*, 107(6):1172–9, jun 2012.
- [90] R L Page, W E Wilkinson, W K Clair, E A McCarthy, and E L Pritchett. Asymptomatic arrhythmias in patients with symptomatic paroxysmal atrial fibrillation and paroxysmal supraventricular tachycardia. *Circulation*, 89(1):224–7, jan 1994.
- [91] Peter Peduzzi, John Concato, Elizabeth Kemper, Theodore R Holford, and Alvan R Feinstein. A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. *Journal of Clinical Epidemiology*, 49(12):1373–1379, dec 1996.
- [92] Sally Pemble, Klaus R Schroeder, Sharon R Spencer, David J Meyer, Ernst Hallier, Hermann M Bolt, Brian Ketterer, and John B Taylor. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *The Biochemical journal*, 300 (Pt 1:271–6, may 1994.
- [93] Nicole M. Probst-Hensch, Medea Imboden, Denise Felber Dietrich, Jean-Claude Barthélemy, Ursula Ackermann-Liebrich, Wolfgang Berger, Jean-Michel Gaspoz, and Joel Schwartz. Glutathione S-transferase polymorphisms, passive smoking, obesity, and heart rate variability in nonsmokers. *Environmental health perspectives*, 116(11):1494–9, nov 2008.
- [94] Basel Ramlawi, Hasan Otu, Shigetoshi Mieno, Munir Boodhwani, Neel R Sodha, Richard T Clements, Cesario Bianchi, and Frank W Sellke. Oxidative stress and atrial fibrillation after cardiac surgery: a case-control study. *The Annals of thoracic surgery*, 84(4):1166–72; discussion 1172–3, oct 2007.
- [95] Farideh Roshanali, Mohammad Hossein Mandegar, Mohammad Ali Yousefnia, Hussein Rayatzadeh, Farshid Alaeddini, and Farshad Amouzadeh. Prediction of atrial fi-

brillation via atrial electromechanical interval after coronary artery bypass grafting. *Circulation*, 116:2012–2017, 2007.

- [96] Carlo Rostagno, Mark La Meir, Sandro Gelsomino, Lorenzo Ghilli, Alessandra Rossi, Enrico Carone, Lucio Braconi, Gabriele Rosso, Francesco Puggelli, Alessio Mattesini, Pier Luigi Stefàno, Luigi Padeletti, Jos Maessen, and Gian Franco Gensini. Atrial fibrillation after cardiac surgery: incidence, risk factors, and economic burden. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*, 24(6):952–8, dec 2010.
- [97] Feridoun Sabzi, Abdol Hamid Zokaei, and Abdol Rasoul Moloudi. Predictors of atrial fibrillation following coronary artery bypass grafting. *Clinical Medicine Insights. Cardiology*, 5:67–75, jan 2011.
- [98] RB Schnabel, S Wilde, and PS Wild. Atrial Fibrillation: Its Prevalence and Risk Factor Profile in the German General Population. *Deutsches Ärzteblatt . . .*, 2012.
- [99] Renate B Schnabel, Philipp S Wild, Andreas Schulz, Tanja Zeller, Christoph R Sinning, Sandra Wilde, Jan Kunde, Edith Lubos, Karl J Lackner, Ascan Warnholtz, Tommaso Gori, Stefan Blankenberg, Thomas Munzel, and Gutenberg Health Study Investigators. Multiple endothelial biomarkers and noninvasive vascular function in the general population: the Gutenberg Health Study. *Hypertension*, 60(2):288–295, aug 2012.
- [100] Simon Schön, Isabelle Flierman, Andrea Ofner, Anika Stahringer, Lesca Miriam Holdt, Frank T. Kolligs, and Andreas Herbst. β -catenin regulates NF- κ B activity via TNFRSF19 in colorectal cancer cells. *International Journal of Cancer*, 135:1800–1811, 2014.
- [101] Akira Sezai, Mitsumasa Hata, Tetsuya Niino, Yuji Kasamaki, Toshiko Nakai, Atsushi Hirayama, and Kazutomo Minami. Study of the factors related to atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting: a search for a marker to predict the occurrence of atrial fibrillation before surgical intervention. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 137(4):895–900, apr 2009.

