

Aus der I Medizinischen Klinik
der Medizinischen Fakultät Mannheim
(Direktor: Prof. Dr. med. Daniel Dürschmied)

**Einfluss der interventionellen Vorhofohrverschluss-
Therapie auf den Metabolismus von essentiellen
Aminosäuren, Kynurenin und Kreatinin**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades
der
Medizinischen Fakultät Mannheim
der Ruprecht-Karls-Universität
zu Heidelberg

vorgelegt von
Ahmad Saleh

aus
Alqassim, Saudi-Arabien
2022

Dekan: Prof. Dr. med. Sergij Goerd
Referent: Prof. Dr. med. Ibrahim Akin

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

| | |
|---|----|
| ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | 1 |
| 1. EINLEITUNG | 3 |
| 1.1 Vorhofflimmern..... | 3 |
| 1.2 Thrombembolischer Schlaganfall..... | 4 |
| 1.2.1 Epidemiologie und Bedeutung..... | 4 |
| 1.2.2 Risikostratifizierung..... | 4 |
| 1.2.3 Schlaganfall-Prävention..... | 6 |
| 1.3 Das linke Vorhofohr..... | 7 |
| 1.3.1 Embryologie und Anatomie..... | 7 |
| 1.3.2 Physiologie..... | 7 |
| 1.3.3 Das linke Vorhofohr als Emboliequelle..... | 8 |
| 1.3.4 Der Vorhofohrverschluss als Alternative zur oralen Antikoagulation..... | 8 |
| 1.3.5 Chirurgischer Vorhofohr-Verschluss..... | 10 |
| 1.3.6 Interventioneller Vorhofohr-Verschluss..... | 10 |
| 1.4 Der Stoffwechsel des Herzens..... | 11 |
| 1.4.1 Aminosäuren als Substrat des myokardialen Metabolismus..... | 12 |
| 1.5 Das Metabolom..... | 14 |
| 1.6 Fragestellung..... | 19 |
| 2 MATERIAL UND METHODEN | 20 |
| 2.1 Studienpopulation..... | 20 |
| 2.2 Evaluation der Studienteilnehmer..... | 21 |
| 2.3 Interventioneller Vorhofohr-Verschluss und Follow-up..... | 22 |
| 2.4 Probengewinnung und –verarbeitung..... | 23 |
| 2.5 Metabolitenanalyse..... | 23 |
| 2.6 Statistische Analyse..... | 27 |

| | | |
|----------|---|----|
| 3 | ERGEBNISSE | 29 |
| 3.1 | Studienpopulation | 29 |
| 3.2 | Klinische Follow-up | 31 |
| 3.3 | Echokardiographische Evaluation..... | 32 |
| 3.4 | Einfluss der Vorhofohr-Verschluss-Therapie auf das Metabolom..... | 33 |
| 3.5 | Subgruppenanalyse | 36 |
| 3.6 | Multivariates lineares Regressionsmodell..... | 44 |
| 3.7 | Metabolischen Zyklen | 44 |
| 4 | DISKUSSION | 47 |
| 4.1 | Die Effekte des Vorhofohr-Verschlusses | 47 |
| 4.2 | Bioenergetische Einwirkung des Vorhofohr-Verschlusses..... | 50 |
| 4.3 | Der Einfluss des Vorhofohr-Verschlusses auf essentiellen Aminosäuren .. | 53 |
| 4.3.1 | Die verzweigt-kettigen Aminosäuren | 53 |
| 4.3.2 | Die Aromatischen Aminosäuren | 55 |
| 4.3.3 | Fischer-Ratio | 59 |
| 4.4 | Klinische und bioenergetische Bedeutung von Tryptophan und Kynurenin | 60 |
| 4.5 | Klinische und bioenergetische Bedeutung von Kreatinin | 65 |
| 4.6 | Studienlimitierungen..... | 67 |
| 4.7 | Schlussfolgerung..... | 68 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG | 69 |
| 6 | LITERATURVERZEICHNIS | 71 |
| 7 | EIGENE PUBLIKATIONEN | 82 |
| 8 | LEBENS LAUF | 83 |
| 9 | DANKSAGUNG | 84 |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|------------|---------------------------------------|
| AAA | aromatic amino acids |
| ACE | Angiotensin-konvertierendes Enzym |
| Acetyl-CoA | Acetyl-Coenzym-A |
| ADP | Adenosindiphosphate |
| ANP | Atriales natriuretisches Peptid |
| ASD | Atriumseptumdefekt |
| ASS | Acetylsalicylsäure |
| ATP | Adenosintriphosphate |
| AV-Knoten | Atrioventrikularknoten |
| BARC | bleeding academic research consortium |
| BCAA | branched-chain amino acids |
| BH4 | 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin |
| BMI | body mass index |
| BNP | brain natriuretic peptide |
| Bspw | beispielsweise |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CRT | cardiale Resynchronisations-Therapie |
| dl | Deziliter |
| DOPA | Dihydroxyphenylalanin |
| EDTA | ethylenediaminetetra-acetic acid |
| FADH2 | Flavin-Adenin-Dinukleotid |
| FATP | fatty acid transport protein |
| g | Gramm |
| GFR | glomeruläre Filtrationsrate |
| GLUT | Glucose transporter |
| Hb | Hämoglobin |
| HCA | hierarchische Clusteranalyse |
| HDL | Lipoprotein hoher Dichte |
| INR | International Normalized Ratio |
| IQR/IQB | interquartile range/Bereich |
| KHK | koronare Herzerkrankung |
| LA | linker Vorhof |

| | |
|------------|--|
| LAA | linksatrialer Appendix |
| LDH | Lactatdehydrogenase |
| LDL | Lipoprotein niederer Dichte |
| LV | linker Ventrikel |
| LVEDD | linksventrikulärer enddiastolische Diameter |
| MCT | monocarboxylate transporter |
| MDRD | Modification of Diet in Renal Disease |
| MS | Massenspektrometrie |
| NADH/H+ | Nicotinamidadenindinukleotid |
| NMR | Nuclear magnetic resonance |
| NOACs | neue orale Antikoagulantien/-ion |
| NT-Pro-BNP | N-terminale brain natriuretic peptid |
| NYHA | New York Heart Association |
| OAK | orale Antikoagulantien |
| pAVK | periphere arterielle Verschlusskrankheit |
| PCA | principal component analysis |
| PCI | perkutane Koronarintervention |
| PET | Positronen-Emissions-Tomographie |
| PFO | persistierendes Foramen ovale |
| PLS-DA | Partial Least Squares Discrimination-Analyse |
| PVI | Pulmonalvenenisolation |
| rANOVA | repeated measures Analysis of variance |
| sog. | sogenannte |
| SPECT | Singelphotonen-Emissions-Computertomographie |
| TEE | transösophageale Echokardiographie |
| TIA | transiente ischämische Attacke |
| u.a. | unter anderen |
| VKA | Vitamin-K-Antagonist |
| z.B. | zum Beispiel |

1. EINLEITUNG

1.1 Vorhofflimmern

Der Sinusknoten ist beim Menschen der Haupttaktgeber des Herzrhythmus und der darauffolgenden effektiven Herzaktion. Dabei ist es von vorrangiger Bedeutung, dass die Vorhöfe und Kammern synchronisiert zusammenarbeiten. Dies ist bei einem regelrechten Sinusrhythmus gewährleistet. Im Gegensatz zum Sinusrhythmus, ist das Vorhofflimmern durch unregelmäßige, zu schnelle und vor allem ineffektive Vorhofkontraktionen gekennzeichnet, die zu einer unregelmäßigen Überleitung auf die Herzkammern führen. Die schnellen Vorhoffrequenzen bis zu 600/min werden durch den AV-Knoten in ihrer Frequenz gebremst. (Speckmann, 2019)

Vorhofflimmern ist die häufigste Herzrhythmusstörung überhaupt und eine der häufigsten Ursachen für ambulante Arztbesuche und Krankenhausaufenthalte (Kirchhof et al., 2017). Die Prävalenz des Vorhofflimmerns in Deutschland wird auf etwa 2% geschätzt. Männer sind häufiger von Vorhofflimmern betroffen gerade im hohen Lebensalter. So beträgt bei über 65-jährigen die Häufigkeit von Vorhofflimmern vier Prozent, bei über 70-jährigen sieben und bei über 85-jährigen 15 Prozent. (Wilke et al., 2013)

Das Vorhofflimmern kann in fünf Arten unterteilt werden: erstmalig diagnostiziertes, paroxysmales, persistierendes, langanhaltend persistierendes und permanentes Vorhofflimmern (**Tabelle 1**). (Kirchhof et al., 2017)

Tabelle 1: Unterteilung des Vorhofflimmerns

| Vorhofflimmern-Typ | Definition |
|---|---|
| erstmalig diagnostiziertes Vorhofflimmern | jedes erstmalig diagnostizierte Vorhofflimmern, unabhängig von Dauer der Rhythmusstörung |
| paroxysmal persistierend | endet bis sieben Tage nach dem (vermuteten) Beginn spontan länger als sieben Tage bestehend, auch wenn die Episode nach sieben Tagen durch medikamentöse oder elektrische Kardioversion beendet wird. |
| Langanhaltend persistierend | hält länger als ein Jahr vor Versuch einer rhythmuserhaltenden Therapie an. |
| permanent | besteht dauerhaft, ist therapieresistent oder das Fortbestehen wird vom Patienten und Arzt akzeptiert |

Die Symptome des Vorhofflimmerns werden anhand des modifizierten European Heart Rhythm Association-Scores (EHRA) beschrieben (**Tabelle 2**). (Kirchhof et al., 2017)

Tabelle 2: Modifizierte EHRA-Klassifikation

| Modifizierter EHRA-Score | Symptome | Beschreibung |
|---------------------------------|-----------------|--|
| I | keine | Vorhofflimmern verursacht keinerlei Beschwerden. |
| Ila | leicht | Normale Alltagstätigkeit ist durch Vorhofflimmern-bezogene Symptome nicht beeinträchtigt. |
| IIb | mittelschwer | Normale Alltagstätigkeit ist durch Vorhofflimmern-bezogene Symptome nicht beeinträchtigt, aber Patienten sind durch die Symptome beunruhigt. |
| III | schwer | Normale Alltagstätigkeit ist durch Vorhofflimmern-bezogene Symptome beeinträchtigt. |
| IV | behindernd | Normale Alltagstätigkeit ist nicht mehr möglich. |

1.2 Thrombembolischer Schlaganfall

1.2.1 Epidemiologie und Bedeutung

Vorhofflimmern ist eine häufige Ursache für thrombembolische Ereignisse. Insbesondere ist hier der ischämische, emboligene Schlaganfall zu nennen. Dieser tritt mit einem fünffach erhöhten Risiko im Zuge von Vorhofflimmern auf. Das Vorhofflimmern selbst ist mit einer zweifach erhöhten Gesamtmortalität assoziiert. (Roger et al., 2012) Ischämische Schlaganfälle sind normalerweise die Folge eines arteriellen thrombotischen Gefäßverschlusses einer hirnersorgenden Arterie. Sie betreffen deshalb meistens ein größeres Hirnareal und sind entsprechend durch einen schwerwiegenderen klinischen Verlauf gekennzeichnet als Schlaganfälle anderer Ätiologie. (Jorgensen et al., 1996) Die Prävention eines ischämischen Schlaganfalls ist daher das favorisierte Therapieprinzip einer modernen Medizin.

1.2.2 Risikostratifizierung

Um ein erhöhtes Risiko für einen Schlaganfall mit entsprechender Therapieindikation abschätzen zu können, wurden verschiedene Punktsysteme (engl. Scores) entwickelt. Die gebräuchlichsten sind der sog. CHADS2-Score und dessen Weiterentwicklung der CHA2DS2-VASc-Score (Friberg et al., 2012). Seit seiner

Einführung in den europäischen Leitlinien 2010 wurde er in der Folge zum CHA2DS2-VASc-Score weiterentwickelt. (Camm et al., 2010) Folgende Faktoren werden berücksichtigt: Herzinsuffizienz, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, arterielle Gefäßerkrankung wie die koronare Herzerkrankung (KHK) oder die periphere arterielle Verschlusskrankheit (paVK), Geschlecht, Alter, eine transiente ischämische Attacke (TIA), ein vorbekannter Schlaganfall oder Thrombembolie (**Tabelle 3**). So beträgt das adjustierte jährliche Risiko einen Schlaganfall bei einem CHA2DS2-VASc-Score von einem Punkt zu erleiden etwa 1,3%, bei einem Score von fünf etwa 6,7% und beim Maximalpunktwert von neun bis zu 15,2%. (Gage et al., 2001)

Patienten ohne Risikofaktoren für einen Schlaganfall benötigen in der Regel keine medikamentöse Blutverdünnung (i.e. Antikoagulation), während Patienten mit einem CHA2DS2-VASc-Score von zwei oder mehr bei Männern, bzw. drei oder mehr bei Frauen davon eindeutig profitieren. Auch viele Patienten mit nur einem Risikofaktor (bspw. CHA2DS2-VASc-Score von eins bei Männern und zwei bei Frauen) können von einer Antikoagulation profitieren. (Kirchhof et al., 2017)

Tabelle 3: CHA2DS2-VASc- und HAS-BLED-Risikofaktoren. (INR, International Normalized Ratio; KHK, koronare Herzerkrankung; paVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit)

| CHA2DS2-VASc-Risikofaktor | Punkte | HAS-BLED-Risikofaktor | Punkte |
|---|---------------|--|---------------|
| Herzinsuffizienz | +1 | Niereninsuffizienz | +1 |
| Hypertonie | +1 | Hypertonie | +1 |
| Alter 75 Jahre oder älter | +2 | Lebererkrankung | +1 |
| Diabetes mellitus | +1 | größere Blutung in der Krankengeschichte | +1 |
| Früherer Schlaganfall, TIA oder Thrombembolie | +2 | früherer Schlaganfall | +1 |
| Gefäßerkrankung (KHK, paVK) | +1 | labile INR | +1 |
| Alter 65-74 Jahre | +1 | Lebensalter > 65 Jahre | +1 |
| Weibliches Geschlecht | +1 | für Blutungen prädisponierende Medikamente | +1 |
| --- | --- | übermäßiger Alkoholkonsum | +1 |
| <i>Summe</i> | <i>10</i> | | <i>9</i> |

Gleichzeitig wird das Blutungsrisiko anhand eines anderen Scores, dem sog. HAS-BLED-Score, eingeschätzt. Dieser Score ist im klinischen Alltag einfach

anzuwenden. (Friberg et al., 2012) In den Score gehen ein: arterielle Hypertonie, Leber- und Niereninsuffizienz, Schlaganfall oder Blutung in der Anamnese, labile INR-Einstellung durch Vitamin-K-Antagonisten, Alter > 65 Jahre, und die Einnahme anderer blutverdünnender Medikamente, sowie regelmäßiger Alkoholkonsum (**Tabelle 3**). Ab einem Wert von drei und größer besteht ein erhöhtes Blutungsrisiko, was eine besondere Vorsicht bei der Verordnung von oralen Antikoagulantien nach sich zieht. Die ärztliche Entscheidung für eine Antikoagulationstherapie wird individuell je nach Ausprägung des thrombembolischen Risikos und des Blutungsrisikos getroffen.

1.2.3 Schlaganfall-Prävention

Es ist erwiesen, dass eine orale Antikoagulation mit z.B. Vitamin-K-Antagonisten (VKA) oder den neuen oralen Antikoagulantien (NOAK) bei Patienten mit Vorhofflimmern Schlaganfälle wirksam verhindert und in der Folge auch die Mortalität deutlich reduzieren kann. (Avezum et al., 2015; Bansilal et al., 2015; Ezekowitz et al., 2016; Hart et al., 2007) VKA stellen die ursprüngliche Möglichkeit einer oralen Antikoagulation bei Vorhofflimmer-Patienten dar. Die VKA-Therapie konnte das Schlaganfallrisiko um zwei Drittel und die Mortalität um ein Viertel reduzieren im Vergleich zur Kontroll-Therapie mit Aspirin alleine oder ohne jedwede Blutverdünnung. (Hart et al., 2007) Jedoch ist diese Therapie durch einen engen therapeutischen Bereich, Notwendigkeit wiederholter Gerinnungswerte-Kontrollen, sowie durch das Risiko von Über- und Unterdosierungen limitiert.

NOAK sind direkte Inhibitoren entweder von Thrombin (Wirkstoff: Dabigatran) oder Faktor-Xa (Wirkstoffe: Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban). Sie stellen eine attraktive Alternative zu VKA dar und werden zunehmend im klinischen Alltag eingesetzt. Die Vorteile bestehen in einem einsehbareren therapeutischen Effekt, weniger Blutungskomplikationen und gleichwertiger Effizienz wie VKA. (Avezum et al., 2015; Bansilal et al., 2015; Ezekowitz et al., 2016; Giugliano et al., 2013)

Eine große Meta-Analyse der wichtigsten Zulassungsstudien zur Effektivität von NOAK gegenüber VKA bei Vorhofflimmern zeigte, dass NOAK das Risiko eines Schlaganfalls und thrombembolischer Ereignisse um 19% zusätzlich senken. Dieser Unterschied ist hauptsächlich durch die Reduktion des hämorrhagischen Schlaganfalls verursacht. Weitere Blutungskomplikationen waren bis auf gastrointestinale Blutungen, die häufiger unter NOAC auftraten, vergleichbar in beiden Gruppen. (Ruff et al., 2014) Im Gegensatz dazu stellen die Patienten, die

bereits eine lebensbedrohliche Blutung erlitten haben, eine große Herausforderung dar, da sie mit einem entsprechend erhöhten Rezidivblutungsrisiko durch eine Blutverdünnung assoziiert sind. Ein kompletter Verzicht auf eine Antikoagulationstherapie wird hier nicht empfohlen, da das thrombembolische Risiko entsprechend dem CHA2DS2-VASc-Score in jedem Fall erhöht ist. In diesem Fall kann der Verschluss des linken Vorhofohrs - entweder chirurgisch oder interventionell - bei Patienten mit eindeutiger Kontraindikation gegen eine Antikoagulation erwogen werden. Diese Option wird in den kommenden Abschnitten erläutert.

1.3 Das linke Vorhofohr

1.3.1 Embryologie und Anatomie

Das linke Vorhofohr (LAA: linksatrialer Appendix) entwickelt sich während der dritten Schwangerschaftswoche aus primordialem atrialen Gewebe, während der linke Vorhof aus den primordialen Pulmonalvenen entsteht. Das LAA ist durch eine trabekulierte Innenfläche gekennzeichnet und weist vielfältige Morphologien auf. (Ho et al., 2012) Generell hat es eine tubuläre Struktur und ist etwa zwei bis vier Zentimeter groß mit einem breiten Fuß und einer hackenförmigen Spitze, sowie begrenzenden Musculi pectinati ohne Cristae terminales. (Sharma et al., 1988) (Ernst et al., 1995) Es wurden vier verschiedene Morphologien beschrieben, die mit bis zu vier Lappen versehen sein können: Chicken Wing, Windsock, Kaktus und Blumenkohl. (Di Biase et al., 2012) Bei Vorliegen von Vorhofflimmern kann das Volumen des LAA bis zu dreifach größer werden als bei Patienten im Sinusrhythmus. (Shirani and Alaeddini, 2000)

1.3.2 Physiologie

Das LAA wirkt als Volumen-Reservoir für das Herz und trägt aktiv zur Systole und Diastole bei. Im normalen Herzzyklus wird das Blut aus dem LAA ausgeschwemmt. Damit können die Blutstase und die daraus resultierende Thrombenbildung verhindert werden. Das dopplersonographisch gemessene Blutflussmuster in das LAA ist quadriphasisch. (Jue et al., 1993). Die LAA-Entleerung fängt während der frühen Diastole durch die Sogkraft des Ventrikels an, gefolgt von einem kurzen langsamen Rückfluss. Während der späten Diastole ergibt sich ein zweiter Vorwärtsfluss durch die LAA-Kontraktion. Diese wird aufgrund der elastischen

Rückstellkraft des LAA schließlich von einem spät-diastolischen Rückfluss beantwortet (**Abbildung 1**). (Bansal and Kasliwal, 2012) Das LAA hat eine flexiblere Struktur als der linke Vorhof. Deshalb kann das LAA-Volumen im Falle eines Druckanstieges im linken Vorhof zunehmen. Damit stellt das LAA ein Blutreservoir dar und trägt als Teil der adaptiven Mechanismen des Herzens zur intrakardialen Blutdruckregulation bei. (Al-Saady et al., 1999) Weiterhin spielt das LAA eine wichtige Rolle in der neuro-humoralen Hämostase. Das atriale natriuretische Peptid (ANP) wird in den Vorhöfen und Vorhofohren produziert und gespeichert. Die ANP-Konzentrationen an den LAA-Wänden sind 40-fach höher im Vergleich zum linken Vorhof und den Herzkammern. (Tabata et al., 2000) Es wurde für längere Zeit vermutet, dass das B-typ natriuretische Peptid (BNP) ausschließlich im Ventrikelmyokard produziert wird. Jedoch zeigten Studien, dass die Vorhöfe auch eine signifikante Quelle der BNP-Produktion vor allem bei einer Herzinsuffizienz sind. (Luchner et al., 1998) Ein Zusammenhang zwischen BNP-Produktion und LAA-Dysfunktion, wie bei Vorhofflimmern, konnte ebenfalls nachgewiesen werden. (Igarashi et al., 2001) Weiterhin wurde in einer anderen Studie gezeigt, dass die Myozytenausdehnung direkt die ANP-Sekretion stimulieren kann. (Haanwinckel et al., 1995) Ebenfalls stimuliert eine anhaltende Hypoxie direkt die ANP- und BNP-Sekretionen. (Hopkins et al., 2004)

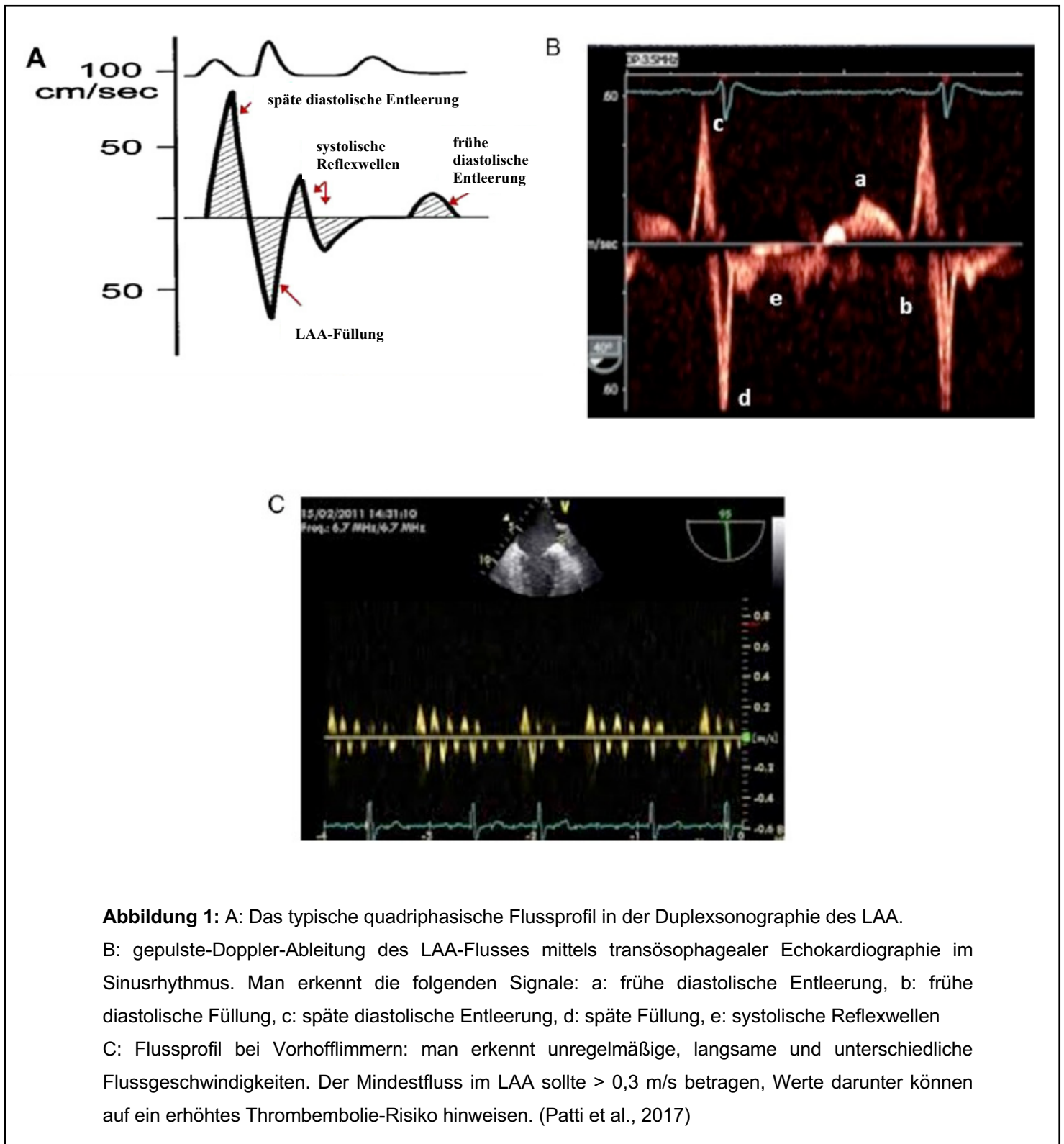
1.3.3 Das linke Vorhofohr als Emboliequelle

Das LAA ist der wichtigste Ort für die Bildung intrakardialer Thromben bei nicht-valvulärem Vorhofflimmern (Stoddard et al., 1995). Die Pathogenese kann auf mehrere Faktoren zurückgeführt werden. Aufgrund der mechanisch unwirksamen Vorhofaktionen findet keine effektive Entleerung der Vorhöfe statt. Das gestörte oben beschriebene quadriphasische Blutflussprofil im linken LAA führt zur Blutstase mit lokaler Thrombenbildung. Weiterhin konnten bei Vorhofflimmer-Patienten eine Endotheldysfunktion mit Ödembildung und Fibrinablagerungen im LAA mittels Elektronen-Mikroskopie nachgewiesen werden. (Masawa et al., 1993) Aufgrund dessen zeigen die Patienten mit Vorhofflimmern eine gestörte Hämostase im Sinne von erhöhten D-Dimer- und Fibrinogenspiegeln. (Lip et al., 1995)

1.3.4 Der Vorhofohrverschluss als Alternative zur oralen Antikoagulation

Der Verschluss des LAA (LAA-Verschluss), entweder chirurgisch oder interventionell, hat sich als mechanische Option zur Prävention von Thromboembolien bei Patienten

mit Vorhofflimmern und erhöhter Blutungsgefahr bewährt. Die aktuelle Datenlage der chirurgischen und der interventionellen Methode wird im Folgenden erläutert.