- [102] D A Sideris, S T Toumanidis, E Tselepatiotis, K Kostopoulos, T Stringli, T Kitsiou, and S D Moulopoulos. Atrial pressure and experimental atrial fibrillation. *Pacing and clinical electrophysiology : PACE*, 18(9 Pt 1):1679–85, sep 1995.
- [103] Remco a Spanjaard, Kara M Whren, Carole Graves, and Jag Bhawan. Tumor necrosis factor receptor superfamily member TROY is a novel melanoma biomarker and potential therapeutic target. *International journal of cancer. Journal international du cancer*, 120(6):1304–10, mar 2007.
- [104] S Sridharan, A L Allen, B Kidney, and A N Al-Dissi. Metallothionein Expression in Dogs With Chronic Hepatitis and Its Correlation With Hepatic Fibrosis, Inflammation, and Ki-67 Expression. *Veterinary pathology*, pages 0300985815588607–, 2015.
- [105] F a Stennard, a F Holloway, J Hamilton, and a K West. Characterisation of six additional human metallothionein genes. *Biochimica et biophysica acta*, 1218(3):357–65, 1994.
- [106] Xiumei Sun, Steven W Boyce, Peter C Hill, Ammar S Bafi, Zhengyi Xue, Joseph Lindsay, and Paul J Corso. Association of body mass index with new-onset atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting operations. *The Annals of thoracic surgery*, 91(6):1852–8, jun 2011.
- [107] Emanuela Taioli, Daniela Mari, Claudio Franceschi, Massimiliano Bonafè, Daniela Monti, Stefano Bertolini, Daniela Marinelli, and Seymour Garte. Polymorphisms of Drug-Metabolizing Enzymes in Healthy Nonagenarians and Centenarians: Difference at GSTT1 Locus. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 280(5):1389–1392, feb 2001.
- [108] Yelda Tayyareci, Ozlem Yildirimtürk, Vedat Aytekin, Kadriye Memic, Fusun Behramoglu, I C Cemsid Demiroglu, and Saide Aytekin. Preoperative left atrial mechanical dysfunction predicts postoperative atrial fibrillation after coronary artery bypass graft operation – a velocity vector imaging-based study –. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*, 74(10):2109–17, oct 2010.

- [109] Assay Technologies. June 2012 Blood Mini Handbook Sample & Assay Technologies QIAGEN Sample and Assay Technologies. (June), 2012.
- [110] Victor L.J.L. Thijssen, Jannie Ausma, Guo Shu Liu, Maurits A Allessie, Guillaume J.J.M. van Eys, and Marcel Borgers. Structural Changes of Atrial Myocardium During Chronic Atrial Fibrillation. *Cardiovascular Pathology*, 9(1):17–28, jan 2000.
- [111] E. Thoren, Laila Hellgren, L. Jideus, and E. Stahle. Prediction of postoperative atrial fibrillation in a large coronary artery bypass grafting cohort. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, 14(5):588–593, may 2012.
- [112] Pearl P.-C. Toh, Jasmine J Li, George W.-C. Yip, Soo-Ling Lo, Chun-Hua Guo, Toan-Thang Phan, and Boon-Huat Bay. Modulation of metallothionein isoforms is associated with collagen deposition in proliferating keloid fibroblasts in vitro. *Experimental Dermatology*, 19(11):987–993, nov 2010.
- [113] I C Van Gelder, B J Brundel, R H Henning, A E Tuinenburg, R G Tieleman, L Deelman, J G Grandjean, P J De Kam, W H Van Gilst, and H J Crijns. Alterations in gene expression of proteins involved in the calcium handling in patients with atrial fibrillation. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, 10(4):552–60, apr 1999.
- [114] D R Van Wagoner, A L Pond, M Lamorgese, S S Rossie, P M McCarthy, and J M Nerbonne. Atrial L-type Ca^{2+} currents and human atrial fibrillation. *Circulation research*, 85(5):428–36, sep 1999.
- [115] Rollo P Villareal, Ramesh Hariharan, Brant C Liu, Biswajit Kar, Vei-vei Lee, MacArthur Elayda, J Alberto Lopez, Abdi Rasekh, James M Wilson, and Ali Massumi. Post-operative atrial fibrillation and mortality after coronary artery bypass surgery. *Journal of the American College of Cardiology*, 43(5):742–8, mar 2004.
- [116] Markus C Wahl, Cindy L Will, and Reinhard Lührmann. The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine. *Cell*, 136(4):701–18, 2009.