1.3.5 Chirurgischer Vorhofohr-Verschluss

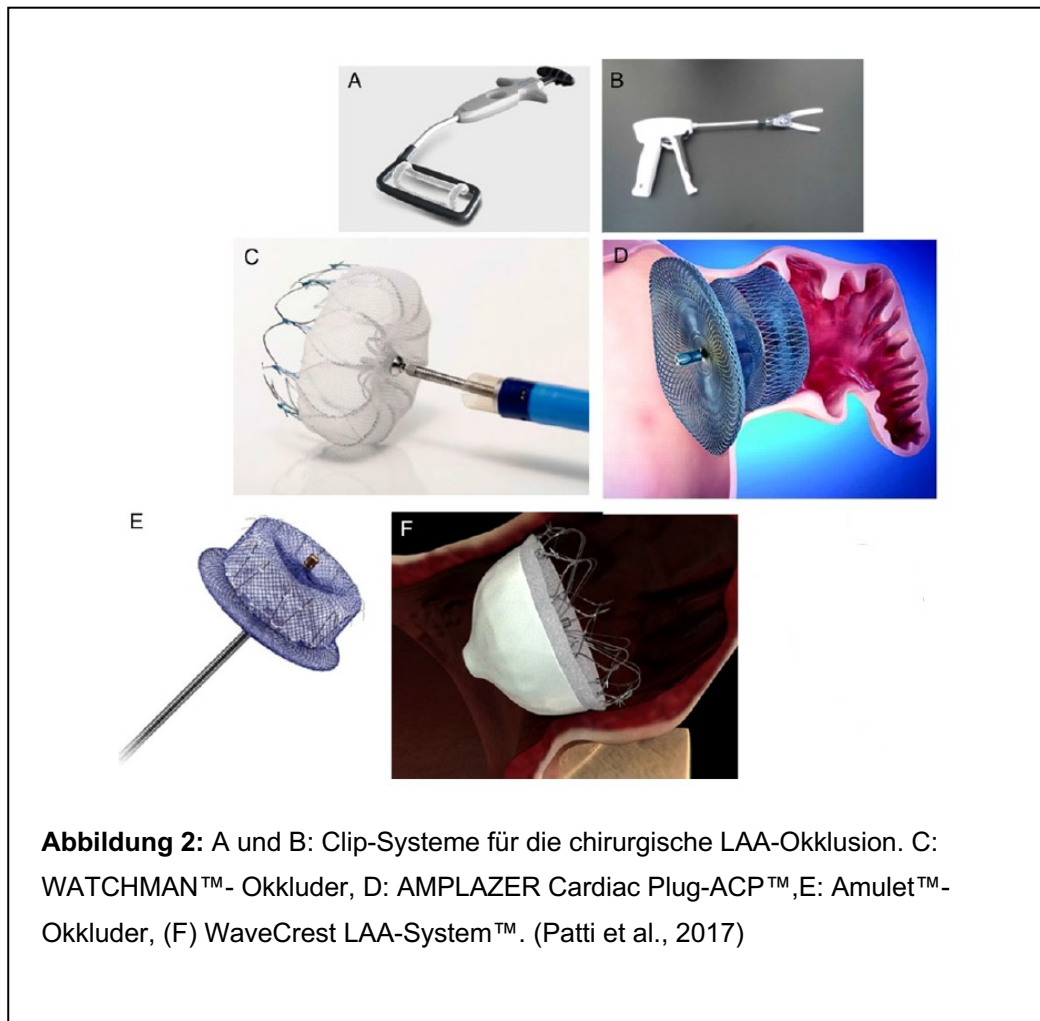
Der chirurgische Verschluss wird primär im Rahmen von anderen herzchirurgischen Eingriffen, wie z. B. Herzklappenoperationen, durchgeführt. Das LAA kann entweder mit einer Schere entfernt werden oder per Naht bzw. Stapler verschlossen werden (**Abbildung 2**). Jedoch sind die Erfolgsraten eher niedrig. Eine transösophageale Echokardiographie (TEE) von 137 Patienten nach chirurgischem Verschluss zeigte, dass die Erfolgsraten im Sinne von nicht mehr nachweisbarem Blutfluss ins LAA nach der kompletten Entfernung bei 73% lagen und nach LAA-Verschluss per Naht nur 23% waren. (Kanderian et al., 2008) Daher ist diese Methode keine sichere Alternative zur OAK.

1.3.6 Interventioneller Vorhofohr-Verschluss

Der Eingriff wird in den europäischen Leitlinien für die Behandlung des Vorhofflimmerns mit einer Klasse IIb-B empfohlen. (Kirchhof et al., 2017) Die zurzeit am meisten eingesetzten Systeme sind das Watchman™ (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA), Amplatzer™ Cardiac Plug und das Nachfolgemodell, der Amplatzer™ Amulet (St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA) (**Abbildung 2**).

Watchman-System: Nur dieses System wurde in randomisierten, kontrollierten Studien (PROTECT-AF und PREVAIL-Studie) gegen VKA getestet. In beiden Studien wurde festgestellt, dass der LAA-Okkluder dem VKA bezüglich der thrombembolischen Prävention nicht unterlegen ist. (Holmes et al., 2014) (Holmes et al., 2009) Die häufigsten interventionsbedingten Komplikationen waren ein Perikarderguss und ein Schlaganfall durch Luftembolisation. Jedoch zeigte eine Analyse der Kohorte der PROTECT-AF-Studie, dass die Komplikationsrate bei steigender Lernkurve des interventionellen Kardiologen rückläufig war. (Reddy et al., 2011)

Amplatzer™-Systeme: Für dieses Device liegt bis jetzt keine randomisierte, kontrollierte Studie vor. Es gibt lediglich retrospektive Registerdaten und Erfahrungsberichte. Allerdings zeigen diese ein akzeptables Sicherheits- und Effizienzprofil. (Guerios et al., 2012; Tzikas et al., 2016)



1.4 Der Stoffwechsel des Herzens

Der ständig aktive Herzmuskel verbraucht mehr Energie als alle anderen Organe. Die benötigte Energie wird überwiegend durch die Oxidation komplexer organischer Verbindungen gewonnen. (Heinrich, 2014, p. 795) Unter physiologischen Bedingungen werden Fettsäuren, Aminosäuren und Glukose im Verlauf der katabolen Stoffwechselforgänge abgebaut, um in den Citratzyklus als verschiedene Zwischenprodukte (u.a. Acetyl-CoA, Pyruvat, Oxalacetat und α -Ketoglutarat) einzuschleusen. (Heinrich, 2014, pp. 795-799) Dabei fallen reduzierte wasserstoffübertragende Coenzyme, wie z.B. Nicotinamadenindinukleotid (NADH/H⁺) und Flavin-Adenin-Dinukleotid (FADH₂), in großer Menge an. Diese Coenzyme reagieren in der Atmungskette der Mitochondrien mit dem Sauerstoff und produzieren einen ganz erheblichen Energiebetrag. (Taegtmeyer et al., 2016) Die

Konservierung der hierbei freiwerdenden Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) wird auch oxidative Phosphorylierung genannt. Alternativ kann unter anaeroben Bedingungen durch die Substratkettenphosphorylierung direkt das ATP erzeugt werden. (Heinrich, 2014, pp. 795-799) Im Vergleich zur oxidativen Phosphorylierung ist hierfür kein Elektronentransport über die Atmungskette und kein Sauerstoff nötig. Allerdings beschränkt sich der Energiegewinn auf wenige Reaktionen und ist deshalb relativ gering. (Taegtmeyer et al., 2016) Der ATP-Transfer von den Mitochondrien in die Myofibrillen wird durch das Kreatinphosphat gewährleistet. (Neubauer, 2007) Das Kreatinphosphat ist ein kurzfristig verfügbarer Energiespeicher der Muskelzelle. Um das für die Myokardkontraktion benötigte ATP zu erzeugen, wird mit Hilfe von Kreatinkinasen das Adenosindiphosphat (ADP) unter Verbrauch von Kreatinphosphat zum ATP phosphoryliert (**Abbildung 3**). (Neubauer, 2007)

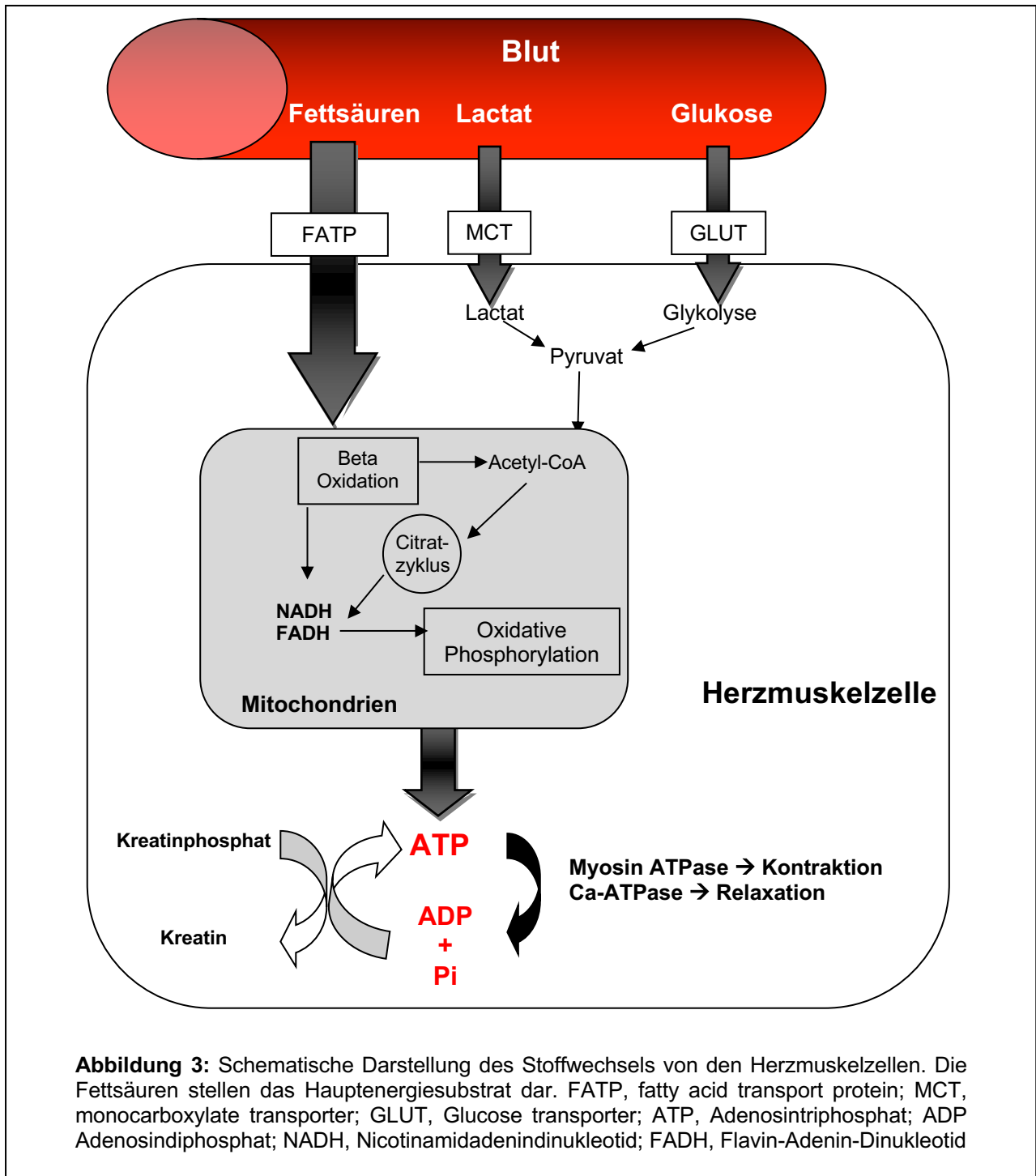
Das Herz kann sich sehr schnell an verschiedene pathophysiologische Umstände anpassen. Um den jeweils notwendigen Energiebedarf zu decken, kann das Herz aus fast jedem Substrat ATP gewinnen. Die vorrangigen Energiesubstrate des Herzens sind: Glukose, Glykogen, Lactat, Pyruvat, Triglyzeride, langkettige Fettsäuren, Ketonkörper, Acetoacetat und β -Hydroxybutyrat, sowie verschiedene Aminosäuren. (Taegtmeyer et al., 2016) Die Fettsäuren stellen das Hauptenergiesubstrat dar. Glukose wird nur genutzt, wenn ihr Blutspiegel hoch ist und das Insulin die Glukosetransporter (Glut-4) der Kardiomyozyten stimuliert. (Taegtmeyer et al., 2016)

Das oben beschriebene normale metabolische Substratmuster kann im Zuge verschiedener kardiovaskulärer Erkrankungen gestört werden. Hierdurch kommt es zu einer Ansammlung bzw. zum Verlust bestimmter Metaboliten. Diese Veränderungen werden indirekt über die veränderten Konzentrationen der Metabolite in der Blutbahn widerspiegelt. (Ussher et al., 2016) Durch moderne Messverfahren können heutzutage diverse Metabolite mit hoher Sensitivität und Spezifität gemessen werden.

1.4.1 Aminosäuren als Substrat des myokardialen Metabolismus

Die Aminosäuren sind bei der Proteinbiosynthese, Gluconeogenese und Biosynthese stickstoffhaltiger Verbindungen notwendig. Der Abbau der Aminosäuren ist auch eine wichtige Energiequelle, vor allem während der Nahrungskarenz und Hypoxie. (Drake et al., 2012) Hierbei werden Aminosäuren von extrahepatischen Geweben

abgegeben, um den Substratbedarf der in der Leber stattfindenden Gluconeogenese zu decken. Daher ist es aus bioenergetischer Sicht sehr bedeutsam, die Aminosäuren nach ihrer Funktion als Substrate der Gluconeogenese (glucogene versus ketogene Aminosäuren) separiert zu betrachten. (Löffler, 2008, pp. 13-15)



Der Abbau der ketogenen Aminosäuren liefert Acetyl-CoA oder Acetoacetat. Andererseits liefern die glukogenen Aminosäuren Pyruvat oder die Zwischenprodukte des Citratzyklus und werden zur Gluconeogenese verwendet (**Abbildung 4**). (Löffler, 2008, pp. 148-149) Die Myokardischämie z.B. im Zuge eines Herzinfarktes führt wegen des Sauerstoffmangels zur Abnahme des oxidativen Metabolismus. Infolgedessen nimmt die anaerobe ATP-Produktion durch die Glykolyse deutlich zu. Dadurch nimmt ebenfalls die lokale Gewebeazidose zu, die die Glykolyse wiederum stört. Deshalb müssen die Myokardzellen andere sauerstoffunabhängige Energiequellen finden, um die Ischämiezeit so lang wie möglich zu überbrücken. Die Aminosäuren spielen hier eine bedeutende Rolle als kardiale Energiequelle, sowie als Schutzmechanismus gegen die Ischämie und Hypoxie. (Drake et al., 2012) Aminosäuren wie Glutamat und Glutamin können trotz einer bestehenden Ischämie einfach in die Substrate des Citratzyklus, wie Alpha-Ketoglutarat oder Succinyl-CoA, umgewandelt werden. Das benötigte ATP wird durch die Substratkettenphosphorylierung ohne Sauerstoff erzeugt. Damit wird die Zellfunktion während der Ischämie erhalten. Jedoch können die Aminosäuren nicht langfristig den hohen myokardialen Energiebedarf abdecken. Deshalb stellen Aminosäuren nur einen vorübergehenden Schutzmechanismus gegen eine mögliche irreversible Herzmuskelschädigung dar bis eine adäquate Sauerstoffversorgung wiederhergestellt wird. (Drake et al., 2012)

1.5 Das Metabolom

Die sog. Metabolomik (engl. Metabolomics) befasst sich mit der Erforschung sämtlicher Stoffwechselprodukte und deren Eigenschaften, die von Zellen und Geweben im menschlichen Organismus produziert werden. Untersucht werden die einzelnen Stoffwechselwege im Hinblick auf ihre Umsatzraten und Enzymaktivitäten. Auch die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Stoffwechselwegen und deren Stoffwechselprodukten sind von Interesse. Das Konzept des Metaboloms wurde 1971 von Linus Pauling vorgestellt. (Pauling et al., 1971) Im selben Jahr wurde der Begriff metabolisches Profil (engl. metabolic profiling) von Evan C. and Majorie G. Horning eingeführt, der das Metabolit-Muster gemessen durch eine Gaschromatographie innerhalb einer Patientengruppe beschreibt. (Horning and Horning, 1971)

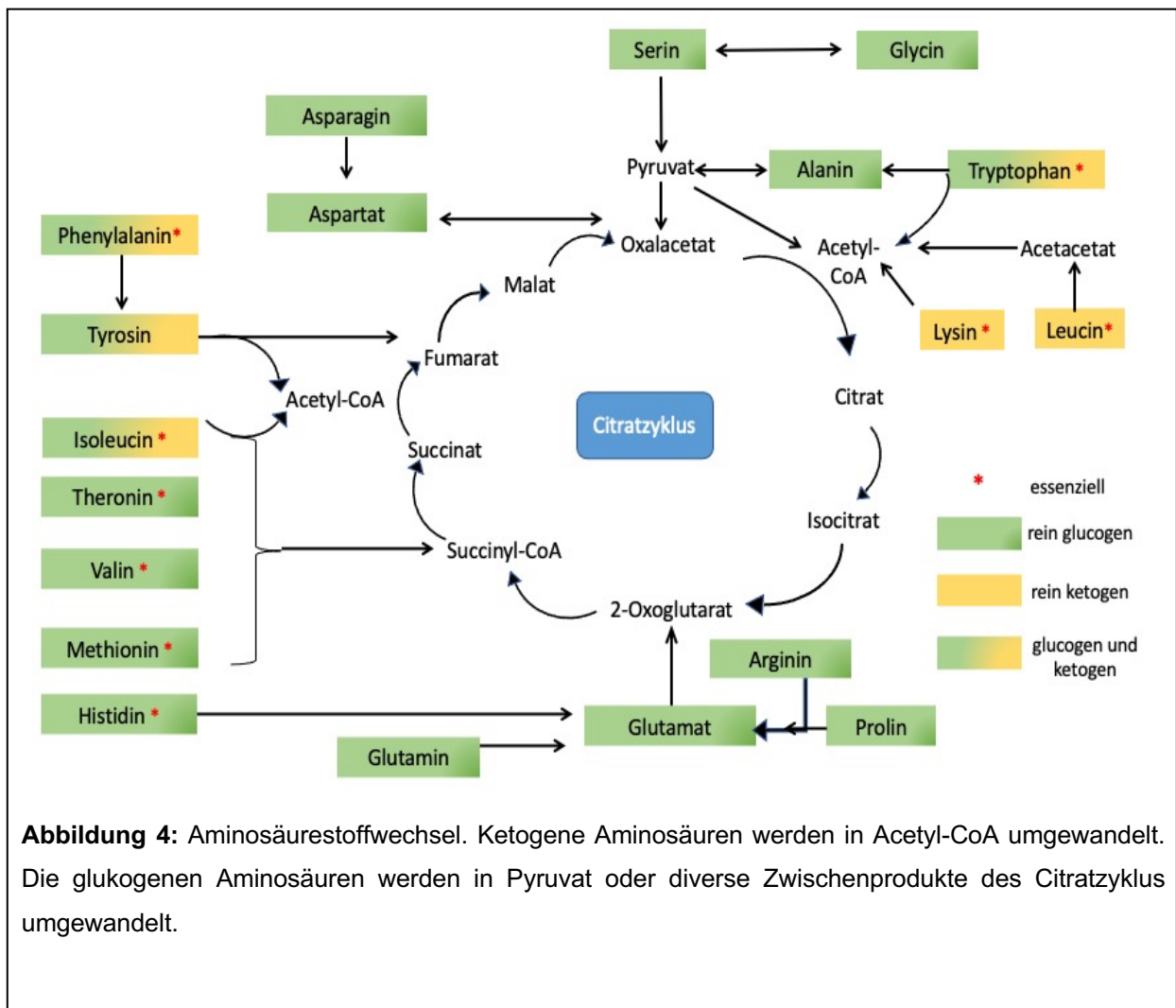


Abbildung 4: Aminosäurestoffwechsel. Ketogene Aminosäuren werden in Acetyl-CoA umgewandelt. Die glukogenen Aminosäuren werden in Pyruvat oder diverse Zwischenprodukte des Citratzyklus umgewandelt.

Nicholson und seine Forschungsgruppe definierten das metabolische Profil als „die Bestimmung der dynamischen metabolischen Antwort des Lebewesens auf pathologische oder genetische Veränderungen“. (Nicholson et al., 1999) Das Metabolom eines Menschen stellt die Gesamtheit aller kleinen Moleküle dar, die durch Stoffwechselprozesse eines Organismus entstehen. Diese Moleküle sind der klinische Phänotyp, der unter anderem zur Anzeige von Krankheit oder Gesundheit herangezogen wird. Zum Beispiel konnten Wang et al. nachweisen, dass die erhöhten Spiegel der verzweigt-kettigen und aromatischen Aminosäuren ein Anzeichen für die Insulinresistenz und konsekutiv das Diabetes-Risiko sein könnten. (Wang et al., 2011) Aufgrund der aktuellen frühen Forschungsperiode, bei der das

Metabolom nach und nach an klinischen Patientenkollektiven angewandt wird, werden oft hypothesengenerierende Erkenntnisse gewonnen. Dadurch wird das Verständnis der Pathobiochemie der Krankheiten und des Einflusses vordefinierter Therapie verbessert. (Roberts and Gerszten, 2013)

Da das Metabolom diverse biochemische Substrate mit verschiedenen Eigenschaften umfasst, gibt es keine einheitliche optimale Methode zur Metabolombestimmung. Die nukleare Kernspin-Spektroskopie (engl. Nuclear magnetic resonance – NMR spectroscopy) und Massenspektrometrie (MS) in Kombination mit chromatographischen Techniken sind heutzutage die Hauptmethoden der Metabolom-Beurteilung (**Abbildung 5**). Die NMR-Spektroskopie nutzt die magnetischen Eigenschaften der Zellkerne, um die chemischen Eigenschaften eines Moleküls zu bestimmen. Die Stärke dieser Methode liegt in der Reproduzierbarkeit und dem relativ kostengünstigen Einsatz. Daneben ist auch keine Probenvorbereitung notwendig. (Nicholson et al., 1999)

Die Massenspektrometrie unterscheidet die Metabolite anhand des Verhältnisses zwischen Molekül-Maß und Ladung und benötigt für die Separation der Metabolite die Gaschromatographie oder Flüssigchromatographie. Der Vorteil der Massenspektrometrie ist die deutlich höhere Sensitivität im Vergleich zur NMR-Spektroskopie (**Abbildung 5**). (Lewis et al., 2008)

Das metabolische Profil wurde bereits an Patientenkollektiven mit Herzerkrankungen überprüft. Sabatine et al. konnten zeigen, dass bei 36 Patienten nach einer belastungsinduzierten Ischämie eine Abnahme der Citratzyklus-Zwischenprodukte wie z.B. Oxaloacetat nachzuweisen war. Diese Abnahme spiegelt die Reduktion des oxidativen Metabolismus infolge der Ischämie wider. (Sabatine et al., 2005) Bei einer Herzinsuffizienz sind die Energiereserven des Myokards in Form von ATP und Kreatinphosphat ausgeschöpft. Mehreren Studien konnten entsprechend reduzierte Konzentrationen von ATP, Kreatin und Kreatinphosphat bei einer Herzinsuffizienz zeigen. (Neubauer, 2007; Ventura-Clapier et al., 2004) Aufgrund des oben genannten engen Zusammenhangs zwischen myokardialen Metabolismus und verschiedenen Pathologien ist davon auszugehen, dass auch therapeutische Eingriffe am erkrankten Herzen das metabolische Profil beeinflussen können. Die Arbeitsgruppe von Nemutlu et al. konnte zum Beispiel ein verändertes metabolisches Profil nach kardialer Resynchronisationstherapie (CRT) nachweisen. Nach der CRT-Implantation zeigten sich eine Abnahme des Glutamin- und Malat-Spiegels und eine

Zunahme des Citrat- und Alanin-Spiegels, die auf den zunehmenden aeroben Stoffwechsel und die verbesserte Mitochondrien-Funktion mit darauf folgender klinischer Besserung hindeuten könnten. (Nemutlu et al., 2015).

Nachteile und Einschränkungen

Viele Erkrankungen wie Diabetes mellitus und Adipositas sind komplexe Syndrome mit verschiedenen pathologischen Einflüssen auf mehrere Organe. Die betroffenen Organe können das metabolische Profil des gesamten Körpers beeinflussen. Deshalb kann man nicht genau nachvollziehen, von welchem Organ das metabolische Profil letztendlich beeinflusst wird. Das organ-spezifische metabolische Profil wird am besten aus einer Probenentnahme im Zielorgan selbst durchgeführt. Als Beispiel ist die direkte Blutentnahme aus dem Sinus coronarius oder der Nierenvene zu nennen.(Ussher et al., 2016) Weiterhin wird das Metabolom von verschiedenen Faktoren wie Diät, individuellen Variationen und Umweltfaktoren beeinflusst. Daher braucht man eine große Studienpopulation, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen. Ein weiteres Problem stellt die Analyse der großen Datenmenge dar, die mit dem Risiko der Verzerrung (engl. Bias) und darauffolgenden eingeschränkten Reproduzierbarkeit einhergeht. Die Interpretation von metabolischen Daten ist oft langwierig und benötigt eine enge Zusammenarbeit zwischen Bio-Analitikern und Ärzten.