- [117] S R Walsh, J E Oates, J A Anderson, S D Blair, C A Makin, and C J Walsh. Post-operative arrhythmias in colorectal surgical patients: incidence and clinical correlates. *Colorectal disease : the official journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland*, 8(3):212–6, mar 2006.
- [118] Thomas J Wang, Martin G Larson, Daniel Levy, Ramachandran S Vasan, Eric P Leip, Philip A Wolf, Ralph B D'Agostino, Joanne M Murabito, William B Kannel, and Emelia J Benjamin. Temporal relations of atrial fibrillation and congestive heart failure and their joint influence on mortality: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 107:2920–2925, 2003.
- [119] G Webb, V Vaska, M Coggan, and P Board. Chromosomal localization of the gene for the human theta class glutathione transferase (GSTT1). *Genomics*, 33(1):121–3, apr 1996.
- [120] Richard Whitlock, Jeff S Healey, Stuart J Connolly, Julie Wang, Matthew R Danter, Jack V Tu, Richard Novick, Stephen Fremes, Kevin Teoh, Vikas Khera, and Salim Yusuf. Predictors of early and late stroke following cardiac surgery. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 186(12):905–11, sep 2014.
- [121] M C Wijffels, C J Kirchhof, R Dorland, and M A Allessie. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*, 92(7):1954–68, oct 1995.
- [122] John S Witte, Lyle J Palmer, Richard D O'Connor, Penelope J Hopkins, and Jeff M Hall. Relation between tumour necrosis factor polymorphism TNFalpha-308 and risk of asthma. *European journal of human genetics : EJHG*, 10:82–85, 2002.
- [123] PA A. Wolf, R. D. Abbott, and WB B. Kannel. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 22(8):983–8, aug 1991.

- [124] Hao Wu, Lili Kong, Yanli Cheng, Zhiguo Zhang, Yangwei Wang, Manyu Luo, Yi Tan, Xiangmei Chen, Lining Miao, and Lu Cai. Metallothionein plays a prominent role in the prevention of diabetic nephropathy by sulforaphane via up-regulation of Nrf2. *Free Radical Biology and Medicine*, 89:431–442, dec 2015.
- [125] Bing Zhang, Stefan Kirov, and Jay Snoddy. WebGestalt: an integrated system for exploring gene sets in various biological contexts. *Nucleic acids research*, 33(Web Server issue):W741–8, 2005.
- [126] Jian Zhou, Jie Gao, Yan Liu, Song Gu, Xitao Zhang, Xiangguang An, Jun Yan, Yue Xin, and Pixiong Su. Human atrium transcript analysis of permanent atrial fibrillation. *International heart journal*, 55(1):71–7, 2014.
- [127] Tian-Biao Zhou, Gregor P C Drummen, Zong-Pei Jiang, and Yuan-Han Qin. GSTT1 polymorphism and the risk of developing prostate cancer. *American journal of epidemiology*, 180(1):1–10, 2014.

Abbildungsverzeichnis

1	Ergebnisse der Pearson-Korrelation zwischen den Ausgangscharakteristika	23
2	Ergebnisse der Pearson-Korrelation zwischen den Ausgangscharakteristika	24
3	Differenzielle Genexpression bei VHF im Vergleich zu Kontrollen	35
4	Differenzielle Genexpression bei POVf im Vergleich zu Kontrollen	36
5	Pathway Analyse der differenziell exprimierten Gene im Vorhofgewebe von Patienten mit prävalentem VHF	37

Tabellenverzeichnis

1	Ausgangscharakteristika des an der Studie teilgenommenen Gesamtkollektivs und der Untergruppen (kein VHF, prävalentes VHF und POVf)	21
2	Binär logistische multivariable Regressionsanalysen für prävalentes VHF versus kein VHF und POVf	26
3	Binär logistische multivariable Regressionsanalysen für prävalentes VHF versus kein VHF	26
4	Binär logistische multivariable Regressionsanalysen für POVf versus kein VHF	27
5	Binär logistische univariable Regressionsanalysen für prävalentes VHF versus kein VHF und POVf	27
6	Binär logistische univariable Regressionsanalysen für prävalentes VHF versus kein VHF	28
7	Binär logistische univariable Regressionsanalysen für POVf versus kein VHF	28
8	Anzahl der asservierten Gewebeprobe n zugeordnet zu den Operationstechniken und zu dem Herzrhythmus	29
9	RNA Konzentrationsbestimmung	30
10	cRNA Konzentrationsbestimmung	31
11	cDNA Konzentrationsbestimmung	33
12	Veränderung der Genexpression* bei Studienteilnehmern mit prävalentem VHF im Vergleich zu den Studienteilnehmern ohne VHF	34

13	Veränderung der Genexpression* bei Studienteilnehmern mit POVf im Vergleich zu den Studienteilnehmern ohne VHF	35
14	In die Organentwicklung involvierte Gene bei Patienten mit prävalentem VHF	38

Abkürzungsverzeichnis

ACB	Aorto-Koronarer Bypass
AFHRI-B	Atrial Fibrillation in High Risk Individuals-Biopsy
AGCC	CheneChip® Command Console®
AKE	Aortenklappenersatz
ANP	Atriales Natriuretisches Peptid
APE I	AP Endonuklease I
BNP	B-Typ Natriuretisches Peptid
cDNA	komplementäre DNA
CRP	C-Reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dTTTP	Desoxythymidintriphosphat
dUTP	Deoxyuridin Triphosphat
EKG	Elektrokardiogramm
EPV	Ereignisse pro Variable
FC	Fold Change
IL-6	Interleukin-6
JNK	C-Jun-N-terminale Kinase
KI	Konfidenzintervall
MBNL3	Muscleblind-Like Protein 3
miRNA	micro Ribonukleinsäure
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MT1L	Metallothionein 1L
NF- κ -B	Nuclear Factor κ B

NT-proBNP	N-terminales Propeptid BNP
OPCAB	Off-Pump-Coronary-Artery-Bypass
OR	Odds Ratio
OR pro SD	Odds Ratio pro Standardabweichung
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
POVF	Postoperatives Vorhofflimmern
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
SD	Standardabweichung
SR	Sinusrhythmus
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response-Syndrom
TdT	Terminale Desoxyribonukleotidyltransferase
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
TNFRSF	Tumornekrosefaktor-Rezeptor-Superfamilie Mitglied 19
tRNA	transfer Ribonukleinsäure
UDG	Uracil-DNA-Glucosidase
VHF	Vorhofflimmern

7 Danksagung

Als allererstes möchte ich mich bei meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Renate Schnabel bedanken, die mich großartig betreut hat, die wirklich jederzeit alle Fragen beiseite geräumt und für jede Situation eine Lösung hatte. Ich bedanke mich auch bei der Arbeitsgruppe, insbesondere bei Sandra Wilde, Francisco Ojeda-Echevarria, Christian Müller und Sebastian Appelbaum, die für alle Fragen statistischer und nichtstatistischer Natur für mich da waren. Ein großer Dank gilt Dr. Lenard Conradi für seine Hilfe im OP und Frau Prof. Tanja Zeller, Tim Hartmann und allen, die mich im Labor unterstützt haben. Meiner Schwester, Johann und Lucia danke ich für das aufmerksame Korrigieren, für die Motivation und für das allgemeine Dasein.

8 Lebenslauf

Der Lebenslauf entfällt in der elektronischen Version aus datenschutzrechtlichen Gründen.

9 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe. Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Ort, Datum

Unterschrift