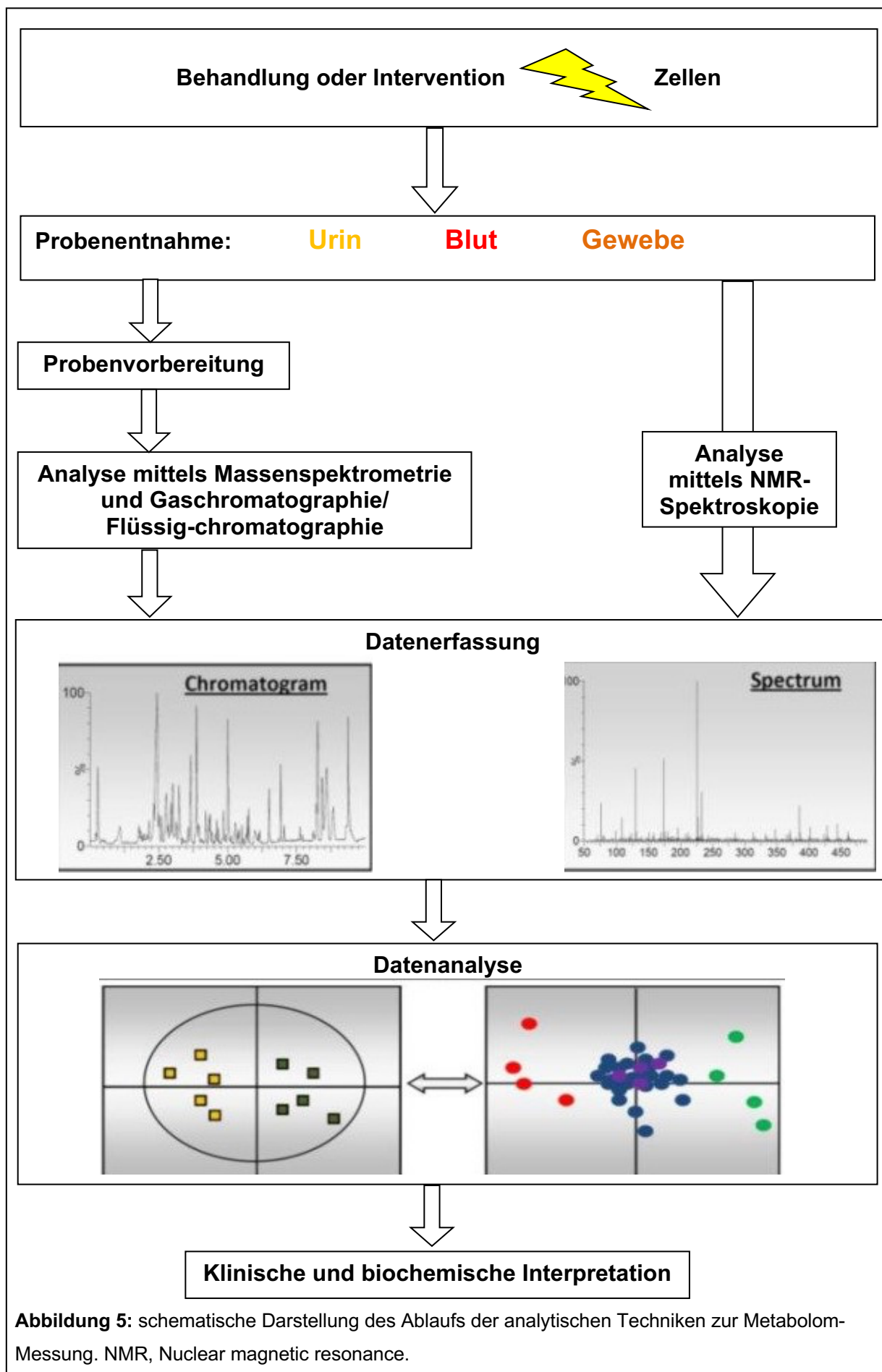


Abbildung 5: schematische Darstellung des Ablaufs der analytischen Techniken zur Metabolom-Messung. NMR, Nuclear magnetic resonance.

1.6 Fragestellung

Der Einfluss des interventionellen LAA-Verschlusses auf das Metabolom ist noch weitgehend ungeklärt. Das Ziel der vorliegenden Arbeit liegt darin, die Veränderungen des Metabolismus bestimmter Aminosäuren, des Kreatinins und von Kynurenin unmittelbar vor, sowie sechs Monate nach erfolgreichem LAA-Verschluss zu evaluieren. Folgende weiterführende Hypothesen und Fragestellungen werden in der vorliegenden Arbeit überprüft:

- Führt der interventionelle Verschluss des LAA zu Veränderungen der Plasmakonzentrationen der Aminosäuren?
- Führt der interventionelle Verschluss des linken Vorhofohrs zu Veränderungen des Stoffwechselwegs von Tryptophan, Kynurenin hin zur Nicotinsäure, die einer Beeinflussung von Entzündung und oxidativem Stress entspräche?
- Geht der interventionelle Verschluss des linken Vorhofohrs mit Veränderungen des myokardialen Proteinumsatzes einher?
- Was ist der Einfluss der demographischen und klinischen Faktoren auf die Plasmakonzentrationen von Aminosäuren und Kreatinin.
- Welche pathophysiologischen Zusammenhänge können den Stoffwechselveränderungen nach dem interventionellen LAA-Verschluss zu Grunde liegen?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studienpopulation

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine monozentrische, prospektive, nicht-randomisierte Beobachtungsstudie zur Hypothesengenerierung. Es wurden Patienten eingeschlossen, die entsprechend den Empfehlungen der europäischen Leitlinie einen interventionellen LAA-Verschluss erhielten (Kirchhof et al., 2017). Alle Patienten litten an nicht-valvulärem Vorhofflimmern mit einem CHA2DS2-VASc score ≥ 2 und einem HAS-BLED score ≥ 3 und hatten eine Kontraindikation für eine orale Antikoagulation, wie z.B. rezidivierende oder lebensbedrohliche Blutungen. Die Ausschlusskriterien waren ein Lebensalter unter 18 Jahre, die Diagnose einer Herzinsuffizienz im New York Heart Association-Stadium (NYHA) IV, ein Herzinfarkt in den letzten drei Monaten, eine symptomatische Stenose der Arteria carotis, eine transitorische ischämische Attacke (TIA) oder ein Schlaganfall in den letzten 3 Monaten.

Tabelle 4: Ein- und Ausschlusskriterien. (NYHA, New York Heart Association; ASD, Atriumseptumdefekt).

| Einschlusskriterien | Ausschlusskriterien |
|--|--|
| Lebensalter > 18 Jahre | Herzinsuffizienz im NYHA-Stadium IV |
| Nicht-valvuläres Vorhofflimmern | Herzinfarkt in den letzten drei Monaten |
| CHA2DS2-Vasc Score ≥ 2 | Vorhofflimmernablation in den letzten 30 Tagen |
| HAS-BLED Score ≥ 3 | Vorhofseptumdefekt |
| Kontraindikation für die orale Antikoagulation | Z.n. ASD-Verschluss |
| - rezidivierende Blutungen | Vorhandensein einer mechanischen Herzklappe |
| - stattgehabte lebensbedrohliche Blutung | Vorhandensein eines intrakardialen Thrombus. |
| | Floride Infektion |
| | Z.n. Herztransplantation |
| | Vorhandene oder geplante Schwangerschaft |

Weitere Ausschlusskriterien waren eine Ablation des Vorhofflimmerns in den letzten 30 Tagen vor dem interventionellem Vorhofrohrverschluss, ein Atriumseptumdefekt (ASD), Z.n. nach ASD-Verschluss, eine mechanische Herzklappe, Z.n. Herztransplantation, eine vorhandene oder geplante Schwangerschaft, eine floride Infektion oder das Vorhandensein eines intrakardialen Thrombus (**Tabelle 4**). Die

Studie wurde entsprechend der Erklärung von Helsinki durchgeführt und von der örtlichen Ethikkommission genehmigt. Eine schriftliche Einverständniserklärung wurde von allen Studienteilnehmern oder ihren gesetzlichen Vertretern eingeholt.

2.2 Evaluation der Studienteilnehmer

Folgende Charakteristiken wurden zu zwei Zeitpunkten (T0 und T1) sowohl im stationären als auch ambulanten Setting klinisch evaluiert: Körpergewicht und Ernährungszustand, klinische Hinweise auf Herzinsuffizienz (i.e. Dyspnoe, Ödeme), Niereninsuffizienz (i.e. Müdigkeit, Juckreiz, Ödeme), Diabetes mellitus (i.e. Müdigkeit, Polydipsie, Polyurie), und lokale oder systemische Entzündung. Weiterhin wurden die folgenden Parameter gemessen: Body-Mass-Index (BMI), Cholesterin, Lipoprotein niederer und hoher Dichte (LDL und HDL), Triglyzeride, linksventrikuläre Funktion, NT-proBNP, Kreatinin, glomeruläre Filtrationsrate (GFR) gemessen nach MDRD-Formel (Modification of Diet in Renal Disease), durchschnittliche Blutzuckerwerte, C-reaktives Protein (CRP) und Lactatdehydrogenase (LDH). Die Blutungsintensität wurde nach dem BARC-Score (Bleeding Academic Research Consortium) beschrieben (**Tabelle 5**).

Tabelle 5: Einteilung der Blutungsereignisse nach dem BARC-Score (BARC, Bleeding Academic Research Consortium; Hb, Hämoglobin; g, Gramm; dl, Deziliter).

| | |
|--------------|---|
| Typ 0 | Keine Blutung |
| Typ 1 | Nicht-relevante Blutung ohne Handlungsbedarf |
| Typ 2 | Klinisch manifeste Blutung mit Handlungsbedarf und führt zur weiteren Diagnostik oder Hospitalisation. |
| Typ 3 | <ul style="list-style-type: none"> a. Klinisch manifeste Blutung mit Hb-Abfall um 3-5g/dl oder transfusionsbedürftige Blutung. b. Klinisch manifeste Blutung mit Hb-Abfall um > 5g/dl, oder Perikardtamponade oder Blutung mit chirurgischem Handlungsbedarf oder Blutung mit der Notwendigkeit der vasoaktiven Medikamente. c. Intrakranielle Blutung oder intraokuläre Blutung. |
| Typ 4 | Blutung nach Bypass-Op innerhalb 48 Stunden. |
| Typ 5 | <ul style="list-style-type: none"> a. Wahrscheinlich zum Tod führende Blutung. b. Definitiv zum Tod führende Blutung (bestätigt durch Obduktion oder Bildgebung). |

2.3 Interventioneller Vorhofohr-Verschluss und Follow-up

In unserer Klinik wurde der interventionelle Vorhofohr-Verschluss zwischen den Jahren 2014 bis 2016 entweder mit dem Watchman-Device (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA) oder dem Amplatzer Amulet-Device (St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA) durchgeführt. Schon vor der Implantation erfolgte eine TEE, um intrakardiale Thromben auszuschließen, sowie die Größe und Morphologie, und damit die Eignung für den interventionellen Vorhofohr-Verschluss abzuschätzen. Die LAA-Öffnung (Orifizium/Ostium) wurde dabei in mindestens vier verschiedenen Blickwinkeln ermittelt (i.e. bei 0°, 45°, 90°, 135°). Weiterhin wurde die Tiefe des LAA gemessen. Hierbei sollte die Tiefe des LAA für ein Watchman-Device mindestens so groß sein wie der maximale Ostium-Durchmesser. Da ein Amplatzer-Device flacher ist, konnte dieses in flacheren LAA implantiert werden. Die Implantation des Vorhofohr-Verschlusssystemes erfolgte unter oberflächliche Sedierung mit Propofol und Midazolam intravenös und inhalativer Sauerstoffgabe, sowie mit TEE-Kontrolle im Herzkatheterlabor. Der Eingriff erfolgte über eine Punktion der rechten Vena femoralis communis. Im Anschluss wurde der Katheter über die Vena cava inferior bis zum rechten Vorhof vorgeschoben. Der linke Vorhof wurde daraufhin durch eine transseptale Punktion des Vorhofseptums erreicht, und nachfolgend die Applikationsschleuse des Verschlusssystemes in den linken Vorhof vorgebracht. Zunächst wurde dann mittels Pigtail-Katheter das LAA durch Kontrastmittel und radiologischer Durchleuchtung in zwei Ebenen dargestellt. Daraufhin wurde schließlich der eigentliche Applikations-Katheter mit dem LAA-Okkluder unter TEE-Steuerung im LAA positioniert und durch Vorschub und Selbstexpansion im Vorhofohr adäquat platziert. Im Anschluss wurde vor und nach Ablösen der Sitz und die Qualität des LAA-Verschlusses inklusive Beurteilung des Device-Überstandes, Peridevice-Lecks und der Kompression von relevanten topographischen Nachbarstrukturen überprüft. Ein Peridevice-Leck \leq fünf mm wurde als nicht relevant betrachtet. Eine Device-Kompression von acht bis 20% wurde erzielt. (Mobius-Winkler et al., 2012) Nach der Prozedur erhielten die Patienten entsprechend der Leitlinienempfehlungen eine sechsmonatige Therapie mit Acetylsalicylsäure (ASS) und Clopidogrel gefolgt von einer lebenslangen Therapie mit ASS. (Meier et al., 2015)

Das Follow-up wurde nach erfolgreichem interventionellen Vorhofohrverschluss nach sechs Monaten durchgeführt. Hierbei wurde die Lage des Devices mittels TEE und

kardialer Computertomografie erneut kontrolliert. Hier wurde besonderes Augenmerk auf die Beurteilung relevantes Peridevice-Lecks von unter fünf mm gelegt. Damit nur Patienten mit tatsächlichem und effektivem interventionellen Vorhofohr-Verschluss zu berücksichtigen. Die Vorerkrankungen, Vormedikation (wie z.B. Beta-Blocker, Angiotensin-konvertierendes Enzym (ACE)-Hemmer, Aldosteron- Antagonisten, Diuretika), aktuelle Beschwerden und Laborwerte wurden vor der Intervention und im Rahmen des Follow-Ups dokumentiert.

2.4 Probengewinnung und –verarbeitung

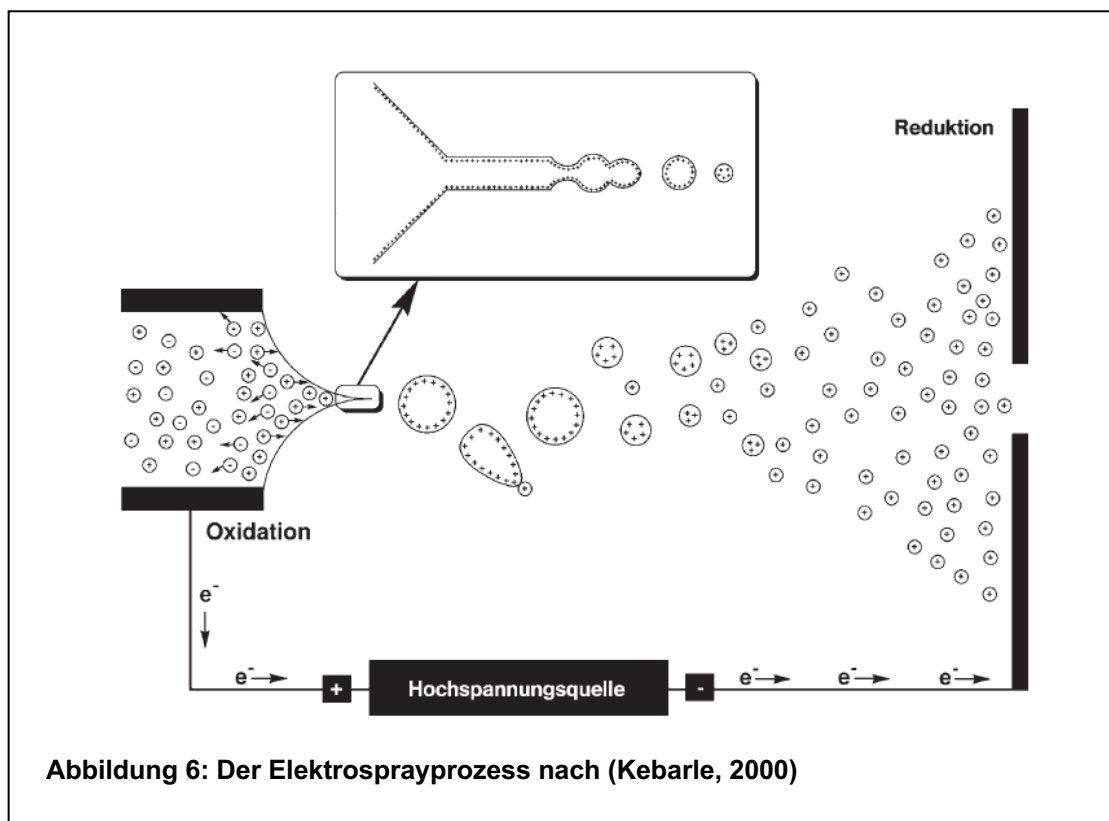
Alle Blutproben wurden durch die Punktion einer peripheren Vene vor dem Eingriff (T0) und am Tage des mittelfristigen Follow-ups nach sechs Monaten (T1) in Ethylendiamintetraessigsäure- (EDTA)-Röhrchen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) durchgeführt. Die Patienten waren bei der Blutabnahme klinisch stabil, ohne Symptome oder klinische Zeichen der Herzinsuffizienz, Niereninsuffizienz oder Exazerbation der COPD. Alle Studienteilnehmer waren zur Blutabnahme im nüchternen Zustand. Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden die Blutproben bei 4°C gelagert. Innerhalb von zwei Stunden wurden alle Blutproben bei 2000 x G für zehn Minuten bei 20° Celsius zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma abgetrennt, eingefroren und bei -80° Celsius für die spätere Analyse gelagert.

2.5 Metabolitenanalyse

Die Proben wurden mit einem QTRAP 4000 System (Sciex Deutschland GmbH, Darmstadt, Germany) und Thermo TSQ (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) analysiert. Alle Proben wurden gleichzeitig vorbereitet und gemessen und auf zwei verschiedenen Analyseplatten verteilt. Die gezielte metabolische Analyse erfolgte mit der Elektrospray-Ionisierung Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (ESI-LC-MS/MS) mittels AbsoluteIDQ™ p180-Kit (BIOCRATES Life Sciences AG, Innsbruck, Österreich). Diese Analyse erlaubte die Quantifikation von insgesamt 188 Metaboliten. Aufgrund ihrer hohen Sensitivität wurde für die Analyse die Massenspektrometrie genutzt. Hierbei konnten Metaboliten auch in niedrigen Konzentrationen detektiert werden. (Roberts and Gerszten, 2013)

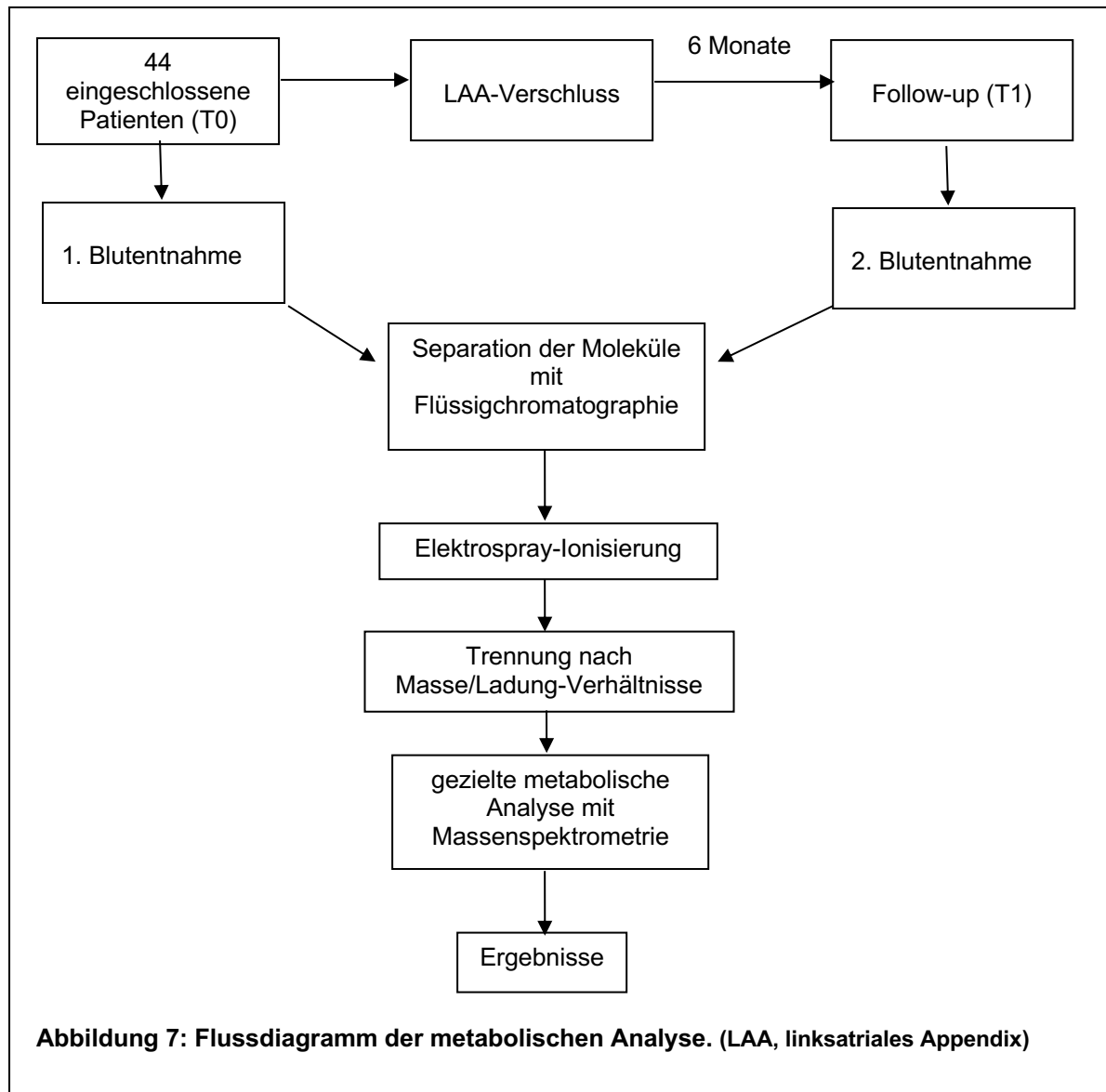
Die Plasmaproben wurden zuerst auf einer geeigneten Analyseplatte vorbereitet und in der Analyse-Software registriert (BIOCRATES MetIDQ™). Es erfolgte die Analyse mittels LC-MS. Bei der LC-MS werden zwei unabhängig voneinander Analysesysteme gekoppelt. Analyten von Interesse werden unter Verwendung eines

Flüssigchromatographiesystems von der Plasmaprobe getrennt und als Ionen in das Massenspektrometer eingeführt. Die massenspektrometrische Analyse ermöglichte strukturell unterschiedliche Analyte trotz gleicher chromatographischer Retentionszeit zu identifizieren und einzeln zu quantifizieren. Zudem ist bei der LC-MS ein Phasenwechsel für den in einer Flüssigkeit gelösten Analyten zum Analyten in der Gasphase erforderlich. Diese Aufgabe wurde durch die Elektrosprayionisierung (ESI) sichergestellt (**Abbildung 6**).



Der ESI zugrundeliegende Stromkreis bestand aus zwei Elektroden: einer Nadel und einem Kollektor. Zwischen den beiden wurde eine Hochspannung von mehreren Kilovolt angelegt. Hierbei erfolgte die Oxidation an der Nadel und die Reduktion am Kollektor. Voraussetzung für den Nachweis eines Analyten mittels ESI-MS ist, dass dieser im Eluenten ionisiert ist. Das angelegte elektrische Feld sorgt für die Trennung von positiv und negativ geladenen Ionen im Eluenten (**Abbildung 6**). Bei dem hier gezeigten positiven Ionenmodus wurden die positiv geladenen Ionen an der Flüssigkeitsoberfläche an der Nadelspitze angereichert, während die negativ geladenen Ionen in die Stahlkapillare zurückgeschoben wurden. (Kearle, 2000) Ein

oder mehrere Massenfilter können an das LC/MS-System gekoppelt werden, um Molekül-Ionen nach dem Masse/Ladungs-Verhältnis zu trennen. **(Abbildung 7)**.



Die gemessenen Metaboliten

In der Studie wurden sieben Aminosäuren gemessen: Isoleucin, Leucin, Valin, Threonin, Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan. Die genannten Aminosäuren können unterschiedlich klassifiziert werden. Sie können in essentielle (Isoleucin, Leucin, Valin, Phenylalanin, Tryptophan, Threonin) und nicht-essentielle Aminosäuren (Tyrosin) unterteilt werden. Weiterhin können die Aminosäuren nach ihrer Funktion als Substrate der Gluconeogenese (glucogene versus ketogene Aminosäuren) betrachtet werden. Die Aminosäuren Valin und Threonin sind rein glucogen, wobei das Leucin eine reine ketogene Aminosäure darstellt. Die restlichen

Aminosäuren (Isoleucin, Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan) zeigen glucogene und ketogene Eigenschaften. Leucin, Isoleucin und Valin werden aufgrund ihrer spezifischen Molekülstruktur als verzweigtkettige Aminosäuren (BCAA) bezeichnet, wobei Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan zu den aromatischen Aminosäuren (AAA) zählen. (Löffler, 2008, pp. 13-15) **Tabelle 6** fasst die gemessenen Aminosäuren mit ihren Eigenschaften zusammen. Zu beachten ist, dass alle AAA glucogene und ketogene Eigenschaften zeigen. Die BCAA und zwei der AAA zählen zu den essentiellen Aminosäuren.

Tabelle 6: Auflistung der gemessenen Aminosäuren nach ihren Eigenschaften. (BCAA, verzweigtkettige Aminosäuren; AAA, aromatische Aminosäuren)

| | essentiell | glucogen | ketogen | glucogen und ketogen | BCAA | AAA |
|---------------------|------------|----------|---------|----------------------------|------|-----|
| Leucin | √ | | √ | | √ | |
| Isoleucin | √ | | | √ | √ | |
| Valin | √ | √ | | | √ | |
| Tyrosin | | | | √ | | √ |
| Phenylalanin | √ | | | √ | | √ |
| Tryptophan | √ | | | √ | | √ |
| Threonin | √ | √ | | | | |

Zudem wurde in der Studie das Kynurenin gemessen. Kynurenin ist ein Abbauprodukt der Aminosäure Tryptophan.

Weiterhin wurde das Kreatinin bestimmt. Es stellt ein Stoffwechselprodukt des Kreatins und Phosphokreatins dar und wird renal ausgeschieden. Kreatin wird in den Nieren, der Leber und der Bauchspeicheldrüse synthetisiert und ist zu ca. 90 % im Skelettmuskel vorhanden. (Löffler, 2008, pp. 455-456)

Die Fischer-Ratio stellt das Verhältnis zwischen den verzweigtkettigen Aminosäuren (Valin + Leucin + Isoleucin) und den aromatischen Aminosäuren (Tyrosin + Phenylalanin + Tryptophan) dar. Zudem wurden die Verhältnisse Tyrosin/Phenylalanin und Kynurenin/Tryptophan berechnet.

2.6 Statistische Analyse

In die Analyse wurden nur Patienten einbezogen, bei denen sowohl an T0 und T1 eine korrespondierende Blutprobe vorhanden war. Die Metaboliten mit Konzentrationen unterhalb der Erfassungsgrenze wurden mithilfe der 80%-Regel vom Datensatz ausgeschlossen. Für die statistischen Analysen wurde der Datensatz Log2 transformiert, wodurch eine Normalverteilung erreicht wurde. Die restlichen Werte unterhalb der Erfassungsgrenze wurden nach dem Log spline-Anrechnungsverfahren kalkuliert. Um die signifikanten Veränderungen im Zeitverlauf zwischen den beiden Messzeitpunkten T0 und T1 zu vergleichen, wurden der Student's t-Test angewandt. Um potenzielle Einflussfaktoren auf die Plasmakonzentration der Metabolite zu überprüfen, wurde eine univariate Varianzanalyse mit Messwiederholung (eng. repeated measures Analysis of variance = rANOVA) berechnet. Die rANOVA wurde zur Überprüfung der Korrelation zwischen den Metabolit-Plasmakonzentrationen und den einzelnen klinischen Parametern (i.e. Geschlecht, Alter, Diabetes mellitus, BMI, linksventrikuläre Auswurfraction, Kreatinin und pro-BNP) verwendet. Jedes dieser Patientenmerkmale lag in genau zwei Ausprägungen vor: Alter <77 oder ≥77 Jahre, Geschlecht weiblich oder männlich, Body-Mass-Index < 25 oder ≥ 25, linksventrikuläre Pumpfunktion des Herzens < 55% oder ≥ 55%, Kreatinin-Wert < 1,2 mg/dl oder ≥ 1,2 mg/dl, Vorliegen oder Fehlen eines Diabetes mellitus. Weiterhin wurde ein adjustierter p-Wert nach der Benjamini-Hochberg-Korrektur errechnet, um die Falscherkennungsrate bei den multiplen Tests zu minimieren.

Die errechneten Daten wurden in Tabellen dargestellt. Die Metaboliten mit statistisch signifikanter Veränderung wurden in Box-Plot-Graphiken und Balken-Diagrammen dargestellt. Die Ergebnisse wurden als Median mit Interquartilsbereichen (IQB) (25. und 75. Perzentile) angegeben.

Es wurden drei verschiedene multivariate Analysen benutzt: die Hauptkomponentenanalyse (engl. principal component analysis PCA), die partielle Regression mit kleinsten Quadraten (engl. Partial Least Squares Discrimination analysis PLS-DA) und die hierarchische Clusteranalyse (HCA). Die PCA und PLS-DA werden oft als Ausgangspunkt für die Analyse eines großen Datensatzes verwendet, vor allem in hypothesengenerierenden Studien. Sie sorgen dafür, große Datensätze gut darzustellen und die Metaboliten mit dem größten Impact innerhalb von zwei Gruppen hervorzuheben. Dadurch kann die Varianz innerhalb eines großen

Datensatzes durch eine geringere Anzahl von Hauptkomponenten erklärt werden. (Bartel et al., 2013) Die PCA stellt eine unbeaufsichtigte Methode dar, die die Varianz in einem Datensatz (X-Achse) unabhängig der Klassenzugehörigkeit (Y-Achse) am besten darstellt. Die Daten werden durch Score-Werte dargestellt, die den gewichteten Durchschnitt der ursprünglichen Variablen darstellen. Die Gewichtungprofile werden als „Loadings“ bezeichnet. Die PLS ist eine beaufsichtigte Methode, die auf einer multivariaten Regression basiert. Dabei werden mit Hilfe von einer linearen Kombination der ursprünglichen Variablen (X-Achse) die Klassenzugehörigkeit (Y-Achse) prognostiziert. (Mevik, 2007) Diese Methode erleichtert die Erklärung des kausalen Zusammenhangs von verschiedenen Variablen. Die hierarchische Clusteranalyse wurde durchgeführt, um einzelne Proben basierend auf ihrer Ähnlichkeit zusammenzuordnen. Der Algorithmus kombiniert die einzelnen Stichproben von unterschiedlichen Clustern nacheinander, bis alle Stichproben zu einem Cluster gehören. (Bartel et al., 2013) Zur besseren Verständlichkeit wird dies in einer Heatmap und einem Dendrogramm visuell dargestellt.

Um den potentiellen Einfluss der klinisch relevanten Subgruppen auf die gemessenen Metaboliten zu überprüfen, erfolgte die Berechnung einer linearen Regressionsanalyse, die auf einem Mischeffektmodell basiert. Diese zeigt an, welche Metabolite nach Adjustierung der Subgruppen noch immer signifikant innerhalb des Beobachtungszeitraums infolge des LAA-Verschlusses verändert waren. Dabei drückt der Wert Beta den standardisierten Korrelationskoeffizienten Beta aus. Der Korrelationskoeffizient beschreibt den Gesamtzusammenhang zwischen den Einflussfaktoren und der Zielvariablen (i.e. Metabolit). Die multivariable Regressionsanalyse ermöglicht, neben der gleichzeitigen Betrachtung von mehreren Einflussgrößen, die Regressionskoeffizienten der interessierenden Einflussgrößen bezüglich möglicher Störgrößen zu adjustieren. Somit kann der Einfluss der Störgrößen, also der Subgruppen, herausgerechnet werden. Deshalb erfolgte die Adjustierung mit allen Subgruppen (i.e. Geschlecht, Alter, Diabetes mellitus, BMI, linksventrikuläre Pumpfunktion, Kreatinin und proBNP). Die logarithmierten Metabolit-Werte stellten dabei die abhängigen metrischen Variablen dar. Die Ergebnisse dieser Analyse wurden tabellarisch und innerhalb des metabolischen Flussdiagramms dargestellt. Die statistischen Analysen wurden mit dem Programm R (Version 3.2.3, Boston, MA, USA) und SPSS-Statistics (IBM, Armonk, NY, USA) durchgeführt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Studienpopulation

Insgesamt wurden 44 Patienten mit erfolgreichem LAA-Verschluss konsekutiv in die Studie eingeschlossen. Das mediane Lebensalter lag bei 78 Jahren. Die Patienten hatten ein erhöhtes Blutungsrisiko (medianer HAS-BLED-Score von 4 Punkten). Die Hauptindikation für einen LAA-Verschluss war in 77% der Patienten eine stattgehabte klinisch relevante Blutung (BARC-Score >1). Davon erlitten 24 Patienten eine gastrointestinale Blutung, sechs Patienten eine intrakranielle Blutung, drei Patienten ein subdurales Hämatom, zwei Patienten eine urogenitale Blutung, zwei Patienten Epistaxis, und weitere zwei Patienten eine muskuläre Einblutung. Entsprechend waren diese 34% der Patienten vor dem Eingriff nicht antikoaguliert. Das Studienkollektiv zeigte darüber hinaus ein erhöhtes thrombembolisches Risiko (medianer CHA2DS2-VASc-Score 4). Ein bereits zuvor stattgehabter Schlaganfall oder eine TIA war bei bis zu einem Viertel (23%) aller Studienpatienten zu finden. Mehr als die Hälfte der Studien-Population hatte eine bekannte koronare Herzerkrankung (57%). Der Großteil der eingeschlossenen Patienten hatte eine normale systolische linksventrikuläre Funktion. Der mediane NT-proBNP-Wert war alters- und Vorhofflimmerbedingt erhöht (medianer Wert 975,3 ng/l). Das kardiovaskuläre Risikoprofil war entsprechend erhöht (i.e. Hypercholesterinämie 50%, arterielle Hypertonie 95%, Diabetes mellitus 37%). Darüber hinaus war eine chronische Niereninsuffizienz bei 40% der Patienten vorhanden. Die meisten Patienten (55%) hatten ein paroxysmales, 14% ein persistierendes und 32% ein permanentes Vorhofflimmern auf. Alle weiteren Basischarakteristiken der Patienten sind in **Tabelle 7** dargelegt.

Tabelle 7: Basischarakteristika

(BMI, Body-Mass-Index; kg, Kilogramm; m, Meter; PVI, Pulmonalvenenisolation; TIA, transiente ischämische Attacke; NT-Pro-BNP, N-terminale brain natriuretic peptid; Hb, Hämoglobin; MDRD, Modification of Diet in Renal Disease; GFR, glomeruläre Filtrationsrate; pAVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit; IQB, Interquartilsbereichen)

| Charakteristikum | Wert |
|--|------------------|
| <i>Demographisch</i> | |
| Männliches Geschlecht, n (%) | 30 (68) |
| Alter, Jahre (IQB) | 78 (76–83) |
| BMI (kg/m ²), Median (IQB) | 28 (25–33) |
| <i>Kardiovaskuläre Risikofaktoren, n (%)</i> | |
| Arterielle Hypertension | 42 (95) |
| Diabetes mellitus | 16 (37) |
| Hypercholesterinämie | 22 (50) |
| Eingeschränkte LV-Funktion, | |
| - leichtgradig (EF 45–54%) | 4 (9) |
| - Mittelgradig (EF 30–44%) | 4 (9) |
| Vorhofflimmern, | |
| - Paroxysmal | 24 (55) |
| - Persistierend | 6 (14) |
| - Permanent | 14 (32) |
| Z.n. PVI | 4 (9) |
| TIA | 3 (7) |
| Schlaganfall | 7 (16) |
| Koronare Herzerkrankung | 25 (57) |
| Z.n. Myokardinfarkt | 10 (23) |
| Herzinsuffizienz | 10 (23) |
| NT-proBNP (ng/l), Median (IQB) | 975,3 (455–1429) |
| pAVK | 4 (9) |
| Chronische Niereninsuffizienz | 18 (40) |
| Kreatinin (mg/dl), Median (IQB) | 1,06 (0,94–1,26) |
| MDRD-GFR, (mL/min/1.73m ²), Median (IQB) | 65,5 (53–80) |
| Schlafapnoe | 4 (9) |
| Chronische Lebererkrankung | 3 (7) |
| Blutung in Vorgeschichte | 34 (77) |
| - Gastrointestinale Blutung | 24 (55) |
| - Intrakraniale Blutung | 6 (14) |
| - Subdurales Hämatom | 3 (7) |
| - Urologische Blutung | 2 (5) |
| - Muskeleinblutung | 2 (5) |
| - Epistaxis | 2 (5) |
| CHA2DS2-VASc score, Median (IQB) | 4 (3–5) |
| HAS-BLED score, Median (IQB) | 4 (3–4) |
| <i>Rehospitalisation und schwere Ereignisse während des Follow-up, n (%)</i> | |
| Akuter Myokardinfarkt | 1 (2) |
| Herzinsuffizienz | 6 (14) |
| Vaskuläre Komplikationen | 2 (5) |
| Schlaganfall | 0 (0) |
| Lungenarterienembolie | 1 (2) |
| Nierenversagen | 1 (2) |
| Infektion | 2 (5) |
| Orthopädisch | 2 (5) |
| Gastrointestinale Blutung | 8 (18) |
| <i>Blutung bei mittelfristigem Follow-up, BARC-Score, n (%)</i> | |
| 1 | 1 (2) |
| 2 | 5 (11) |
| 3a | 2 (5) |
| ≥3b | 0 (0) |

3.2 Klinische Follow-up

Obwohl die orale Antikoagulation nach dem Eingriff bei der Mehrheit der Patienten beendet wurde, erlitten 16% der Patienten während des Follow-Up Zeitraumes von sechs Monaten eine klinisch relevante Blutung (BARC-Score >1). Davon erhielten zwei Patienten eine Bluttransfusion. Die Blutungsereignisse sind am ehesten durch die verabreichten Thrombozytenaggregationshemmer (ASS und Clopidogrel) erklärbar. Weiterhin wurden zwei schwere kardiovaskuläre Komplikationen dokumentiert: ein Patient erlitt einen Herzinfarkt (ST-Elevation-Myokardinfarkt, STEMI), der mit einer perkutanen Koronarintervention (PCI) und Stentimplantation behandelt wurde.

Tabelle 8: Veränderung der Patientencharakteristika beim mittelfristigem Follow-up T1

(IQB, Interquartilsbereichen; NMH, niedermolekulares Heparin; NT-Pro-BNP, N-terminale brain natriuretic peptid; Hb, Hämoglobin; MDRD, Modification of Diet in Renal Disease; GFR, glomeruläre Filtrationsrate; CRP, C-Reaktives Protein)

| Charakteristika | T0 | T1 | p-Wert |
|--|------------------|------------------|--------|
| <i>Pharmakotherapie, n (%)</i> | | | |
| Betablocker | 17 (39) | 15 (34) | 0.825 |
| Kalzium-Antagonist | 9 (21) | 7 (16) | 0.783 |
| Kombinierte Therapie | 14 (32) | 15 (34) | 1.000 |
| Statine | 27 (61) | 28 (64) | 1.000 |
| Statine und Ezetimib | 1 (2) | 1 (2) | 1.000 |
| Andere Cholesterinsenker | 1 (2) | 1 (2) | 1.000 |
| Phenprocoumon | 10 (23) | 0 (0.0) | 0.001 |
| Dabigatran | 3 (7) | 0 (0.0) | 0.241 |
| Rivaroxaban | 3 (7) | 0 (0.0) | 0.241 |
| Apixaban | 3 (7) | 1 (2) | 0.616 |
| NMH | 10 (23) | 0 (0.0) | 0.001 |
| <i>Laborparameter, Median (IQB)</i> | | | |
| Cholesterin, (mg/dL) | 143 (124–186) | 155 (128–161) | 0.370 |
| NT-proBNP, (pg/mL), | 975 (455–1429) | 981 (488–1852) | 0.323 |
| Kreatinin, (mg/dL), | 1.10 (0.96–1.42) | 1.24 (1.01–1.71) | 0.430 |
| MDRD-GFR, (mL/min/1.73m ²) | 65 (43–65) | 56 (37–65) | 0.140 |
| Hb, (g/dl) | 12.4 (10.7–14.5) | 10.8 (9.6–12.7) | 0.810 |
| Blutzucker, (g/dL) | 113 (94–133) | 108 (90–112) | 0.900 |
| CRP, (mg/L) | 5.1 (2.9–11.1) | 4.0 (2.9–14.3) | 0.560 |
| LDH, (U/L) | 198 (176–240) | 240 (199–253) | 0.930 |

Der zweite Patient erlitt einen Monat nach dem LAA-Verschluss eine Lungenarterienembolie, sodass die OAK mit Apixapan erneut notwendig wurde. Zudem wurden 14% der Patienten aufgrund einer Herzinsuffizienz hospitalisiert. Während des Follow-ups wurden keine neuen Schlaganfälle dokumentiert. Die

klinische Re-Evaluation beim mittelfristigen Follow-up zeigte keine relevanten Veränderungen der klinischen Basischarakteristika im Sinne von unverändertem Ernährungszustand, medikamentöser Therapie, Symptome der Herzinsuffizienz, Anämie, Nierenfunktion, Lipidstatus, Entzündung (gemessen mit CRP-Wert) und linksventrikulärer Funktion (jeweils $p > 0,05$), (**Tabelle 8**).

3.3 Echokardiographische Evaluation

Die Evaluation mittels TEE zeigte keine relevanten Veränderungen des LA-Volumens, -Diameters, und der LV-Funktion nach erfolgreichem LAA-Verschluss innerhalb von 6 Monaten. (**Tabelle 9**)

Tabelle 9: TEE-Daten beim Einschluss (T0) und Follow-up (T1).

(LVEDD, linksventrikulärer enddiastolische Diameter; LV, linker Ventrikel; LA, linker Vorhof; ASD, Atriumseptumdefekt; PFO, persistierendes Foramen ovale; LAA, linksatrialer Appendix; IQB, Interquartilsbereichen)

| Charakteristikum | Wert |
|--|-------------------|
| Ausgangswert, Median (IQB) | |
| Septum, (mm) | 12 (11–14) |
| LVEDD, (mm) | 48 (43.5–52.3) |
| LA-Diameter, (mm) | 48 (43.7–55) |
| LA-Volumen, (mm ³) | 88,5 (66,3–103,3) |
| LAA-Öffnung, (mm) | |
| 45° | 18 (17–21) |
| 90° | 19 (17–21) |
| 135° | 20 (18–22) |
| LAA-Tiefe, (mm) | 29 (25–35) |
| LAA Landing-Zone, (mm) | 19 (16–22,5) |
| LV-Funktion, n (%) | |
| Normal (>55%) | 34 (77) |
| Leichtgradig eingeschränkt (≥45–55%) | 4 (9) |
| Mittelgradig eingeschränkt (≥35–45%) | 4 (9) |
| Hochgradig eingeschränkt | 2 (5) |
| Follow-Up | |
| LA-Diameter, (mm), Median, (IQB) | 49.0 (44.0–53.0) |
| Device-Kompression, (%), Median, (IQB) | 0,8 (0,8–0,9) |
| ASD/PFO, n (%) | 7 (16) |
| Peri-Device Leck, n (%) | 6 (14) |
| Perikarderguss, n (%) | 1 (2) |
| Device-Thrombus, n (%) | 0 (0) |

Die Mehrheit der Patienten (77%) hatte eine normale systolische linksventrikuläre Funktion. Lediglich zwei Patienten hatten eine hochgradig eingeschränkte systolische linksventrikuläre Funktion. Die Größe und das Volumen des linken Vorhofs zeigten auch eine Vergrößerung (medianer LAA-Durchmesser 48 mm, medianes Volumen 88 mm³). Die gemessene Kompression der implantierten LAA-

Okkluder lag zwischen 0,8-0,9%. Ein residuelles kleines PFO/ASD konnte infolge der transeptalen Punktion während der Indexprozedur bei 16% der Patienten nachgewiesen werden. Ein kleiner Perikarderguss wurde bei nur einem Patienten festgestellt. Ein kleines Peri-Device-Leck unter 5 mm wurde bei 14% der Studienpatienten nachgewiesen. Es wurden in der Studienpopulation keine Device-assoziierten Thrombenbildungen beobachtet. (**Tabelle 9**)

3.4 Einfluss der Vorhofohr-Verschluss-Therapie auf das Metabolom

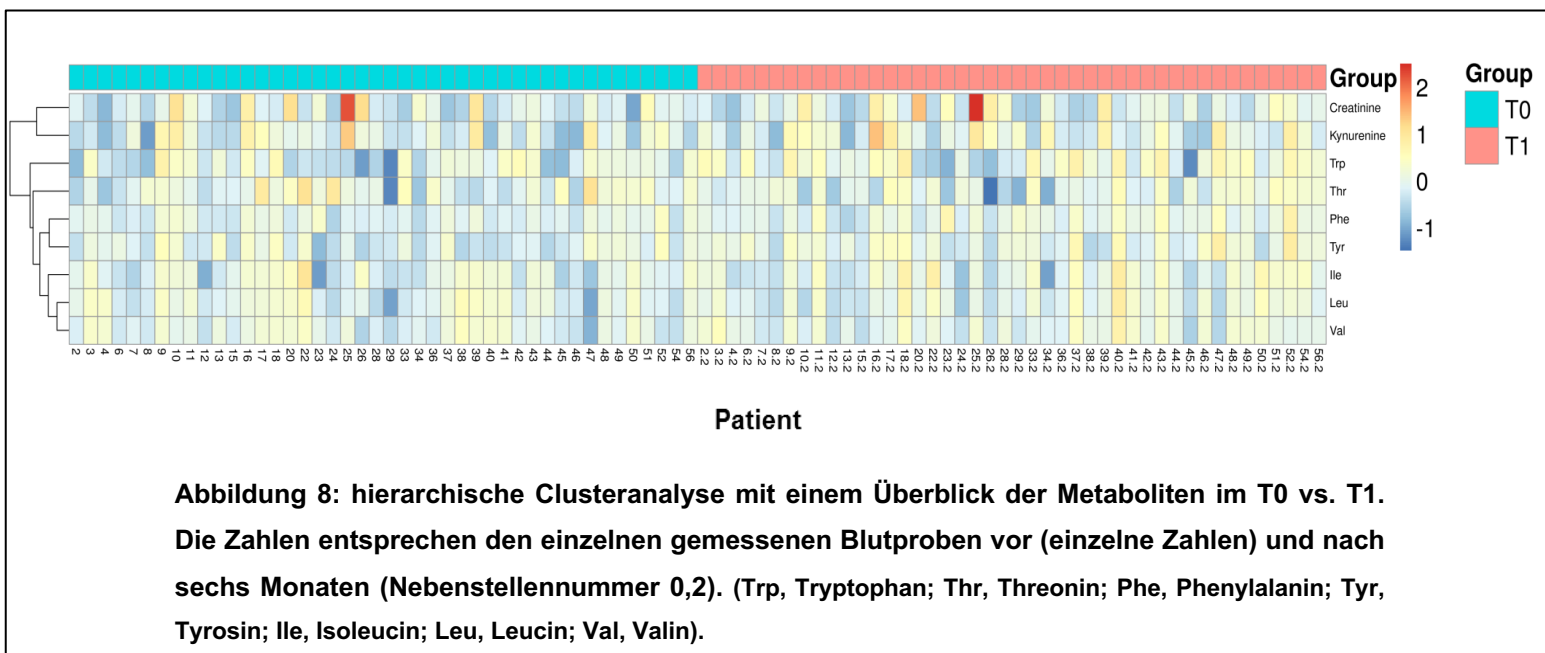
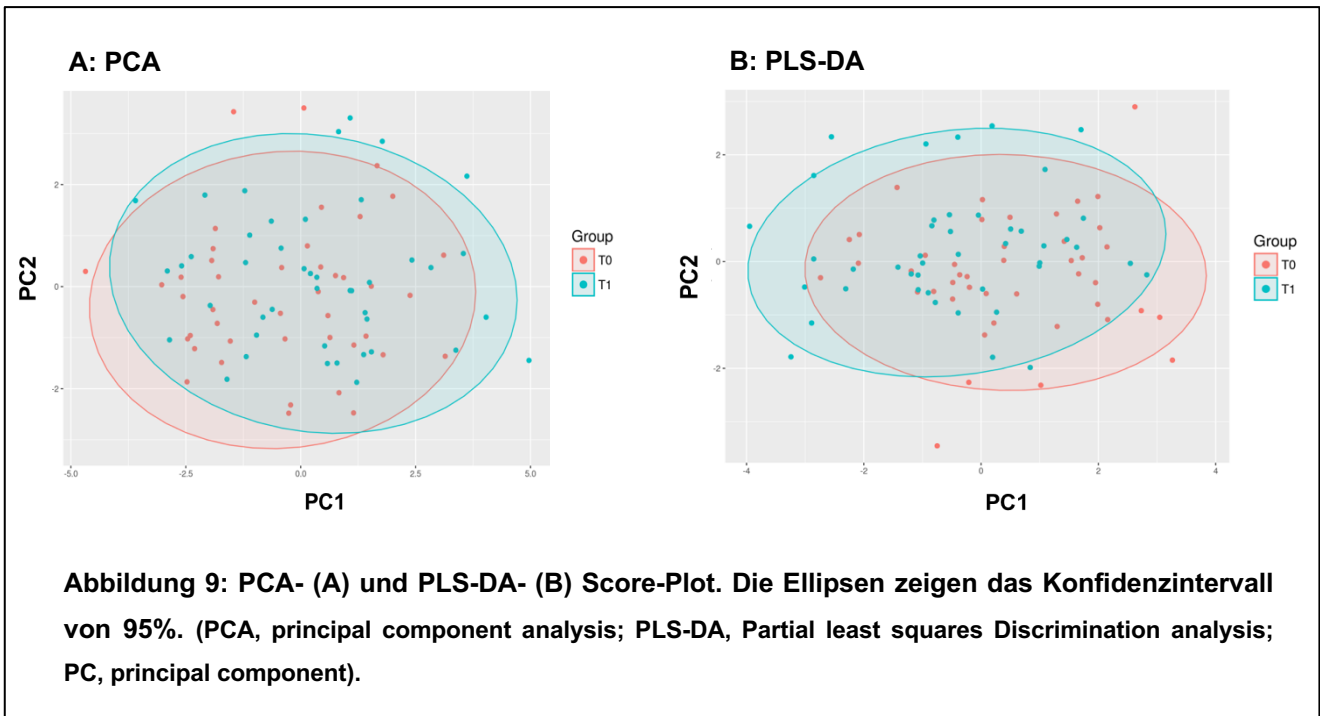


Abbildung 8: hierarchische Clusteranalyse mit einem Überblick der Metaboliten im T0 vs. T1. Die Zahlen entsprechen den einzelnen gemessenen Blutproben vor (einzelne Zahlen) und nach sechs Monaten (Nebenstellenummer 0,2). (Trp, Tryptophan; Thr, Threonin; Phe, Phenylalanin; Tyr, Tyrosin; Ile, Isoleucin; Leu, Leucin; Val, Valin).

Durch eine hierarchische Clusteranalyse (**Abbildung 8**) wurde ein erster Überblick über die Expressionen der einzelnen Metaboliten jedes einzelnen Patienten an beiden Zeitpunkten T0 und T1 geliefert. In einer sog. Heatmap repräsentieren die Farbgebungen die normierten Veränderungen der Metaboliten. Negative Werte bedeuten eine Abnahme der Konzentrationen, positive eine Zunahme der Konzentrationen. Es zeigte sich eine hohe interindividuelle Variabilität.

Im nächsten Schritt wurden multivariate Analysen auf dem Log₂-transformierten Datensatz durchgeführt, die sog. PCA- und PLS-DA-Score Analysen (**Abbildung 9**). Für die verschiedenen Gruppen zeigen die Ellipsen das Konfidenzintervall von 95% an. Zu beachten ist, dass die Hauptkomponenten (engl. principal component, PC) je nach ihrer Variationsstärke angeordnet sind. Obwohl innerhalb der Kohorte von 44

Patienten nach sechs Monaten eine große Überlappung zwischen den gemessenen Metabolit-Konzentrationen nachweisbar war, zeigten einzelne Metaboliten wesentliche Unterschiede.



Betrachtet man die Metaboliten einzeln zeigen sich, wie in **Tabelle 10** quantitativ dargestellt, signifikante Anstiege von drei Aminosäuren innerhalb von 6 Monaten nach LAA-Verschluss: Phenylalanin ($P=0,006$), Tryptophan ($P=0,0006$), und Tyrosin ($P=0,0001$). Am deutlichsten war der Anstieg des Tryptophan- und Tyrosin-Spiegels (jeweils um 20%). Darüber hinaus war die Kynurenin-Konzentration signifikant um 8% steigend ($P=0,0239$). Des Weiteren zeigten sich numerische Anstiege der folgenden Metaboliten: Isoleucin (3%, $P=0,2373$), Leucin (4%, $P=0,5757$), Valin (2%, $P=0,1698$), und Threonin (1,6%, $P=0,2027$), Kreatinin (7%, $P=0,1319$).

Weiterhin wurden die Messverhältnisse (Ratio) zwischen Tyrosin/Phenylalanin und Kynurenin/Tryptophan berechnet. Das Verhältnis Tyrosin/Phenylalanin war signifikant steigend ($P=0,0159$), während Kynurenin/Tryptophan einen fallenden statistischen Trend zeigte ($P=0,0766$). Die berechnete Fischer-Ratio fiel um 7% ($P=0,0009$).

Abbildung 10 stellt die mittleren prozentualen Veränderungen aller gemessenen Metaboliten graphisch dar.

Tabelle 10: Mediane Konzentrationen und prozentuale Änderungen der Metabolite innerhalb von 6 Monaten nach LAA-Verschluss

(Konz., Konzentration; proz., prozentuale; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin)

| | Metaboliten | mediane Konz. T0 | Perzentile 25 – T0 | Perzentile 75 – T0 | mediane Konz. T1 | Perzentile 25 – T1 | Perzentile 75 – T1 | p- Wert | Proz. Änderung |
|----|---------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|---------------|-------------------|
| 1 | Isoleucin | 78,4500 | 65,1000 | 95,3500 | 80,8000 | 66,8000 | 100,2000 | 0,2373 | 3 |
| 2 | Leucine | 128,5000 | 113,0000 | 158,0000 | 133,5000 | 113,7500 | 155,2500 | 0,5757 | 4 |
| 3 | Valin | 231,0000 | 195,7500 | 277,0000 | 235,5000 | 208,7500 | 279,5000 | 0,1698 | 2 |
| 4 | Phenylalanin | 63,3500 | 56,2000 | 73,1250 | 68,5500 | 61,0250 | 76,1500 | 0,0060 | 8 |
| 5 | Tryptophan | 46,0500 | 35,0250 | 58,8750 | 55,4000 | 41,0000 | 69,1750 | 0,0006 | 20 |
| 6 | Threonin | 95,7500 | 82,8250 | 117,2500 | 97,2500 | 82,5500 | 115,0000 | 0,2027 | 2 |
| 7 | Tyrosin | 62,4500 | 53,9000 | 75,8750 | 75,0500 | 59,3750 | 84,2250 | 0,0001 | 20 |
| 8 | Kreatinin | 81,6000 | 68,6500 | 100,8250 | 87,4500 | 69,3750 | 108,7500 | 0,1319 | 7 |
| 9 | Kynurenin | 2,9450 | 2,3450 | 3,6550 | 3,1900 | 2,6675 | 4,1175 | 0,0239 | 8 |
| 10 | Tyr/Phe | 1,0387 | 0,9149 | 1,1067 | 1,0828 | 0,9396 | 1,1785 | 0,0159 | 4 |
| 11 | Kyn/Trp | 0,0644 | 0,0499 | 0,0877 | 0,0599 | 0,0472 | 0,0788 | 0,0766 | -7 |
| 12 | Fischer Ratio | 2,4530 | 2,2330 | 2,9196 | 2,2875 | 2,0776 | 2,5838 | 0,0009 | -7 |

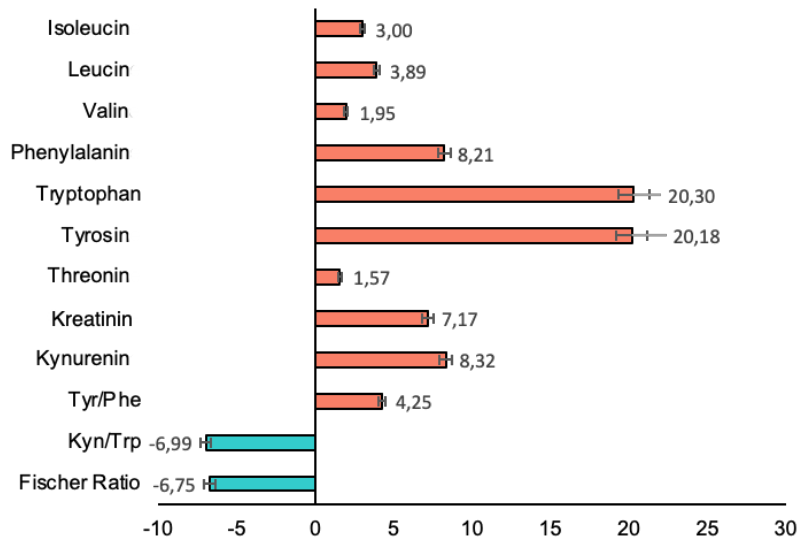


Abbildung 10: Die Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen zum T0 vs. T1. Die mittleren prozentuellen Veränderungen (Metaboliten-Konzentration bei T0 / Metaboliten-Konzentration bei T1). (Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Kyn, Kynurenin; Trp, Tryptophan)

3.5 Subgruppenanalyse

Um mögliche Einflussfaktoren auf die metabolischen Veränderungen innerhalb des Patientenkollektivs zu überprüfen, wurden diverse demographische und klinische Subgruppen (Geschlecht, Alter, BMI, linksventrikuläre Funktion, Diabetes mellitus, Kreatinin, NT-proBNP) separat betrachtet.

Subgruppe Geschlecht

Der Anstieg der zwei aromatischen Aminosäuren Phenylalanin (P=0,01) und Tyrosin (P=0,02) war signifikant durch das männliche Geschlecht beeinflusst. Das Tyrosin/Phenylalanin-Verhältnis war signifikant steigend (P=0,03) (**Tabelle 11**).

Tabelle 11: Subgruppe Geschlecht. (FDR, false discovery rate; rANOVA, repeated measures Analysis of variance; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin)

| | T0 | | | | | | T1 | | | | | | rANOVA | |
|---------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------|---------------|
| Metabolit | Median Weiblich (N=14) | Median Männlich (N=30) | Perzentil 25 - weiblich | Perzentil 75 - weiblich | Perzentil 25 - männlich | Perzentil 75 - männlich | Median weiblich (N=14) | Median männlich (N=30) | Perzentil 25 - weiblich | Perzentil 75 - weiblich | Perzentil 25 - männlich | Perzentil 75 - männlich | p-Wert | FDR |
| Isoleucin | 66,3000 | 84,5000 | 53,1500 | 83,9750 | 71,4250 | 98,4250 | 69,4500 | 86,1500 | 60,0250 | 79,6000 | 73,4000 | 99,4000 | 0,1722 | 0,3874 |
| Leucin | 113,5000 | 134,0000 | 108,2500 | 151,2500 | 120,2500 | 160,0000 | 123,0000 | 137,0000 | 100,0750 | 133,2500 | 121,5000 | 155,5000 | 0,3855 | 0,5782 |
| Valin | 213,5000 | 243,0000 | 196,7500 | 266,7500 | 196,2500 | 278,2500 | 212,5000 | 242,0000 | 187,2500 | 232,5000 | 228,7500 | 280,0000 | 0,5884 | 0,6657 |
| Phenylalanin | 63,0500 | 64,2000 | 56,5500 | 65,5750 | 56,5500 | 74,2500 | 67,0500 | 69,9000 | 57,9500 | 68,9750 | 61,7000 | 75,0500 | 0,0144 | 0,0963 |
| Tryptophan | 35,9000 | 52,6500 | 33,1250 | 43,6250 | 39,3250 | 60,3750 | 41,6000 | 62,4500 | 38,3750 | 48,3250 | 50,5000 | 68,4000 | 0,1287 | 0,3861 |
| Threonin | 111,0000 | 93,2500 | 80,5750 | 133,7500 | 84,8250 | 111,7500 | 91,4500 | 98,3000 | 63,7250 | 109,7500 | 86,5250 | 114,5000 | 0,6285 | 0,6657 |
| Tyrosin | 56,1500 | 63,9000 | 52,8750 | 70,0250 | 54,0750 | 82,9500 | 62,8500 | 77,9000 | 57,3500 | 75,3000 | 65,4000 | 84,4500 | 0,0214 | 0,0963 |
| Kreatinin | 81,6000 | 82,1500 | 65,8500 | 101,9500 | 69,5750 | 97,5000 | 98,0500 | 81,2000 | 74,9500 | 115,2500 | 66,9000 | 107,5000 | 0,6657 | 0,6657 |
| Kynurenin | 2,6750 | 3,1850 | 2,0600 | 3,2350 | 2,3600 | 3,7525 | 3,0300 | 3,2850 | 2,3250 | 3,6100 | 2,6925 | 3,9700 | 0,2359 | 0,4246 |
| Tyr/Phe | 1,0159 | 1,0603 | 0,9131 | 1,0443 | 0,9159 | 1,1175 | 1,0327 | 1,0916 | 0,9173 | 1,1500 | 0,9540 | 1,1811 | 0,0327 | 0,1063 |
| Kyn/Trp | 0,0838 | 0,0640 | 0,0548 | 0,0943 | 0,0491 | 0,0864 | 0,0759 | 0,0543 | 0,0655 | 0,0939 | 0,0459 | 0,0780 | 0,4723 | 0,6140 |
| Fischer Ratio | 2,6275 | 2,4502 | 2,3929 | 3,0148 | 2,2119 | 2,7703 | 2,1876 | 2,3278 | 2,0435 | 2,5189 | 2,1623 | 2,5597 | 0,1509 | 0,3198 |

Subgruppe Body-Mass-Index

Patienten mit einem BMI<25 zeigten einen signifikanten Anstieg des Valin-Spiegels im Vergleich Patienten mit einem BMI>25 (P=0,01). Die anderen BCAA zeigten hierbei keine signifikanten Veränderungen (**Tabelle 12**).

Tabelle 12: Subgruppe Body-Mass-Index. (FDR, false discovery rate; rANOVA, repeated measures Analysis of variance; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin; BMI, Body-Mass-Index)

| Metabolit | T0 | | | | | | T1 | | | | | | rANOVA | |
|---------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------|---------------|
| | Median BMI < 25 (N=15) | Median BMI > 25 (N=29) | Perzentil 25 - BMI < 25 | Perzentil 75 - BMI < 25 | Perzentil 25 - BMI > 25 | Perzentil 75 - BMI > 25 | Median BMI < 25 (N=15) | Median BMI > 25 (N=29) | Perzentil 25 - BMI < 25 | Perzentil 75 - BMI < 25 | Perzentil 25 - BMI > 25 | Perzentil 75 - BMI > 25 | p-Wert | FDR |
| Isoleucin | 65,9000 | 87,7000 | 60,5000 | 82,6500 | 71,2250 | 99,4000 | 72,2000 | 83,7000 | 60,6000 | 100,6000 | 73,3000 | 99,6000 | 0,2569 | 0,3644 |
| Leucin | 118,0000 | 143,0000 | 109,5000 | 138,5000 | 120,2500 | 165,0000 | 121,0000 | 136,0000 | 102,0500 | 150,0000 | 126,0000 | 156,0000 | 0,6172 | 0,6172 |
| Valin | 205,0000 | 243,0000 | 193,5000 | 248,0000 | 208,5000 | 284,0000 | 228,0000 | 242,0000 | 188,0000 | 239,5000 | 218,0000 | 281,0000 | 0,0110 | 0,0990 |
| Phenylalanin | 56,3000 | 65,5000 | 54,9000 | 65,2500 | 59,8750 | 74,1000 | 69,0000 | 68,1000 | 58,2500 | 79,3500 | 61,6000 | 72,6000 | 0,2834 | 0,3644 |
| Tryptophan | 44,2000 | 47,2000 | 34,6000 | 56,1000 | 35,7250 | 60,7000 | 53,2000 | 56,5000 | 47,6500 | 68,7500 | 41,0000 | 69,0000 | 0,2300 | 0,3644 |
| Threonin | 93,6000 | 96,8000 | 79,8000 | 124,0000 | 84,8750 | 112,0000 | 108,0000 | 95,7000 | 94,1500 | 114,5000 | 79,1000 | 115,0000 | 0,3654 | 0,4111 |
| Tyrosin | 56,9000 | 63,6000 | 53,4500 | 73,9000 | 54,0750 | 78,3000 | 74,6000 | 75,5000 | 60,9500 | 81,8000 | 59,0000 | 89,7000 | 0,0887 | 0,3644 |
| Kreatinin | 72,2000 | 85,5000 | 63,7500 | 87,1000 | 78,0750 | 106,0000 | 75,7000 | 94,6000 | 66,0000 | 95,7500 | 69,7000 | 118,0000 | 0,2580 | 0,3644 |
| Kynurenin | 2,4200 | 3,2700 | 2,2200 | 2,6750 | 2,6700 | 4,1700 | 2,7000 | 3,3400 | 2,3350 | 3,5150 | 2,7900 | 4,4700 | 0,2225 | 0,3644 |
| Tyr/Phe | 1,0131 | 1,0479 | 0,9454 | 1,1090 | 0,8978 | 1,1020 | 1,0172 | 1,1037 | 0,9498 | 1,1378 | 0,9365 | 1,1865 | 0,2167 | 0,3349 |
| Kyn/Trp | 0,0635 | 0,0815 | 0,0421 | 0,0698 | 0,0516 | 0,0943 | 0,0479 | 0,0647 | 0,0391 | 0,0695 | 0,0516 | 0,0785 | 0,2389 | 0,3349 |
| Fischer Ratio | 2,3783 | 2,5143 | 2,2287 | 2,6111 | 2,2545 | 3,0390 | 2,1282 | 2,3928 | 2,0412 | 2,3310 | 2,1754 | 2,6887 | 0,1649 | 0,3349 |

Subgruppe Lebensalter

Bei Patienten, die jünger als 77 Jahre alt waren, war das Verhältnis Tyrosin/Phenylalanin steigend (P=0,02). Die absoluten Werte der einzelnen Aminosäuren waren nicht signifikant verändert (**Tabelle 13**).

Tabelle 13: Subgruppe Lebensalter. (FDR, false discovery rate; rANOVA, repeated measures Analysis of variance; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin)

| Metabolit | T0 | | | | | | T1 | | | | | | rANOVA | |
|----------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|---------------|
| | Median Alter < 77 (N=21) | Median Alter >77 (N=23) | Perzentil 25 - Alter < 77 | Perzentil 75 - Alter < 77 | Perzentil 25 - Alter > 77 | Perzentil 75 - Alter > 77 | Median Alter <77 (N=21) | Median Alter > 77 (N=23) | Perzentil 25 - Alter < 77 | Perzentil 75 - Alter < 77 | Perzentil 25 - Alter > 77 | Perzentil 75 - Alter > 77 | p-Wert | FDR |
| Isoleucin | 79,6000 | 78,0000 | 63,0000 | 94,9000 | 69,8000 | 96,2500 | 77,9500 | 83,8000 | 62,6750 | 96,4000 | 71,2750 | 105,7500 | 0,3465 | 0,5621 |
| Leucin | 136,0000 | 128,0000 | 113,0000 | 154,0000 | 113,5000 | 160,0000 | 129,5000 | 135,0000 | 106,2500 | 154,2500 | 120,2500 | 158,0000 | 0,6897 | 0,6897 |
| Valin | 248,0000 | 221,0000 | 205,0000 | 277,0000 | 194,5000 | 270,5000 | 232,0000 | 238,5000 | 204,2500 | 277,7500 | 211,2500 | 280,5000 | 0,1449 | 0,5621 |
| Phenylalanine | 65,6000 | 62,4000 | 58,5000 | 75,5000 | 55,4500 | 67,6000 | 67,9500 | 68,7500 | 59,1500 | 72,5250 | 62,2500 | 81,6250 | 0,4289 | 0,5621 |
| Tryptophan | 55,7000 | 36,1000 | 44,9000 | 63,8000 | 30,7000 | 48,4000 | 60,2000 | 48,5500 | 48,4750 | 69,6750 | 38,6500 | 66,8250 | 0,2207 | 0,5621 |
| Threonin | 103,0000 | 92,9000 | 88,7000 | 119,0000 | 80,8500 | 113,5000 | 96,5500 | 97,2500 | 84,3500 | 114,5000 | 80,6250 | 114,7500 | 0,4372 | 0,5621 |
| Tyrosin | 74,4000 | 55,8000 | 62,0000 | 85,1000 | 50,7000 | 65,2000 | 75,8500 | 72,7500 | 63,4500 | 90,0750 | 57,3500 | 79,4250 | 0,2858 | 0,5621 |
| Kreatinin | 81,5000 | 81,7000 | 68,2000 | 92,5000 | 69,3500 | 109,0000 | 84,3500 | 90,6500 | 66,9250 | 99,6750 | 70,7000 | 112,2500 | 0,5578 | 0,6275 |
| Kynurenin | 3,2400 | 2,8500 | 2,3900 | 4,6000 | 2,3200 | 3,4900 | 3,1950 | 3,1500 | 2,5775 | 4,3875 | 2,7225 | 3,8775 | 0,3375 | 0,5621 |
| Tyr/Phe | 1,0820 | 0,9372 | 1,0335 | 1,1589 | 0,8460 | 1,0603 | 1,1213 | 0,9754 | 1,0249 | 1,2778 | 0,9257 | 1,1158 | 0,0217 | 0,1410 |
| Kyn/Trp | 0,0620 | 0,0815 | 0,0423 | 0,0800 | 0,0591 | 0,0909 | 0,0564 | 0,0636 | 0,0444 | 0,0765 | 0,0489 | 0,0882 | 0,0583 | 0,2526 |
| Fischer Ratio | 2,2875 | 2,7601 | 2,1110 | 2,4627 | 2,4405 | 3,0616 | 2,2113 | 2,4075 | 2,0484 | 2,4554 | 2,1715 | 2,7343 | 0,2720 | 0,5005 |

Subgruppe Diabetes mellitus

Nicht-Diabetiker zeigten eine signifikante Zunahme der Kynurenin-Konzentration (P 0,02). Die Fischer-Ratio war signifikant fallend (P=0,03) (Tabelle 14).

Tabelle 14: Subgruppe Diabetes mellitus. (FDR, false discovery rate; rANOVA, repeated measures Analysis of variance; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin)

| Metabolit | T0 | | | | | | T1 | | | | | | rANOVA | |
|----------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|
| | Median Diabetes (N=16) | Median kein Diabetes (N=28) | Perzentil 25 - Diabetes | Perzentil 75 - Diabetes | Perzentil 25- kein Diabetes | Perzentil 75- kein Diabetes | Median Diabetes (N=16) | Median Kein Diabetes (N=28) | Perzentil 25 - Diabetes | Perzentil 75 - Diabetes | Perzentil 25- kein Diabetes | Perzentil 75- kein Diabetes | p-Wert | FDR |
| Isoleucin | 93,1000 | 71,7000 | 76,2250 | 100,2750 | 61,4250 | 89,5250 | 86,1500 | 77,4000 | 78,0000 | 102,5000 | 61,5500 | 97,5000 | 0,0937 | 0,1773 |
| Leucin | 139,5000 | 122,0000 | 122,5000 | 163,5000 | 109,7500 | 154,0000 | 135,5000 | 125,0000 | 130,5000 | 156,0000 | 106,0000 | 155,2500 | 0,3493 | 0,4491 |
| Valin | 243,5000 | 215,0000 | 211,5000 | 280,2500 | 193,7500 | 257,5000 | 238,0000 | 235,5000 | 217,2500 | 279,5000 | 190,7500 | 278,7500 | 0,0985 | 0,1773 |
| Phenylalanine | 65,9000 | 62,1500 | 61,6000 | 72,8000 | 55,1750 | 73,1250 | 68,2000 | 68,7500 | 60,2250 | 77,9250 | 61,3250 | 73,3750 | 0,2085 | 0,3127 |
| Tryptophan | 41,5500 | 52,5000 | 33,4250 | 50,5750 | 36,2500 | 59,6500 | 48,0000 | 57,5000 | 33,6500 | 65,4000 | 47,5750 | 69,1750 | 0,0551 | 0,1773 |
| Threonin | 100,8000 | 92,0000 | 91,8250 | 119,0000 | 72,1000 | 117,2500 | 90,4500 | 99,0500 | 65,5750 | 116,7500 | 87,2000 | 115,0000 | 0,6874 | 0,6874 |
| Tyrosin | 64,1000 | 62,4500 | 52,1250 | 77,6000 | 54,2250 | 75,6500 | 74,6500 | 75,4000 | 62,2250 | 81,7250 | 59,1250 | 84,2250 | 0,0935 | 0,1773 |
| Kreatinin | 86,1500 | 79,0500 | 76,4750 | 170,0000 | 64,2250 | 91,4500 | 118,0000 | 79,5000 | 80,0750 | 160,2500 | 65,4250 | 96,9750 | 0,5235 | 0,5889 |
| Kynurenin | 3,3250 | 2,6000 | 2,6075 | 4,2775 | 2,3150 | 3,5475 | 3,2950 | 3,0600 | 2,9350 | 4,6950 | 2,5250 | 3,8125 | 0,0150 | 0,1350 |
| Tyr/Phe | 1,0212 | 1,0459 | 0,8780 | 1,0837 | 0,9647 | 1,1511 | 1,1126 | 1,0642 | 0,9522 | 1,1785 | 0,9273 | 1,1812 | 0,4811 | 0,5671 |
| Kyn/Trp | 0,0870 | 0,0623 | 0,0777 | 0,0951 | 0,0477 | 0,0707 | 0,0753 | 0,0543 | 0,0629 | 0,1012 | 0,0458 | 0,0634 | 0,1373 | 0,2550 |
| Fischer Ratio | 2,8002 | 2,3842 | 2,4285 | 3,1408 | 2,1936 | 2,6718 | 2,5665 | 2,2113 | 2,1768 | 2,8142 | 2,0776 | 2,4072 | 0,0294 | 0,1911 |

Subgruppe linksventrikuläre Pumpfunktion

Bei Patienten mit reduzierter linksventrikulärer Funktion < 55% zeigte sich ein signifikanter Abfall des Kynurenin/Tryptophan-Verhältnisses (P= 0,046) (Tabelle 15).

Tabelle 15: Subgruppe linksventrikuläre Funktion (LVF) < 55 %. (FDR, false discovery rate; rANOVA, repeated measures Analysis of variance; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin; LVF, linksventrikuläre Funktion)

| Metabolit | T0 | | | | | | T1 | | | | | | rANOVA | |
|----------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|
| | Median LVF normal (N=34) | Median LVF reduziert (N=10) | Perzentil 25 - LVF normal | Perzentil 75- LVF normal | Perzentil 25 – LVF reduziert | Perzentil 75 – LVF reduziert | Median LVF normal (N=34) | Median LVF reduziert (N=10) | Perzentil 25 - LVF normal | Perzentil 75 - LVF normal | Perzentil 25- LVF reduziert | Perzentil 75- LVF reduziert | p-Wert | FDR |
| Isoleucin | 84,5000 | 68,2500 | 69,7000 | 98,4250 | 59,8500 | 78,0000 | 84,3000 | 64,2500 | 72,4750 | 103,5000 | 55,9500 | 78,1000 | 0,6163 | 0,6163 |
| Leucin | 146,0000 | 119,5000 | 113,2500 | 164,5000 | 110,0000 | 128,7500 | 136,0000 | 105,0000 | 121,5000 | 158,7500 | 98,3500 | 132,5000 | 0,4402 | 0,5660 |
| Valin | 245,5000 | 196,5000 | 208,7500 | 283,7500 | 186,0000 | 211,2500 | 239,5000 | 195,0000 | 220,2500 | 281,0000 | 174,0000 | 266,2500 | 0,3553 | 0,5330 |
| Phenylalanine | 65,5500 | 58,8500 | 57,6000 | 74,2500 | 52,5250 | 62,9250 | 68,5000 | 68,5500 | 61,3000 | 78,3250 | 59,1000 | 69,4500 | 0,2789 | 0,5330 |
| Tryptophan | 52,5000 | 34,1500 | 39,0250 | 60,3750 | 27,6250 | 39,5250 | 60,2000 | 48,5500 | 41,3000 | 69,5250 | 35,8250 | 53,2000 | 0,2015 | 0,5330 |
| Threonin | 97,7000 | 88,8500 | 85,9750 | 117,0000 | 68,5750 | 127,2500 | 98,3000 | 96,6000 | 85,4750 | 115,7500 | 65,6250 | 105,7500 | 0,5698 | 0,6163 |
| Tyrosin | 65,6500 | 51,6500 | 56,1250 | 78,1250 | 50,2250 | 61,3500 | 77,0500 | 60,7000 | 63,4500 | 84,6750 | 56,6500 | 73,0500 | 0,1582 | 0,5330 |
| Kreatinin | 80,3000 | 83,6000 | 69,5750 | 92,6500 | 68,6250 | 112,0000 | 87,4500 | 89,1500 | 69,7250 | 110,7500 | 70,0750 | 105,1750 | 0,1926 | 0,5330 |
| Kynurenin | 3,1300 | 2,4750 | 2,3975 | 3,6650 | 2,2725 | 3,4125 | 3,1900 | 3,3300 | 2,6225 | 3,8775 | 2,7650 | 4,7800 | 0,3153 | 0,5330 |
| Tyr/Phe | 1,0442 | 0,9819 | 0,9311 | 1,1160 | 0,8398 | 1,0919 | 1,1018 | 0,9623 | 0,9452 | 1,1838 | 0,9403 | 1,0369 | 0,0609 | 0,2639 |
| Kyn/Trp | 0,0635 | 0,0855 | 0,0457 | 0,0871 | 0,0652 | 0,0927 | 0,0564 | 0,0714 | 0,0462 | 0,0764 | 0,0569 | 0,1015 | 0,0461 | 0,2639 |
| Fischer Ratio | 2,4193 | 2,7669 | 2,1781 | 2,8331 | 2,4796 | 3,0001 | 2,2875 | 2,2674 | 2,1219 | 2,5691 | 2,0303 | 2,5481 | 0,3170 | 0,4579 |

Subgruppe Niereninsuffizienz

Patienten mit einem Kreatinin-Wert > 1,2 mg/dl zeigten eine signifikante Zunahme der Kynurenin-Konzentration (P=0,001).

Entsprechend kam es zu einem Abfall des Kynurenin/Tryptophan-Verhältnisses innerhalb von 6 Monaten (P=0,046) (**Tabelle 16**).

Tabelle 16: Subgruppe Nierenfunktion. (FDR, false discovery rate; rANOVA, repeated measures Analysis of variance; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin)

| Metabolit | T0 | | | | | | T1 | | | | | | rANOVA | |
|------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------|---------------|
| | Median Kreatinin < 1,2 (N=30) | Median Kreatinin > 1,2 (N=14) | Perzentil 25 - Kreatinin < 1,2 | Perzentil 75 - Kreatinin < 1,2 | Perzentil 25 - Kreatinin > 1,2 | Perzentil 75 - Kreatinin > 1,2 | Median Kreatinin < 1,2 (N=30) | Median Kreatinin > 1,2 (N=14) | Perzentil 25 - Kreatinin < 1,2 | Perzentil 75 - Kreatinin < 1,2 | Perzentil 25 - Kreatinin > 1,2 | Perzentil 75 - Kreatinin > 1,2 | p-Wert | FDR |
| Isoleucin | 78,4500 | 83,3500 | 65,8250 | 94,5000 | 63,8000 | 95,8250 | 79,8000 | 82,5000 | 66,3250 | 101,4000 | 68,7250 | 95,9500 | 0,2731 | 0,3706 |
| Leucine | 127,5000 | 130,5000 | 110,7500 | 162,5000 | 118,7500 | 148,7500 | 132,5000 | 134,0000 | 116,5000 | 157,5000 | 111,7500 | 137,0000 | 0,4679 | 0,5353 |
| Valin | 215,0000 | 237,5000 | 194,2500 | 283,7500 | 215,7500 | 246,7500 | 236,5000 | 223,0000 | 212,7500 | 280,2500 | 209,2500 | 269,7500 | 0,0953 | 0,2360 |
| Phenylalanin | 62,4500 | 67,6000 | 55,5250 | 69,0000 | 60,0000 | 74,4000 | 67,1500 | 71,5500 | 60,6750 | 71,8750 | 66,8750 | 87,6750 | 0,1122 | 0,2360 |
| Tryptophan | 44,5500 | 53,0500 | 36,1500 | 55,2000 | 33,7000 | 60,6250 | 55,6500 | 54,8500 | 41,3000 | 67,9000 | 37,2750 | 69,3750 | 0,1311 | 0,2360 |
| Threonin | 94,1500 | 99,9000 | 78,8750 | 117,7500 | 90,3000 | 110,7500 | 99,0500 | 89,7000 | 87,2000 | 114,7500 | 61,3500 | 111,7500 | 0,5948 | 0,5948 |
| Tyrosin | 65,6500 | 58,8000 | 54,3750 | 77,0250 | 52,9500 | 66,3500 | 77,0500 | 71,2500 | 60,2250 | 83,6250 | 58,4250 | 81,8750 | 0,1096 | 0,2360 |
| Kreatinin | 75,0000 | 125,5000 | 63,6750 | 81,6500 | 106,5000 | 193,2500 | 75,1500 | 130,5000 | 65,3500 | 90,9000 | 100,0250 | 163,2500 | 0,4758 | 0,5353 |
| Kynurenin | 2,5000 | 3,7250 | 2,2625 | 3,3450 | 3,0625 | 5,5450 | 2,8400 | 4,3850 | 2,4950 | 3,3400 | 3,4475 | 5,1275 | 0,0011 | 0,0099 |
| Tyr/Phe | 1,0532 | 0,9623 | 0,9809 | 1,1421 | 0,7962 | 1,0724 | 1,1018 | 0,9520 | 0,9835 | 1,2295 | 0,9049 | 1,1122 | 0,1053 | 0,2130 |
| Kyn/Trp | 0,0588 | 0,0855 | 0,0429 | 0,0842 | 0,0730 | 0,0943 | 0,0548 | 0,0845 | 0,0457 | 0,0677 | 0,0558 | 0,1175 | 0,0461 | 0,2639 |
| Fischer Ratio | 2,4351 | 2,5493 | 2,2467 | 2,8331 | 2,1835 | 3,0001 | 2,2936 | 2,2875 | 2,0919 | 2,5691 | 2,0584 | 2,5663 | 0,1281 | 0,2130 |

Subgruppe NT-proBNP-Spiegel

Patienten mit einem erhöhten NT-proBNP Wert > 1038 ng/l zeigten steigende Konzentrationen von Valin (P=0,04) und Tryptophan (p=0,02) (jeweils P=0,04 und 0,02) (**Tabelle 17**).

Tabelle 17: Subgruppe proBNP. (FDR, false discovery rate; rANOVA, repeated measures Analysis of variance; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin; NT-Pro-BNP, N-terminale brain natriuretic peptid)

| Metabolit | T0 | | | | | | T1 | | | | | | rANOVA | |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------|---------------|
| | Median proBNP < 1038 (N=23) | Median proBNP > 1038 (N=21) | Perzentil 25 -proBNP <1038 | Perzentil 75 -proBNP <1038 | Perzentil 25 - proBNP > 1038 (N=21) | Perzentil 75 - proBNP > 1038 (N=23) | Median proBNP < 1038 (N=23) | Median proBNP > 1038 (N=21) | Perzentil 25 - proBNP < 1038 | Perzentil 75 - proBNP < 1038 | Perzentil 25 - proBNP > 1038 | Perzentil 75 - proBNP > 1038 | p-Wert | FDR |
| Isoleucin | 85,7000 | 70,6000 | 74,9500 | 99,4500 | 59,8000 | 92,0000 | 83,7000 | 78,1000 | 69,5500 | 104,5000 | 64,7000 | 95,2000 | 0,4776 | 0,5373 |
| Leucine | 144,0000 | 114,0000 | 126,5000 | 165,0000 | 109,0000 | 148,0000 | 133,0000 | 134,0000 | 119,0000 | 162,0000 | 106,0000 | 145,0000 | 0,6358 | 0,6358 |
| Valin | 253,0000 | 214,0000 | 209,5000 | 285,0000 | 192,0000 | 243,0000 | 242,0000 | 228,0000 | 221,5000 | 281,0000 | 190,0000 | 262,0000 | 0,0363 | 0,1634 |
| Phenylalanin | 64,2000 | 62,5000 | 57,0500 | 71,8000 | 56,3000 | 73,5000 | 66,5000 | 69,6000 | 59,6000 | 71,4500 | 66,3000 | 79,2000 | 0,3164 | 0,4373 |
| Tryptophan | 52,4000 | 39,4000 | 39,3500 | 59,9000 | 34,5000 | 53,5000 | 58,0000 | 49,9000 | 45,4500 | 70,1500 | 40,9000 | 67,8000 | 0,0157 | 0,1413 |
| Threonin | 94,7000 | 96,8000 | 80,8500 | 118,5000 | 88,6000 | 115,0000 | 96,4000 | 99,0000 | 86,7500 | 115,0000 | 67,2000 | 111,0000 | 0,2850 | 0,4373 |
| Tyrosin | 73,4000 | 60,7000 | 53,1000 | 81,4000 | 54,6000 | 67,5000 | 75,5000 | 73,8000 | 61,1500 | 79,0000 | 59,5000 | 89,7000 | 0,1868 | 0,4373 |
| Kreatinin | 79,0000 | 89,8000 | 63,2000 | 87,5000 | 77,8000 | 110,0000 | 75,7000 | 100,0000 | 65,4000 | 90,0000 | 78,7000 | 129,0000 | 0,3401 | 0,4373 |
| Kynurenin | 2,7000 | 3,5300 | 2,2900 | 3,3050 | 2,4500 | 4,1700 | 2,8900 | 3,6900 | 2,5700 | 3,5100 | 2,9600 | 4,7900 | 0,2292 | 0,4373 |
| Tyr/Phe | 1,0445 | 1,0054 | 0,9731 | 1,1356 | 0,8928 | 1,0820 | 1,1037 | 0,9723 | 1,0246 | 1,2226 | 0,9282 | 1,1190 | 0,0565 | 0,1836 |
| Kyn/Trp | 0,0539 | 0,0707 | 0,0421 | 0,0865 | 0,0635 | 0,1023 | 0,0516 | 0,0730 | 0,0448 | 0,0674 | 0,0551 | 0,1020 | 0,2980 | 0,4019 |
| Fischer Ratio | 2,7589 | 2,4269 | 2,2664 | 3,0523 | 2,2014 | 2,6379 | 2,3645 | 2,2028 | 2,1649 | 2,7440 | 1,9407 | 2,4504 | 0,0969 | 0,2519 |

3.6 Multivariates lineares Regressionsmodell

In einem abschließenden multiplen linearen Regressionsmodell wurden die Veränderungen der Metaboliten innerhalb von sechs Monaten nach Adjustierung mit allen Subgruppen (i.e. Geschlecht, Alter, Diabetes mellitus, BMI, linksventrikuläre Pumpfunktion, Kreatinin und proBNP) re-evaluiert. Nach rückwärts gerichteter Analyse konnten statistisch signifikante Veränderungen der Konzentrationen von Tryptophan (Beta 0,235; T-Wert 3,676; P=0,0006), Phenylalanin (Beta 0,109; T-Wert 2,890; P=0,006), Tyrosin (Beta 0,176; T-Wert 4,270; P=0,0001) und Kynurenin (Beta 0,128; T-Wert 2,342; P=0,024) festgestellt werden. **(Tabelle 18)**

Die Fischer-Ratio (Beta 0,121; T-Wert 3,289; P=0,0007) und das Tyrosin/Phenylalanin-Verhältnis (Beta 0,108; T-Wert 2,671; P=0,016) waren weiterhin signifikant verändert.

Tabelle 18: multivariable Regressionsmodell

(FDR, false discovery rate = Falscherkennungsrate; Beta, standardisierter Korrelationskoeffizient; Std., Standard; Tyr, Tyrosin; Phe, Phenylalanin; Trp, Tryptophan; Kyn, Kynurenin)

| | Metabolit | p-Wert | FDR | Beta | Std. error | t-Wert |
|----|----------------------|---------------|---------------|--------------|-------------------|---------------|
| 1 | Isoleucin | 0,2373 | 0,2670 | 0,072 | 0,060 | 1,198 |
| 2 | Leucin | 0,5757 | 0,5757 | 0,030 | 0,053 | 0,564 |
| 3 | Valin | 0,1698 | 0,2547 | 0,053 | 0,038 | 1,396 |
| 4 | Phenylalanin | 0,0060 | 0,0180 | 0,109 | 0,038 | 2,890 |
| 5 | Tryptophan | 0,0006 | 0,0028 | 0,235 | 0,064 | 3,696 |
| 6 | Threonin | 0,2027 | 0,2606 | -0,091 | 0,071 | -1,294 |
| 7 | Tyrosin | 0,0001 | 0,0010 | 0,176 | 0,041 | 4,270 |
| 8 | Kreatinin | 0,1319 | 0,2374 | 0,063 | 0,041 | 1,536 |
| 9 | Kynurenin | 0,0239 | 0,0537 | 0,128 | 0,055 | 2,342 |
| 10 | Tyr/Phe | 0,0159 | 0,0213 | 0,108 | 0,061 | 2,671 |
| 11 | Kyn/Trp | 0,0766 | 0,1211 | 0,071 | 0,051 | 1,173 |
| 12 | Fischer ratio | 0,0007 | 0,0026 | 0,121 | 0,033 | 3,289 |

3.7 Metabolischen Zyklen

Die **Abbildung 11** zeigt schließlich als Box-Plot-Darstellung die vier Aminosäuren mit signifikanter Veränderung, sowie die Fischer- Ratio vor (T0) und nach (T1) dem LAA-Verschluss. Die Daten sind als Mediane und 25. und 75. Perzentile (Box) dargestellt. **Abbildung 12** stellt diese Veränderungen über die Zeit als Verlaufskurven dar.

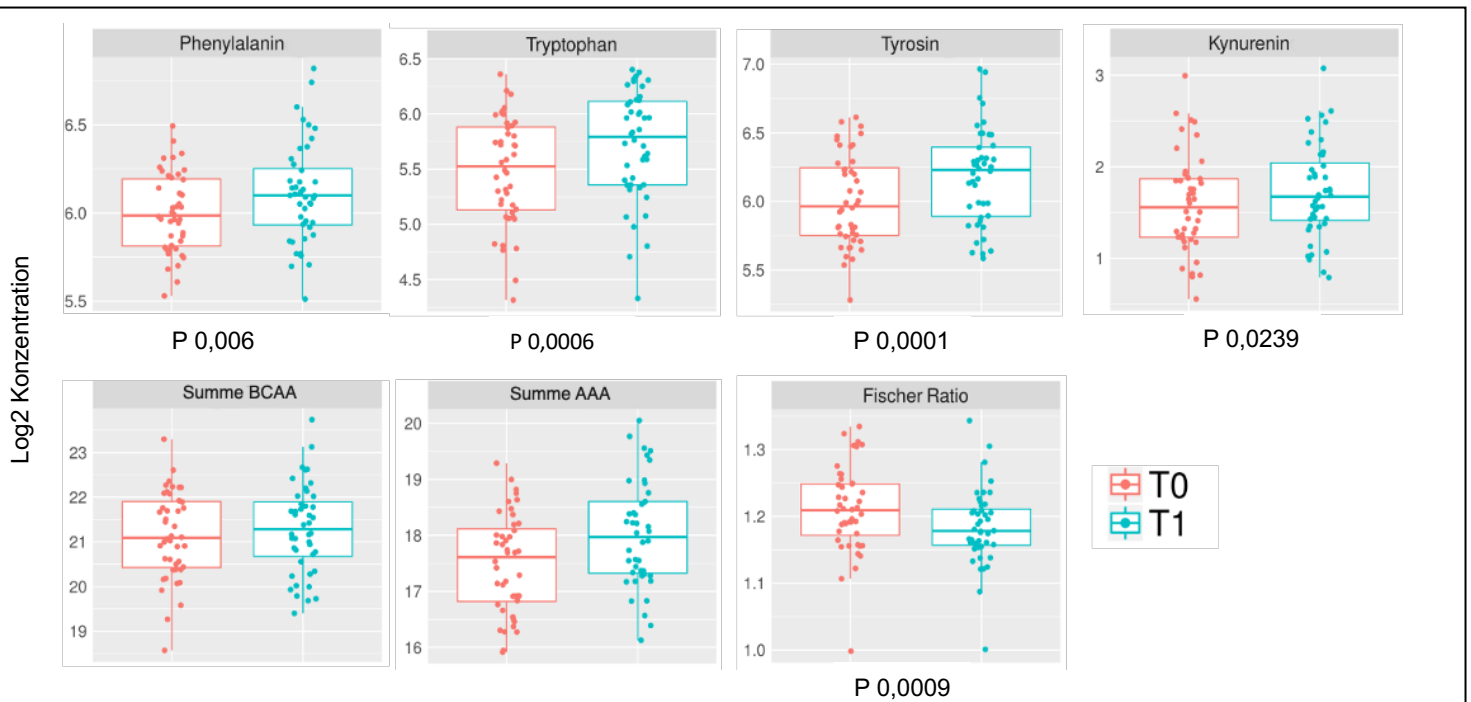


Abbildung 11: Box-Plot-Darstellung der Aminosäuren mit signifikanter Veränderung und Fischer-Ratio vor (T0) und nach (T1) dem LAA-Verschluss. Daten sind als Mediane und 25. und 75. Perzentile (Box). Fischer-Ratio= BCAA/AAA. (BCAA, branched chain amino acids; AAA, aromatische Aminosäure).

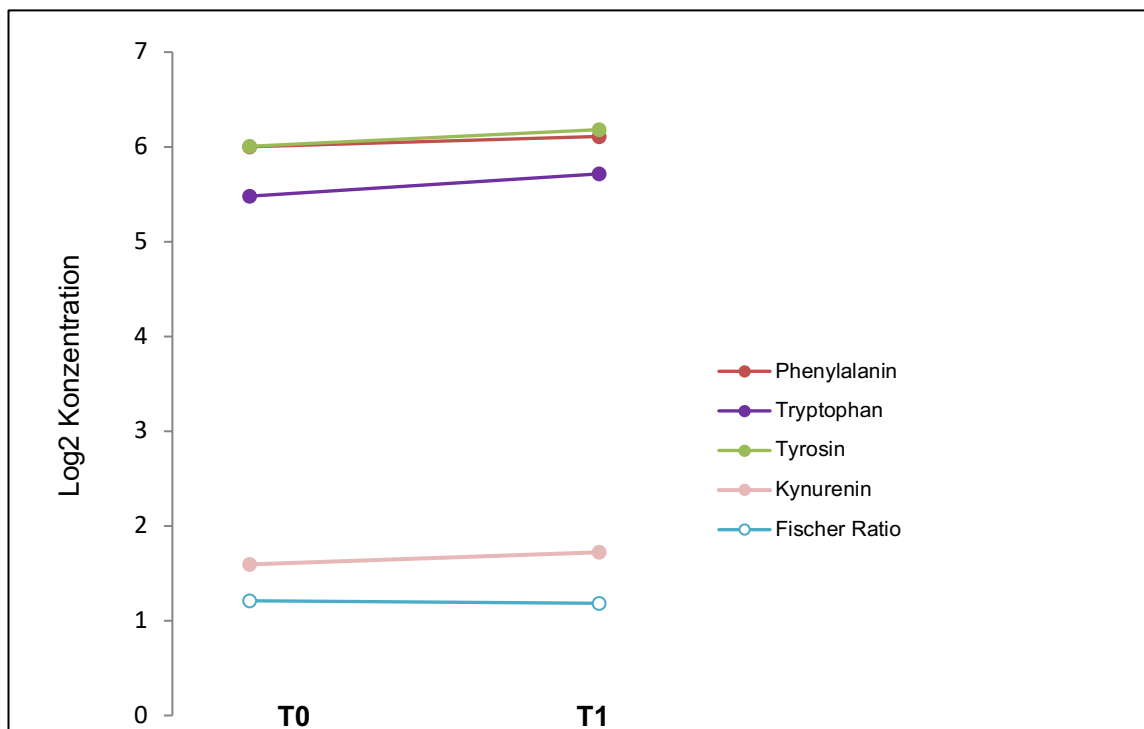


Abbildung 12: Die signifikant veränderten Metabolit-konzentrationen zum T0 vs. T1: die mittleren logarithmischen Veränderungen.

Um den Gesamt-Zusammenhang der nachgewiesenen Metabolit-Veränderung besser veranschaulichen, stellt **Abbildung 13** die Veränderungen des metabolischen Profils innerhalb der betroffenen Stoffwechselwege dar. Steigende Metaboliten sind dabei blau dargestellt, statistisch signifikante Veränderungen sind mit einem Sternchen markiert.

Die gemessenen AAA, BCAA und Kynurenin werden gemeinsam in Acetyl-CoA verstoffwechselt. Das Acetyl-CoA wird im Citratzyklus eingeschleust für die weitere Energieproduktion. Kreatin wird von den Aminosäuren Arginin, Glycin und Methionin im Harnstoffzyklus in der Leber, den Nieren und der Bauchspeicheldrüse abgeleitet und ins Kreatinin in den Zielorganen (z. B. Skelettmuskulatur, Herzmuskel, Gehirn, Nerven, Netzhaut des Auges) umgewandelt. Eine ausführliche Beschreibung der metabolischen Zyklen und deren Schlüsselmetaboliten folgt in der Diskussion.

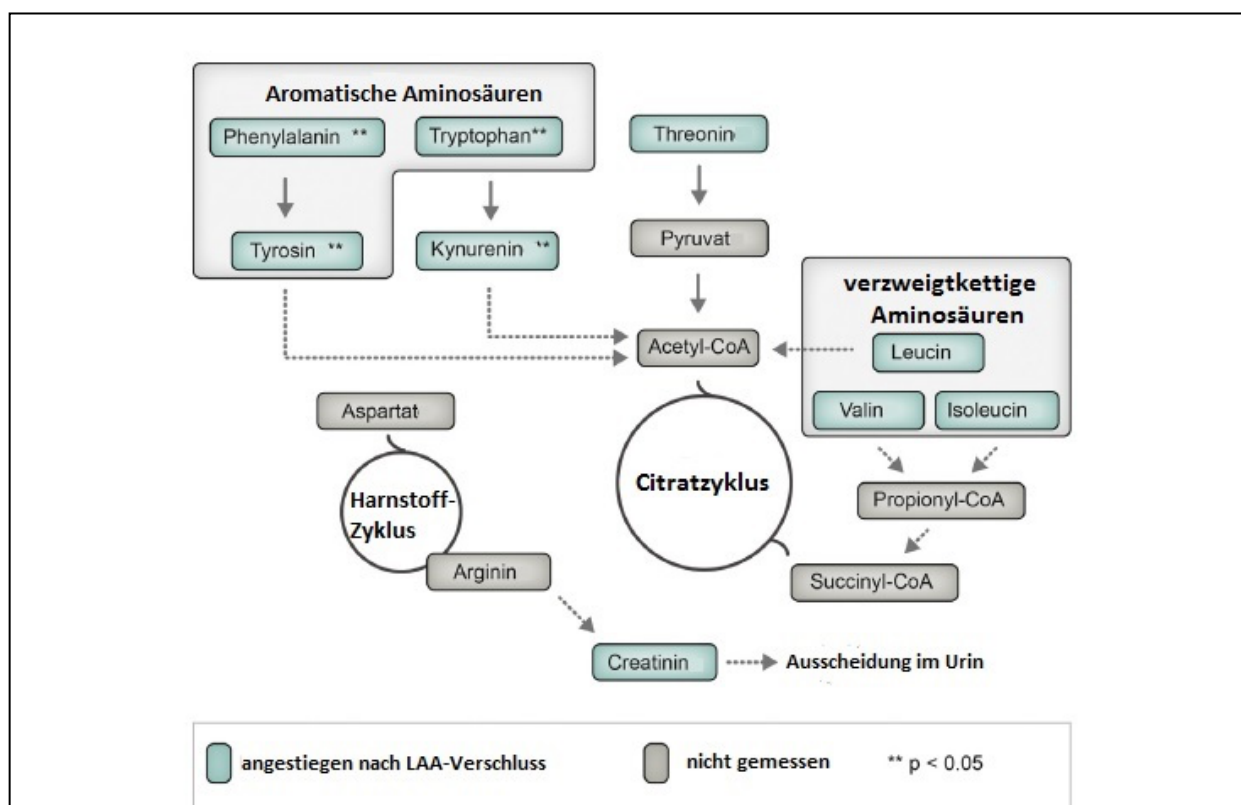


Abbildung 13: Die betroffenen metabolischen Zyklen. Die gemessenen Metaboliten stellen die Substrate des Citratzyklus oder Endprodukte des Harnstoffzyklus dar. Die BCAA können in den Citratzyklus als Acetyl-CoA oder alternativ über den Propionyl-CoA-Weg als Succinyl-CoA eingeschleust werden. Kreatin wird von den Aminosäuren Arginin, Glycin und Methionin im Harnstoffzyklus abgeleitet und ins Kreatinin umgewandelt.

4 DISKUSSION

Diese prospektive und hypothesegenerierende Beobachtungsstudie untersuchte auf der Basis der gezielten Metabolom-Analyse zwei Hauptfragenstellungen: 1) Beeinflusst der interventionelle LAA-Verschluss bei Patienten mit nicht-valvulärem Vorhofflimmern den Metabolismus der essentiellen Aminosäuren, des Kynurenin und das Kreatinin? 2) Welche möglichen Hypothesen können durch solche messbaren Veränderungen infolge der LAA-Verschluss-Therapie generiert werden, die neben der myokardialen Kontraktilität, die entzündliche Aktivität und den oxidativen Stress widerspiegeln?

In der vorliegenden Studie konnten beide Fragestellungen beantwortet werden, denn es konnte gezeigt werden, dass innerhalb eines halben Jahres nach erfolgreichem interventionellem LAA-Verschluss statistisch relevante Veränderungen der Konzentrationen von mehreren essentiellen Aminosäuren (Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin) nachweisbar waren. Daneben zeigte sich eine statistisch relevante Veränderung des Kynurenin-Spiegels. Diese Ergebnisse konnten durch uni- und multivariate Regressionsmodelle nachgewiesen werden. Diese messbaren Veränderungen lassen die Hypothese zu, dass der LAA-Verschluss auf den Metabolismus der Aminosäuren und damit die bioenergetische Effizienz einwirken könnte. Diese Veränderung auf Metabolom-Ebene könnten insbesondere durch die Ausdehnung des LAA nach erfolgreichem Verschluss durch das implantierte Device, sowie durch hämodynamische und neurohormonelle Veränderungen hervorgerufen werden.

4.1 Die Effekte des Vorhofohr-Verschlusses

Mechanische Effekte

Der Einfluss des LAA-Verschlusses auf die Kontraktilität und Blut-Reservoir wurde von Cosine et al. durch serielle echokardiographische Untersuchungen vor und nach dem LAA-Verschluss bei 33 Patienten untersucht (davon 20 mit Vorhofflimmern und 13 mit Sinusrhythmus). (Coisne et al., 2017) Der LAA-Verschluss verbesserte die Reservoir-Funktion bei Patienten mit bestehendem Vorhofflimmern bzw. die Kontraktilität bei Patienten im Sinusrhythmus. Diese Verbesserung scheint mit Anpassungen im Rahmen des Frank-Starling-Effekt auf Vorhofebene in Zusammenhang zu stehen. (Coisne et al., 2017) Insbesondere wurden keine

signifikanten Veränderungen von ventrikulären Parametern einschließlich der diastolischen Funktion beobachtet. In unserer Studie erfolgte lediglich die Beurteilung der LAA-Größe und Volumen nach dem LAA-Verschluss. Diese Parameter zeigten sich unverändert nach der Intervention.

Endokrine Effekte

Der aktuelle Wissensbestand über die neurohormonelle Rolle des LAA ist weitgehend begrenzt. Das ANP wird überwiegend vom LAA freigesetzt. Es spielt eine wichtige Rolle bei der Natriuresis und Homöostase. Offensichtlich regulieren die Änderungen in systemischen Volumenstatus und die Vorhofdehnung die ANP-Sekretion und damit die systemische Flüssigkeits- und Natrium-Bilanz (Ballermann and Brenner, 1987)

In Anbetracht der hämodynamischen und homöostatischen Rolle des LAA könnte jede Intervention, die auf diese Struktur abzielt, entsprechend das systemische Metabolom beeinflussen. Für die Implantation des Watchman- und Amplatzer-Okkluders muss eine Kompression des Devices von zehn bis 20% der Originalgröße erzielt werden, um eine stabile Lage des Okkluders im LAA zu gewährleisten. (Mobius-Winkler et al., 2012) Dadurch übt der Okkluder einen lokalen mechanischen Dehnungsreiz auf die Myokardzellen aus. Beide Devices führen letztlich also zu einem Dehnungs- bzw. mechanischen Reiz innerhalb des LAA nach der Implantation.

Eine mögliche neurohormonelle Einwirkung des LAA-Verschlusses wurde in mehreren Studien gezeigt. In der Arbeit von Majunke et al. wurden der ANP- und BNP-Spiegel nach dem interventionellen LAA-Verschluss gemessen. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg des ANP- und BNP-Spiegels unmittelbar nach der Implantation mit nachfolgendem Abfall im kurzfristigen Verlauf. In einer anderen Arbeit von Behnes et al. konnte der Anstieg des MR-Pro-ANP-Spiegels nach LAA-Verschluss im mittelfristigen Verlauf gezeigt werden. Dagegen zeigten sich keine relevanten Veränderungen anderer kardialer Biomarker, wie etwa das hochsensitive Troponin-I, -T oder das NT-Pro-BNP. (Behnes et al., 2017) Weitere metabolische Effekte auf Acetylcarnitine, Citrat- und Harnstoffzyklus konnten in anderen Beobachtungsstudien nachgewiesen werden. (Fastner et al., 2018; Sattler et al., 2017)

Um die zugrunde liegenden Mechanismen besser verstehen zu können, führte die Arbeitsgruppe um Lakkireddy die LAA-HOMEOSTASIS-Studie durch. In dieser prospektiven Studie erhielten 77 Patienten mit Vorhofflimmern einen LAA-Verschluss entweder endokardial mittels des Watchman-Device (39 Patienten) oder epikardial mittels perkutan durchgeführtem Nahtverschluss mit dem sog. Lariat-Device (38 Patienten). (Lakkireddy et al., 2018) Die Blutproben wurden vor dem Eingriff, unmittelbar danach, 24 Stunden und drei Monate danach gesammelt. Es wurden die Hormone und Biomarker bestimmt, die an den folgenden Systemen beteiligt sind: adrenerges System (Adrenalin, Noradrenalin), Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) und ANP. (Lakkireddy et al., 2018) Nach dem epikardialen LAA-Verschluss fiel der ANP-Spiegel unmittelbar nach dem Eingriff signifikant ab, am ehesten aufgrund der kompletten Trennung des LAA vom systemischen Kreislauf. Somit ist die Hauptquelle für die ANP-Produktion ausgeschaltet. (Tabata et al., 2000) Der ANP-Spiegel erhöhte sich nach 24 Stunden und normalisierte sich nach drei Monaten wieder, was am Ehesten durch einen Kompensationsmechanismus der Vorhöfe verursacht sein könnte. Nach dem endokardialen LAA-Verschluss stieg der ANP-Spiegel unmittelbar nach dem Eingriff signifikant und normalisierte sich wieder im Verlauf. Der Befund spricht dafür, dass die neurohormonelle Funktion des LAA nach dem endokardialen LAA-Verschluss intakt bleibt. (Lakkireddy et al., 2018)

Histopathologische Effekte

Die Ausheilung und Integration des implantierten intrakardialen Devices wurde in mehreren experimentellen Studien in Hundemodellen erforscht. In diesem Kontext lieferte die Arbeit von Schwartz et al. wertvolle Informationen, als er die Einheilung des implantierten LAA-Okkluders im Zeitverlauf aus histopathologischer und makroskopischer Sicht beschrieb. (Schwartz et al., 2010) Neun Hundeherzen wurden nach Implantation des LAA-Okkluders zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht. Die Ergebnisse wurden mit menschlichen Herzen mit vorherigem LAA-Verschluss unter Verwendung desselben Devices verglichen. Nach drei Tagen wurde die Vorhofseite des Okkluders mit Fibrin bedeckt, das die Lücken zwischen der LA-Wand und dem Okkluder abdichtete, sowie eine Fibrosierung innerhalb des LAA nachweisbar. Nach insgesamt 45 Tagen wurde die Oberfläche des Devices mit Neo-Endothel abgedeckt. Ein desorganisierter Thrombus verblieb im okkludierten LAA-Lumen. Zudem wurde eine leichte Entzündung während der Thrombenresorption beobachtet. Nach 90

Tagen war das LAA-Ostium vollständig mit Endokard überdeckt. Im weiteren Verlauf wurde der organisierte Thrombus zu Bindegewebe umgewandelt mit Rückbildung der Entzündung. Diese Ergebnisse waren ähnlich in den obduzierten menschlichen Herzen. (Schwartz et al., 2010) Der LAA-Okkluder führte zur milden Erweiterung des LAA mit leichter lokalen Epikarditis ohne relevante Perikarditis. (Schwartz et al., 2010)

Zusammenfassend löst das Device nach der Implantation eine lokale granulomatöse Entzündungsreaktion aus und wird im Verlauf vom Endothel abgedeckt. Die Versiegelung bzw. die sogenannte Neo-Endothelialisation des implantierten Okkluders findet innerhalb der ersten 30-45 Tage nach der Implantation statt. (Kar et al., 2014; Schwartz et al., 2010) Allerdings ist die Neo-Endothelialisation nach LAA-Verschluss nicht immer vollständig. (Behnes et al., 2016) (Kar et al., 2014) In der Studie von Kar et al. wurde dieser Befund im Tiermodell häufiger infolge der Verwendung des Amplatzer-Okkluders beobachtet. (Kar et al., 2014) Die unvollständige Neo-Endothelialisation könnte ein Risikofaktor für eine häufigere Thrombosierung des LAA-Okkluders selbst darstellen. (Dukkipati et al., 2018; Kar et al., 2014)

4.2 Bioenergetische Einwirkung des Vorhofohr-Verschlusses

Bedeutung des Citratzyklus

Der Citratzyklus stellt einen zentralen Knotenpunkt des aeroben Stoffwechsels und der Energieerzeugung dar. Er läuft im Matrixraum der Mitochondrien ab und steht damit in engster Nachbarschaft zur oxidativen Phosphorylierung, deren Enzyme in der inneren Mitochondrienmembran angesiedelt sind. Dies ist von größter Bedeutung für die Regulation des Citratzyklus. (Löffler, 2008, pp. 157-165) Der Abbau der essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren ist eng mit dem Citratzyklus verknüpft. Der katabole Stoffwechsel der essentiellen Aminosäuren liefert die folgenden Endprodukte, die in den Citratzyklus eingeschleust werden: Acetyl-CoA, Pyruvat, Fumarat, Succinyl-CoA und α -Ketoglutarat. (Czibik et al., 2014)

Regulatoren des Citratzyklus

Der zelluläre Energiebedarf ist der wichtigste Regulator des Citratzyklus. Ein Anstieg der NADH-Konzentration weist darauf hin, dass die Atmungskette das gebildete NADH zu langsam reoxidiert. Dies signalisiert in der Regel einen allgemeinen Überschuss an energiereichen Verbindungen und führt zur Hemmung des

Citratzyklus. In gleicher Weise signalisiert das ATP ein hohes Angebot energiereicher Verbindungen. Daher werden Citratsynthase sowie die Enzyme Isocitratdehydrogenase und Pyruvatdehydrogenase durch ATP gehemmt. Im Gegensatz dazu wird der Citratzyklus durch ADP und Kalzium aktiviert. (Czibik et al., 2014)

Messung der Citratzyklusaktivität und des Energieverbrauchs

Eine übliche Methode zur Beurteilung des Stoffwechsels ist die Messung der Metabolitkonzentration im Zielorgan oder im Blut. Der Crossover-Satz von Chance und Williams besagt, dass wenn ein metabolischer Weg gehemmt wird, die Substratkonzentration zunimmt, während die Produktkonzentration abnimmt. Mit Hilfe dieses Satzes konnten die beiden Forscher die Schritte der Atmungskette identifizieren. (Chance et al., 1958) Obwohl diese Methode relativ einfach anzuwenden ist, bestehen allerdings viele Einschränkungen, wenn es um komplexe metabolische Systeme mit zahlreichen enzymatischen Interaktionen geht. (Heinrich and Rapoport, 1974) Die Verwendung der radioaktiven Tracer bietet eine attraktive Methode zur Messung des metabolischen Flusses mit hoher Empfindlichkeit. Das Prinzip dahinter besteht darin, dass ein Atom in einer chemischen Verbindung durch ein radioaktives Isotop ersetzt wird. Der radioaktive Zerfall setzt eine hohe Energiemenge frei. Somit kann sein Vorhandensein von empfindlichen Detektoren gemessen werden. Die Markierung der Energiesubstrate mit entweder ^3H oder ^{14}C ermöglicht damit die genaue Quantifizierung der Endprodukte im Herzen wie $^3\text{H}_2\text{O}$ und $^{14}\text{CO}_2$ als Maß für die Energieproduktionsraten. Eine Einschränkung dieser Methode besteht darin, dass nur zwei Stoffwechselwege gleichzeitig bewertet werden können, da jeweils nur ein Substrat mit ^3H und ^{14}C markiert werden kann. (Taegtmeyer et al., 2016) Beispiele der Radionuklid-Bildgebung stellen die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und die Singelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT) dar. Dieser Ansatz unterscheidet sich von der konventionalen NMR-Spektroskopie, in der das stabile Isotop ^{13}C zum Einsatz kommt. Mit der NMR-Spektroskopie können mehreren Substraten gleichzeitig gemessen werden. (Taegtmeyer et al., 2016)

Kardialer Metabolismus und Vorhofflimmern

Das Vorhofflimmern ruft einen strukturellen Umbauprozess des LAA im Sinne der Dilatation, endokardialer Fibrose und Ausdünnung des Myokardes hervor.

(Stollberger et al., 2003) Auf der metabolomischen und bioenergetischen Ebene steigert das Vorhofflimmern den myokardialen Stoffwechsel und Energieverbrauch. (Mayr et al., 2008) (Barth et al., 2005) Die Daten aus Tierstudien zeigten, dass der atriale Sauerstoffverbrauch und der Koronarfluss nach der Induktion von Vorhofflimmern fast um das Dreifache ansteigen. Infolgedessen nimmt die atriale koronare Flussreserve deutlich ab. (White et al., 1986) Darüber hinaus führt der hohe atriale Sauerstoff- und Energiebedarf in frühen Stadien des Vorhofflimmerns zum vorübergehenden Abfall des Phosphokreatin-Spiegels. (Ausma et al., 2000) Die Humanstudien zur Bestimmung von koronarvenösen Metaboliten zeigten eine erhöhte Laktatproduktion während des Vorhofflimmerns. (Smetnev et al., 1983) Andere Studien zeigten einen erhöhten oxidativen Stress und eine beeinträchtigte myokardiale Energetik. Diese Beeinträchtigung könnte zur atrialen Kontraktilitäts-Dysfunktion bei Vorhofflimmern beitragen. (Mihm et al., 2001) Wie bereits in der Einleitung ausgeführt wurde, stellen die Fettsäuren unter physiologischen Bedingungen (i.e. Sinusrhythmus) das Hauptenergiesubstrat dar. Zudem tragen andere Energiesubstrate, wie Glukose, Ketonkörper und Aminosäuren in verschiedenen Maßen zur Energieproduktion bei. Dagegen wird im Zuge von Vorhofflimmern der Energiebedarf kurzfristig durch eine gesteigerte Glykolyse abgedeckt. Wenn Vorhofflimmern länger anhält, stellen die Ketonkörper ein wichtiges Energiesubstrat dar. Die von Mayr et al. durchgeführte metabolomische Analyse von LAA-Gewebeproben wies einen Anstieg der Beta-Hydroxybutyrat-Spiegels und der ketogenen Aminosäuren auf, insbesondere von Tyrosin, das während des Katabolismus die Bildung von Acetoacetat und Fumarat nach sich zieht. Die Fumarat-Konzentration im LAA-Gewebe war ebenfalls beim persistierenden Vorhofflimmern deutlich erhöht. (Mayr et al., 2008)

Kardialer Metabolismus und Energetik nach dem LAA-Verschluss

In unserer Studie können die Ergebnisse anhand des Crossover-Satzes wie folgt interpretiert werden. Die steigenden Plasmakonzentrationen der Substrate des Acetyl-CoA (i.e. Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan) spiegeln die Tatsache wider, dass die Einschleusung von Acetyl-CoA in den Citratzyklus und folglich die Citratzyklus-Aktivität nach LAA-Verschluss gebremst würden (**Abbildung 13**). Obige ketogene Aminosäuren stellen laut der Studie von Mayer et al. eine wichtige Energiequelle bei Patienten mit langanhaltendem Vorhofflimmern dar. Der

abnehmende Verbrauch von ketogenen Aminosäuren könnte in diesem Zusammenhang auf den fallenden myokardialen Energiebedarf bzw. die Verschlechterung der Atmungsketten-Effizienz zurückgeführt werden.

4.3 Der Einfluss des Vorhofohr-Verschlusses auf essentiellen Aminosäuren

Zum besseren Verständnis werden die essentiellen Aminosäuren vereinfacht anhand von zwei Unterklassen diskutiert: die verzweigtkettigen und die aromatischen Aminosäuren.

4.3.1 Die verzweigtkettigen Aminosäuren

Die Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin werden zusammen als verzweigtkettige Aminosäuren (BCAA: engl. Branched chain aminoacides) bezeichnet. Sie zeigen gemeinsame strukturelle Merkmale in der Seitenkette und haben einen gemeinsamen katabolischen Weg. Neben ihrer Rolle als wichtige Bausteine für die Peptidsynthese, tragen die BCAA auch zur Biosynthese von Sterol, Ketonkörpern und der Glucose bei. (Huang et al., 2011) Die katabolischen Endprodukte der BCAA sind Acetyl-CoA und Succinyl-CoA, die in die Mitochondrien durch den Citratzyklus zur Herstellung von NADH/H⁺ für die Atmungskette eingeschleust werden. (Harris et al., 2004) Im Gegensatz zu anderen Aminosäuren, die in der Leber metabolisiert werden, findet der erste Schritt des BCAA-Abbaus im Gehirn, Herzen, Skelettmuskeln und vielen anderen extrahepatischen Gewebe statt. (Harris et al., 2004) Neben ihrer metabolischen Rolle weisen die BCAA – insbesondere Leucin – eine starke signalgebende Aktivität auf und fördern damit die Proteinbiosynthese, den zellulären Stoffwechsel und das Zellwachstum. (Newgard et al., 2009) Weiterhin zeigen die BCAA eine hochwirksame Aktivierung der m-TOR-Signalisierung (m-TOR = engl. mechanistic Target of Rapamycin). m-TOR ist ein Hauptregulator der Proteinsynthese, des Zellwachstums, Stoffwechsels, der mitochondrialen Biogenese und der Autophagie. (Sciarretta et al., 2018) Die Aktivierung des m-TOR steht in direktem Zusammenhang mit der Myokardhypertrophie. In Tierexperimenten wurde gezeigt, dass die m-TOR-Ablation vom Mäusenmyokard zu einer tödlichen dilatativen Kardiomyopathie führte. (Zhang et al., 2010) Weiterhin wird die Autophagie der Myokardzellen durch die BCAA-induzierte m-TOR-Aktivierung gehemmt. (Zhang et al., 2010) Allerdings bleibt es umstritten, ob die autophagische Aktivität schützend oder schädlich für das Herz ist. Die Autophagie wird bei Stresssituationen aktiviert,

um fortschreitende Myokardschäden zu minimieren. Sie reduziert die Schäden und erhält die Herzfunktion während der Ischämie und reduziert die chronische ischämische Remodellierung, die Mitochondriendysfunktion und den oxidativen Stress. Allerdings kann eine massive Aktivierung der Autophagie unter bestimmten Stressbedingungen, etwa bei einem infarktbedingten Reperfusionsschaden, für das Herz schädlich sein. (Sciarretta et al., 2018) Schließlich löst die mTOR-Aktivierung Stoffwechselveränderungen in Muskeln, Leber und anderen Geweben durch Veränderungen der Insulinempfindlichkeit aus. (Meijer and Dubbelhuis, 2004)

Die in unserer Studie nachgewiesene Veränderungen des BCAA-Spiegels waren insgesamt statistisch nicht signifikant. Allerdings beobachteten wir eine numerische Zunahme der erwähnten Aminosäuren. Die Subgruppenanalyse zeigte eine signifikante Assoziation zwischen der Valin-Konzentration und dem niedrigen BMI (<25). Diese Assoziation wurde bei adipösen Patienten in mehreren Studien nachgewiesen. (Chen et al., 2015; Huffman et al., 2009; Newgard et al., 2009) In diesen Studien wurde der Einsatz der BCAA als Marker der Insulinresistenz bei Adipositas vorgeschlagen. Der Einfluss der BCAA auf die Insulinresistenz kann durch die oben erwähnte mTOR-Aktivierung erklärt werden. Zudem führt die Akkumulation der BCAA-Abbauprodukte zur Mitochondrien-Dysfunktion, die häufig bei adipösen und diabetischen Patienten beobachtet wurde. (Chen et al., 2015) Allerdings zeigte unsere Subgruppenanalyse keine signifikante Veränderung der BCAA bei Diabetikern. Weiterhin zeigte sich in der Subgruppenanalyse mit erhöhten NT-proBNP-Spiegeln eine leicht signifikante Assoziation mit der Aminosäure Valin. Das NT-Pro-BNP ist ein etablierter Marker der Herzinsuffizienz und wird für die Diagnose und die Risikostratifikation in der Praxis eingesetzt. (Ponikowski et al., 2016) In der relativ kleinen Kohorte der PREDIMED-Studie war die erhöhte BCAA-Konzentration mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko verbunden. (Ruiz-Canela et al., 2016) Weiterhin wurde der gestörte Abbauprozess der BCAA als Folge der Herzinsuffizienz in Tiermodellen sowie beim Menschen nachgewiesen. (Sun and Wang, 2016) Sun et al. führten eine Transkriptomanalyse bei Mäusen mit Herzinsuffizienz und Volumenüberladung zur Überprüfung des BCAA-Metabolismus durch. Es zeigte sich eine signifikante Reduktion der Genexpression, die für den Abbau der BCAA zuständig sind. (Sun et al., 2016) Der erhöhte BCAA-Spiegel im Gewebe sollte in Verbindung mit der unterdrückten Genexpression als potenziell nützlicher metabolischer Biomarker für Kardiomyopathie dienen.

Die BCAA, wie oben beschrieben, tragen zur Myokardhypertrophie und Pathogenese der Herzinsuffizienz durch die m-TOR-Signalisierung bei. Es kann spekuliert werden, dass der LAA-Verschluss ein lokales Remodeling des LAA oder des gesamten Myokardes auslöst. Die aus dem LAA-Verschluss resultierende Ausdehnung des LAA ähnelt der Volumenüberladung bei der Herzinsuffizienz. Weitere kontrollierte Studien mit größerer Patientenzahl sind notwendig, um den Stellenwert der BCAA in diesem Zusammenhang zu prüfen.

4.3.2 Die Aromatischen Aminosäuren

Die aromatischen Aminosäuren (AAA) Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan werden im Gegensatz zu den BCAA strikt als Substrate der Proteinsynthese bzw. als Produkte der Proteolyse verwendet. Deshalb werden die AAA häufig als Marker des Proteinumsatzes genutzt. (Williams et al., 1981) Besonders geeignet für diesen Zweck sind die Aminosäuren Tyrosin, Phenylalanin und das Verhältnis zwischen den beiden. Die essentielle Aminosäure Phenylalanin wird im Körper ausschließlich durch die enterale Resorption des Nahrungsmittels gewonnen. Danach wird es entweder für die Proteinsynthese eingesetzt oder durch Hydroxylierung mittels Phenylalaninhydroxylase in die Aminosäure Tyrosin umgewandelt (**Abbildung 13**). Deshalb wurde das Phenylalanin häufig als Marker des Proteinabbaus eingesetzt, vor allem in den Geweben, in denen Phenylalanin nicht in Tyrosin hydroxyliert wird, wie z.B. in der Skelettmuskulatur. (Matthews, 2007) Das katabolische Endprodukt der AAA ist Acetyl-CoA, das schließlich in den Citratzyklus eingeschleust wird.

Mehrere Tierexperimente zeigten eine relevante Zunahme der Aminosäure Tyrosin unter hypoxischen Bedingungen als Hinweis auf eine zunehmende Proteolyse. (Peuhkurinen et al., 1983), (Taegtmeier et al., 1977)

In unserer Studie konnte ein relevanter Anstieg des plasmatischen AAA-Spiegels nach LAA-Verschluss nachgewiesen werden, was auf einen zunehmenden kardialen Proteinumsatz hindeuten kann. Die Veränderung des Proteinumsatzes kann auf mehrere Mechanismen zurückgeführt werden. Die oben erwähnten komplizierten Schritte der Neo-Endothelialisation erfordern einen hohen Proteinumsatz zur Aufrechterhaltung der interzellulären Interaktion und Synthese der extrazellulären Matrix. (Wainwright et al., 2001) Zusätzlich führt die lokale Myozytenausdehnung durch den LAA-Okkluder zum Anstieg der Proteinsynthese. Dieser Effekt konnte in zwei Tierexperimenten gezeigt werden. (Kalifa et al., 2008) (Bittl and Ingwall, 1986) In einer weiteren in-vitro-Studie führte die passive Ausdehnung des isolierten

Papillarmuskels des Kaninchenherzens zur Zunahme der intrazellulären Aminosäure-Konzentration als Hinweis auf die adaptive Veränderung des Myokardmetabolismus, die letztendlich die Myokardhypertrophie auslöst. (Lesch et al., 1970)

Die Aktivität der Phenylalaninhydroxylase kann durch die Berechnung des Tyrosin/Phenylalanin-Verhältnisses bestimmt werden. Der erste klinische Einsatz dafür war die Bestimmung der Phenylalaninhydroxylierung bei Patienten mit Hyperphenylalaninämie und Phenylketonurie. (Matthews, 2007) Defekte der Phenylalaninhydroxylase stellen die häufigste genetische Erkrankung des Aminosäurenstoffwechsels dar. Wegen des Funktionsverlustes der Phenylalaninhydroxylase wird Phenylalanin nicht mehr oder nur noch langsam in Tyrosin überführt und häuft sich deshalb in den Zellen und im Blut an. (Mitchell et al., 2011) Als diagnostischer Test für die Phenylketonurie wird klassischerweise die Bestimmung der Phenylalaninspiegel eingesetzt. Allerdings zeigte sich in der Studie von Eastman et al., dass der Einsatz der Tyrosin/Phenylalanin-Ratio als Screening-Test bei Neugeborenen höhere Sensitivität und Spezifität für die Diagnosestellung aufweist. (Eastman et al., 2000)

Verschiedene pathologische Zustände führen zum Anstieg des Phenylalaninspiegels, wie z.B. eine Infektion, ein Tumor, Trauma, die Sepsis und Verbrennungen. (Chiarla et al., 2004; Ploder et al., 2008) Die genannten klinischen Zustände sind mit Entzündung und Immunaktivierung verbunden. Der erhöhte Phenylalaninspiegel in diesem Zusammenhang ist auf eine verringerte Umwandlungsrate durch die Hemmung der Phenylalaninhydroxylase zurückzuführen. Daher spiegelt die Tyrosin/Phenylalanin-Ratio die Aktivität der Phenylalaninhydroxylase wider. (Ploder et al., 2008) Der genaue Mechanismus für die Hemmung der Phenylalaninhydroxylase durch die Entzündung bleibt weitgehend unklar. Die beeinträchtigte Phenylalaninhydroxylase-Aktivität könnte auf eine unzureichende Versorgung mit dem Kofaktor 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin (BH₄) zurückgeführt werden. Der Kofaktor dient als Wasserstoffspender im Rahmen der enzymatischen Hydroxylierungsreaktion (**Abbildung 14**). Der oxidative Stress führt vermutlich zur Ausschöpfung des BH₄ durch irreversible Reaktion mit Sauerstoff. (Connor et al., 1979) Der weitere Abbauprozess der Aminosäure Tyrosin läuft durch das Enzym Tyrosinhydroxylase in die Aminosäure Dihydroxyphenylalanin (DOPA) (**Abbildung 14**).

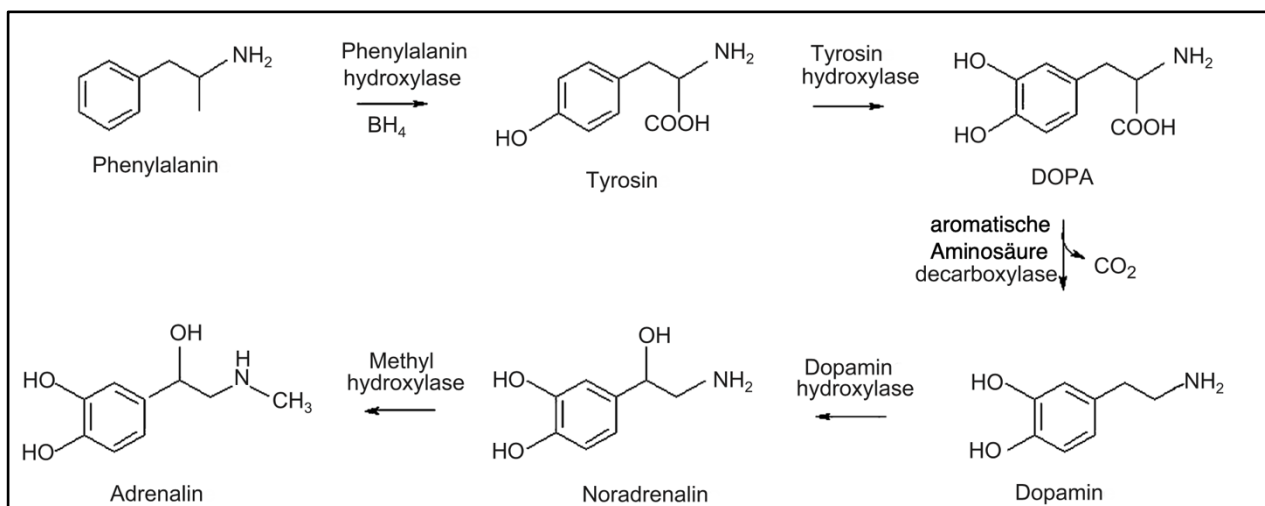


Abbildung 14: Die Tyrosinbiosynthese aus Phenylalanin durch Phenylalanin (5)-Hydroxylase. Das Tyrosin wird durch Tyrosinhydroxylase weiter in DOPA umgewandelt. Die beiden enzymatischen Schritte erfordern den Kofaktor 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin (BH₄). Bei beiden enzymatischen Reaktionen wird BH₄ zu Chinonoid-Dihydrobiopterin oxidiert und durch Dihydropteridin-Reduktase unter Verwendung von NADPH als Wasserstoffspender reduziert. Bei weiterer Umwandlung von DOPA entstehen die biogenen Amine: Adrenalin und Noradrenalin. (Ploder et al., 2008)

Das Enzym Tyrosinhydroxylase ist wiederum BH₄-abhängig. Diese Tatsache könnte erklären, warum der Tyrosinspiegel in anderen Studien ebenfalls durch die Entzündung erhöht war. (Ploder et al., 2008)

In unserer Studie zeigte sich ein relevanter Anstieg des Tyrosin-Spiegels um 20% und des Phenylalanin-Spiegels um 8%. Daraufhin stieg das Verhältnis Tyrosin/Phenylalanin um 4,25% an. Die steigende Tyrosin/Phenylalanin-Ratio spricht für zunehmende Aktivität der Phenylalaninhydroxylase und somit für abnehmende entzündliche Aktivität nach dem LAA-Verschluss.

Abgesehen von ihrer Rolle als Proteinbestandteile, stellen die AAA die Vorläufer von Signalmolekülen der Katecholamine Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin dar (**Abbildung 14**). Die Einwirkung von AAA auf die Katecholaminsynthese im Gehirn und der Netzhaut wurde ausführlich in der Literatur untersucht. (Fernstrom and Fernstrom, 2007) Die Synthese und Freisetzung dieser Transmitter werden direkt durch die Konzentrationen ihrer Aminosäurevorläufer Tryptophan, Phenylalanin und Tyrosin im Gehirn beeinflusst. Allerdings liegen keine ausreichenden Daten bezüglich der Einwirkung der AAA auf die periphere Katecholaminsynthese vor. Ein

Tierexperiment zeigte, dass die Gabe von Phenylalanin (der Vorläufer von Tyrosin) zum Anstieg des arteriellen Mitteldrucks bei Ratten führte. (Yourick and Tessel, 1989) Die Autoren führten diesen Effekt auf die gesteigerte periphere Katecholaminsynthese zurück.

In der Arbeit von Lakkireddy et al. führte der epikardiale LAA-Verschluss ebenfalls zu einer Unterregulierung des Adrenalins, Noradrenalins und des RAAS mit signifikanter Abnahme des systemischen Blutdrucks. Es wurden keine derartigen Effekte nach dem endokardialen LAA-Verschluss festgestellt. (Lakkireddy et al., 2018) Diese Studie schlug zum ersten Mal eine mögliche Interaktion zwischen ANP und Adrenalin vor. Das LAA ist vom autonomen Nervensystem dicht innerviert. Jedoch ist die Rolle des autonomen Nervensystems bei der Modulation von ANP nicht bekannt. Die Studie von Lakkireddy et al. legte nahe, dass der epikardiale LAA-Verschluss die Adrenalin-Produktion über einen negativen Rückkopplungsmechanismus hemmt. Das scheint nicht der Fall zu sein bei einem endokardialen LAA-Verschluss. In unserer Studie wurden die Katecholamine nicht direkt gemessen. Allerdings zeigte das Katecholamin-Substrat Tyrosin einen signifikanten Anstieg um 20%. Dieser Anstieg könnte theoretisch ein Hinweis auf die veränderte Katecholaminsynthese nach dem LAA-Verschluss mit möglichen bioenergetischen Konsequenzen sein.

Ferner zeigte die Subgruppenanalyse eine signifikante Assoziation zwischen dem männlichen Geschlecht und der plasmatischen Konzentrationen der Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin. Das Verhältnis Tyrosin/Phenylalanin war ebenfalls steigend bei den Patienten unter 77 Jahren. Diese Befunde sind vereinbar mit dem in der Literatur nachgewiesenen Einfluss des Lebensalters und Geschlechtes auf die AAA. (Pitkanen et al., 2003)

Zusammenfassend spricht das Ergebnis für einen größeren Einfluss des LAA-Verschlusses auf den Proteinumsatz, die Entzündungsaktivität, und die Katecholaminsynthese bei Männern und jüngeren Patienten. Jedoch ist dieses Ergebnis mit Vorsicht zu genießen, da in diesem Zusammenhang viele Störfaktoren nicht gemessen wurden, wie z.B. der Volumenstatus, die Dauer der Nahrungskarenz und der begleitende Stress aufgrund des Eingriffs. Weitere Studien sind erforderlich, um die neurohormonellen Veränderungen und die Entzündungsaktivität nach dem LAA-Verschluss durch die verschiedenen Interventionsverfahren aufzuklären.

4.3.3 Fischer-Ratio

Die Plasmakonzentrationen der Aminosäuren (sog. Aminogramm) zeigen unter verschiedenen pathologischen Bedingungen individuelle Muster. In der Literatur wurden hauptsächlich die BCAA (Valin, Leucin und Isoleucin), AAA (Phenylalanin und Tyrosin) und deren Ratio (BCAA/AAA, sog. Fischer-Ratio) untersucht. Der Stoffwechsel spezifischer Aminosäuren scheint organspezifisch zu sein. Die BCAA werden primär im Skelettmuskel (> 50%), im Gehirn und im Fettgewebe metabolisiert, während die Leber der primäre Stoffwechselort der AAA darstellt. (Hakuno et al., 2015) Demnach spiegelt die Fischer-Ratio die Leberkapazität für die Proteinsynthese aus freien Aminosäuren wider. Diese Parameter wurden für die Evaluation der Pathophysiologie verschiedener Erkrankungen, insbesondere der Leberfunktion eingesetzt. (Shiota et al., 1984) In der Literatur bestätigten zahlreiche Studien den Zusammenhang zwischen der Fischer-Ratio und der Leberzerrhose. (Dejong et al., 2007) Des Weiteren spielt das gestörte Gleichgewicht zwischen AAA und BCAA eine kausale Rolle bei der Pathophysiologie der hepatischen Enzephalopathie. Bei gestörter Leberfunktion häufen sich die AAA im Plasma mit gleichzeitigem Zerfall der BCAA im Skelettmuskel, was entsprechend einen Abfall der Fischer-Ratio hervorruft. Der Anstieg der AAA in Kombination mit einer erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke für Aminosäuren führt zu einer erhöhten Konzentration von AAA im Gehirn, die Störungen in der Synthese von Neurotransmittern hervorruft. Infolgedessen kann sich eine hepatische Enzephalopathie manifestieren. (Dejong et al., 2007) Diese pathologischen Veränderungen können durch die Korrektur der Fischer-Ratio mittels der Substitution von BCAA vermindert werden. (Soeters and Fischer, 1976)

Darüber hinaus zeigte die Arbeit von Yanagisawa et al., dass die Fischer-Ratio auch eine signifikante Bedeutung bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie hat. Die Fischer-Ratio korrelierte hier signifikant mit klinischen, biochemischen und hämodynamischen Markern der pulmonalen Hypertonie, so etwa dem NYHA-Stadium, BNP, Sechs-Minuten-Gehtest und dem pulmonalen Gefäßwiderstand. Diese Befunde legen nahe, dass die Fischer-Ratio den Schweregrad der pulmonalen Hypertonie widerspiegeln könnte. (Yanagisawa et al., 2015) Der Einfluss der pulmonalen Hypertonie auf das Aminogramm kann durch zahlreiche Pathomechanismen erklärt werden, wie eine chronische Entzündung, die

Volumenüberladung des Lungenkreislaufs und das abnehmende Herzzeitvolumen mit nachfolgendem Hyperkatabolismus der Skelettmuskulatur.

In einer Fall-Kontroll-Studie mit 71 Patienten konnte Hakuno et al. nachweisen, dass die Fischer-Ratio bei Patienten mit Herzinsuffizienz signifikant reduziert war. (Hakuno et al., 2015) Die Herzinsuffizienz stellt ein Syndrom mit hyperkatabolischem Zustand dar. Dabei werden der Abbau der BCAA im Herzen und im Skelettmuskel gefördert, und die Proteinsynthese in der Leber reduziert. (Hakuno et al., 2015) Zahlreiche Faktoren spielen bei dieser Pathophysiologie eine Rolle, wie z.B. die gestörte Organdurchblutung, der Blutrückstau in die Leber und die überschießende Ausschüttung von Zytokinen und katabolischen Hormonen. (Hakuno et al., 2015) Hiraiwa et al. konnte schließlich sogar zeigen, dass die Fischer-Ratio einen unabhängigen Prädiktor für ungünstige kardiale Ereignisse bei Patienten mit Herzinsuffizienz darstellt. (Hiraiwa et al., 2020) Patienten mit niedriger Fischer-Ratio ($< 2,9$) waren älter, wurden häufiger hospitalisiert und hatten insgesamt einen schlechteren Ernährungszustand.

In der vorliegenden Studienpopulation hatten die Patienten bereits beim Einschluss eine niedrige Fischer-Ratio (Median: 2,45, IQB 2,23-2,92). Nach dem Follow-up fiel die Ratio weiter um 6,75 % ab. Dieser Befund entspricht der Tatsache, dass die vorliegende Population insgesamt ein erhöhtes kardiovaskuläres Risikoprofil besitzt. Es könnte deshalb vermutet werden, dass der LAA-Verschluss eine Verschlechterung der Herzinsuffizienz hervorruft. Diese Hypothese müsste in weiteren Studien überprüft werden.

Der mittlere NT-proBNP-Wert, als Biomarker der Herzinsuffizienz, war ebenfalls erhöht (Mittelwert 975,3 ng/l). Darüber hinaus wurden 14% der Patienten während des Follow-up aufgrund einer dekompensierten Herzinsuffizienz erneut stationär aufgenommen. Damit ist der vorliegende Befund gut vereinbar mit der vorliegenden Literatur, denn die Fischer-Ratio ist ein wichtiger Marker bei der Herzinsuffizienz. In der Subgruppenanalyse zeigten sich relativ höhere Fischer-Ratio-Werte bei Patienten mit niedrigem NT-Pro-BNP-Spiegel. Allerdings zeigte sich im Verlauf keine signifikante Veränderung der Fischer-Ratio nach LAA-Verschluss ($P= 0,9$) in dieser Subgruppe.

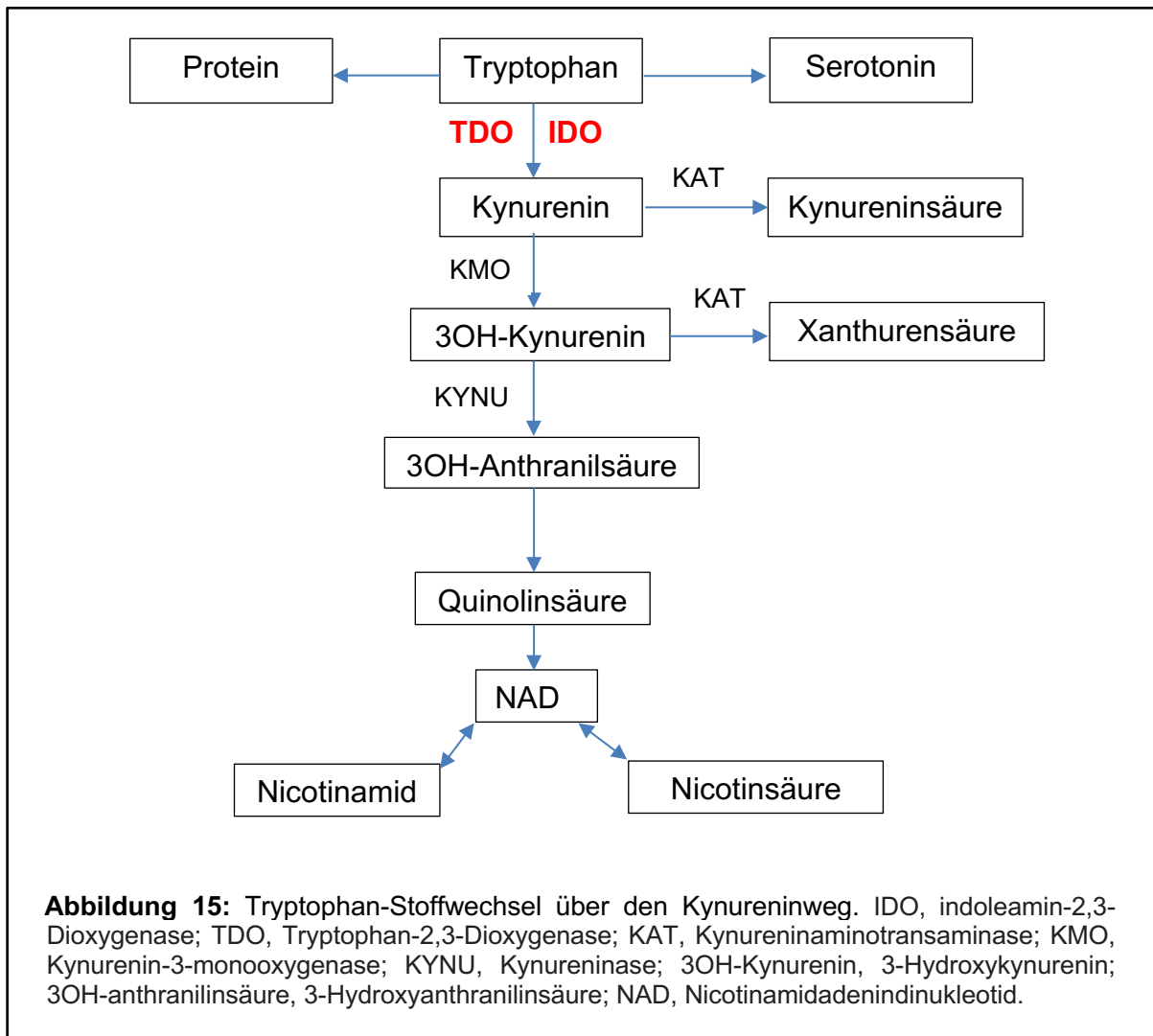
4.4 Klinische und bioenergetische Bedeutung von Tryptophan und Kynurenin

Im Menschen wird Tryptophan fast ausschließlich über den sog. Kynurenin-Weg abgebaut. Der Kynurenin-Weg hat zunehmend an Bedeutung gewonnen, weil er im

Zusammenhang mit Entzündungsreaktionen, dem Immunsystem im Allgemeinen und den neurologischen und kardiovaskulären Erkrankungen erforscht wurde. (Colabroy and Begley, 2005) Dank moderner molekularbiologischer Methoden, sowie der Entdeckung analoger Kynurenin-Wege in bestimmten Bakterienspezies konnten die einzelnen Enzyme des Kynurenin-Wegs auf molekularer Ebene untersucht werden (**Abbildung 15**). (Colabroy and Begley, 2005) Der erste und regulierende Schritt des Kynurenin-Wegs wird durch die Enzyme Tryptophan-2,3-Dioxygenase (TDO) und Indoleamin-2,3-Dioxygenase (IDO) gewährleistet. Kynurenin stellt das erste stabile und immunmodulierende Produkt dar. (Sulo et al., 2013) Durch eine Reihe von Hydroxylierungs- und Spaltungsreaktionen entsteht Acroleyl- β -aminofumarat. Der weitere Abbau verläuft über Glutaryl-CoA und Acetacetyl-CoA zum Acetyl-CoA. Davon zweigt ebenfalls der Biosyntheseweg der Nicotinsäure ab. (Löffler, 2008, p. 150) Nicotinat findet sich in allen lebenden Zellen und wird in der Leber gespeichert. Sie bildet einen wichtigen Baustein verschiedener Coenzyme (NAD, NADP) und ist in dieser Form von zentraler Bedeutung für den Stoffwechsel von Eiweißen, Fetten und Kohlenhydraten. In Form der Coenzyme NAD/NADP und ihrer reduzierten Formen $\text{NADH}+\text{H}^+/\text{NADPH}+\text{H}^+$ ist die Nicotinsäure als Wasserstoffüberträger beziehungsweise Reduktionsmittel z.B. am Citratzyklus und der Atmungskette beteiligt. (Wang et al., 2015) Hiermit sind diese Coenzyme essentiell für die permanent laufende ATP-Generation, um die optimale bioenergetische Effizienz aufrechtzuerhalten. (Shi et al., 2017)

Die IDO wird durch Zytokine aktiviert und zeigt einige entzündungshemmende Eigenschaften. Deshalb stellt die IDO eine Verbindung zwischen dem Immunsystem und dem Kynurenin-Weg dar. (Mandi and Vecsei, 2012) Zum Beispiel erhöht das Interferon- γ die IDO-Transkription in myeloischen Zellen (i.e. Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen), sowie in Fibroblasten, Endothelzellen, Epithelzellen, glatte Muskelzellen und viele Tumorzellen. Die durch Interferon- γ hochregulierte IDO-Aktivität fördert die Umwandlung des Tryptophans in Kynurenin, was zum Anstieg der Kynurenin/Tryptophan-Ratio führt. (Wang et al., 2015) Der Zusammenhang zwischen IDO-Aktivität und der KHK wurde in einigen multizentrischen prospektiven Studien gezeigt. In einer großen Kohortenstudie der Allgemeinbevölkerung (n = 921, Alter zwischen 46–76 Lebensjahren) korrelierte die IDO-Aktivität positiv mit der Atherosklerose und der Intima-Media-Dicke der

Karotiden in beiden Geschlechtern. Das Verhältnis zwischen Kynurenin/Tryptophan wurde als Indikator für die IDO-Aktivität benutzt.



Der Studienbefund deutet darauf hin, dass IDO ein empfindlicher Marker für Atherosklerose und die damit verbundene Entzündungsreaktion ist. (Niinisalo et al., 2008) Weiterhin konnte die „Hordaland health“-Studie zeigen, dass die höheren Werte der Kynurenin/Tryptophan-Ratio die akuten koronaren Ereignisse bei älteren Patienten mit KHK vorhersagen können. (Sulo et al., 2013)

Ein weiteres wichtiges Zwischenprodukt des Kynurenin-Wegs ist die Kynurensäure. Ein großer Teil der Kynurensäure wird vom Gefäßendothel produziert. Sie übt zytoprotektive, neuromodulatorische und entzündungshemmende Wirkungen aus. (Zapolski et al., 2020) Die veränderte Homöostase der Kynurensäure wurde in verschiedenen Pathologien beobachtet. Sie steigt z.B. bei Schlaganfall und

Schizophrenie und fällt dagegen bei der Alzheimer-Krankheit, multiplen Sklerose, Epilepsie und Depression ab. (Darlington et al., 2007; Hartai et al., 2007; Nilsson et al., 2005; Stone et al., 2003) Es wurde in anderen Studien die steigende Produktion der Kynurensäure bei Patienten mit bakteriellen und viralen Infektionen, sowie Autoimmunerkrankungen und Traumapatienten beobachtet. (Zeden et al., 2010) Der Anstieg korrelierte mit dem Schweregrad der Infektion. (Dabrowski et al., 2014) Weiterhin wurde der Anstieg des Kynurensäure-Spiegels im Rahmen von herzchirurgischen Operationen, sowie gefäßchirurgischen Operationen an der Arteria carotis mit postoperativer neurologischer Dysfunktion beobachtet. (Kotlinska-Hasiec et al., 2015; Terlecki et al., 2014) Dieser Anstieg könnte im Rahmen der Zytokin-Aktivierung erklärt werden, insbesondere des Interferon- γ , mit nachfolgendem Anstieg des Tryptophan-Abbaus durch dieIDO-Aktivierung.

In unserer Studie wurde die Kynurenin/Tryptophan-Ratio gemessen. Sie stellt einen wichtigen Indikator der allgemeinen Entzündungs-Reaktion des Körpers dar. In der vorliegenden Studie konnte ein relevanter Anstieg des Tryptophan-Spiegels um ca. 20% mit relevantem Abfall der Kynurenin/Tryptophan-Ratio um ca. 7% beobachtet werden. Unser Befund spricht damit für eine abnehmende entzündliche Aktivität innerhalb des Studienkollektivs nach erfolgreichem LAA-Verschluss. Dieser Effekt konnte ebenfalls in den Subgruppen mit reduzierter systolischen LV-Funktion und eingeschränkter Nierenfunktion nachgewiesen werden. Der Tryptophan-Spiegel in der Subgruppe mit hohen NT-pro-BNP-Spiegeln zeigte einen relevanten Anstieg. Anscheinend ist dieIDO-Aktivität nach dem LAA-Verschluss in dieser Subgruppe besonderes niedrig.

Die vorliegenden neuen Erkenntnisse deuten auf eine signifikante Rolle der Entzündungsantwort bei der Pathogenese des Vorhofflimmerns, sowie nach erfolgreichem LAA-Verschluss hin. Es wird vermutet, dass zahlreiche patho-inflammatorische Prozesse, wie der oxidative Stress, die Apoptose und die Fibrose, die Bildung von Vorhofflimmer-Substraten begünstigen. (Guo et al., 2012) Infolge dessen kommt es zur Endotheldysfunktion, Thrombozytenaktivierung und Aktivierung der Gerinnungskaskade. (Watson et al., 2009) Die beschriebenen Entzündungsreaktionen können also zum einen Vorhofflimmern mit verursachen, aber auch zu thromboembolischen Komplikationen führen. Man könnte vermuten, dass der LAA-Verschluss die laufende entzündliche Aktivität bei Vorhofflimmer-Patienten hemmen könnte. Diese mögliche inhibitorische Wirkung konnte allerdings

in der vorliegenden Studie anhand des gemessenen CRP-Wertes vor und nach dem LAA-Verschluss nicht nachgewiesen werden. Wahrscheinlich ist das CRP jedoch für diese Form einer latenten lokalen Inflammation im Bereich des LAA zu wenig sensitiv, während CRP vor allem systemische Entzündungsreaktionen besser abbilden kann.

Wie bereits erwähnt, stellen die Aminosäure Tryptophan und ihr Abbauprodukt Kynurenin wesentliche Bausteine für die Synthese des wasserlöslichen Vitamins Nicotinamid dar. Dieses Vitamin ist wiederum maßgeblicher Bestandteil des NAD/NADP, das als Co-Enzym durch die Übertragung Elektronen im Zuge des Energie-Transfers zwischen dem Citratzyklus und der Atmungskette eine entscheidende Rolle spielt. Es konnte in Tierexperimenten ein relevanter Einfluss des Kynurenin auf die Funktion der Mitochondrien nachgewiesen werden. Baran et al. prüften die Einwirkung der Metaboliten des Tryptophans: Kynurenin und Kynureninsäure, auf die bioenergetische Effizienz des isolierten Rattenherzens. (Baran et al., 2001) Das Rattenmyokard wurde isoliert und die Mitochondrien präpariert. Danach wurden Kynurenin und Kynureninsäure appliziert und der Sauerstoffverbrauch der Mitochondrien gemessen. Die Gabe von Kynureninsäure führte zur Verschlechterung der Mitochondrienfunktion und ATP-Synthese. Dagegen führte die Kynurenin-Gabe zu keiner Veränderung der Mitochondrienfunktion. (Baran et al., 2001) Das menschliche Herz kann Kynurenin in Kynureninsäure mit Hilfe des Enzyms Kynurenin-Aminotransferase umwandeln (**Abbildung 15**). Die genannte Studie zeigte zum ersten Mal, dass die pathologische Veränderung der Aktivität der Kynurenin-Aminotransferase die Mitochondrienfunktion und die globale Myokardzellfunktion signifikant beeinflussen könnte. (Baran et al., 2001)

In der vorliegenden Studie wurde ein relevanter Kynurenin-Anstieg um 8,3% nach erfolgreichem LAA-Verschluss beobachtet. Weiterhin zeigte Subgruppenanalysen bei Nicht-Diabetikern und Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz einen relevanten Kynurenin-Anstieg. Diese Veränderungen könnten die Akkumulation von Kynurenin infolge des verringerten Abbaus in Kynureninsäure widerspiegeln, und somit - der Studie von Baran et al. folgend - eine Verbesserung der bioenergetischen Effizienz anzeigen. Das Kynurenin wird überwiegend renal ausgeschieden. Deshalb führt die Beeinträchtigung der Nierenfunktion zur Retention von Kynurenin und seinen Metaboliten. (Pawlak et al., 2003) Allerdings zeigte sich in unserem Studienkollektiv

keine relevante Verschlechterung der Nierenfunktion nach dem LAA-Verschluss. Daher ist es unwahrscheinlich, dass der Kynurenin-Anstieg auf eine verringerte Ausscheidung zurückzuführen ist.

4.5 Klinische und bioenergetische Bedeutung von Kreatinin

Kreatinin ist das Abbauprodukt von Kreatin und Phosphokreatin. Das Kreatin wird entweder über die Nahrung (insbesondere Fleisch, Fisch und Milchprodukte) aufgenommen oder im menschlichen Körper vorwiegend in der Leber aus Guanidinoacetat hergestellt. Guanidinoacetat seinerseits wird aus den Aminosäuren Arginin und Glycin vorwiegend in Niere und Bauchspeicheldrüse synthetisiert. (Löffler, 2008, pp. 141-147) Obwohl für die Synthese von Kreatin die Aminosäuren Arginin und Glycin gebraucht werden, ist Kreatin selbst keine Aminosäure, sondern eine sogenannte Guanidinium-Verbindung. (Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000) Das so im Körper hergestellte Kreatin gelangt von der Leber ins Blut und von dort in die Zielorgane, z. B. Skelettmuskulatur, Herzmuskel, Gehirn, Nerven, Netzhaut des Auges.

Für die kurz andauernde Muskelaktivität steht der Muskelzelle neben dem intrazellulären ATP das Phosphokreatin zur Verfügung. (Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000) In der Ruhephase bzw. bei hoher ATP-Konzentration wird Kreatin durch Katalyse von mitochondrialen Kreatinkinasen unter ATP-Verbrauch zu Phosphokreatin phosphoryliert. Somit wirkt das Phosphokreatin als Energiespeicher. Wenn der ATP-Verbrauch die Kapazität der Atmungskette zur ATP-Erzeugung übersteigt, wird mit Hilfe von cytosolischen Kreatinkinasen das ADP unter Verbrauch von Phosphokreatin zu ATP phosphoryliert. (Wallimann et al., 1992) Das Phosphokreatin fungiert als Energiequelle und -transporter und transportiert die Energie von den Mitochondrien zu Orten des Energieverbrauchs, wo sich die zellulären ATPasen und ATP-abhängigen Ionenpumpen befinden. Der geschilderte Mechanismus erlaubt die kurzfristige Bereitstellung der Energie für den Kontraktionsvorgang, ohne dass hierfür eine Substratoxidation notwendig wäre. (Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000)

Sowohl Kreatin als auch Phosphokreatin werden spontan, in konstanter Rate und irreversibel durch die nicht-enzymatische Dehydratation in Kreatinin umgewandelt. (Brosnan et al., 2011) Es wird geschätzt, dass ungefähr 1,7% des gesamten Kreatin-Pools pro Tag in Kreatinin umgewandelt wird. Diese geschätzte Umwandlungsrate

des Kreatins und Phosphokreatins leitet sich aus Untersuchungen ihrer Stabilität unter definierten physiologischen Bedingungen ab. (Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000) Eine eindrucksvolle Bestätigung dieser Schätzung wurde von Kan et al. (2006) vorgestellt. Diese verabreichten den Probanden radioaktiv markiertes Kreatin (^{13}C -Kreatin) und verfolgten mittels Magnetresonanzspektroskopie die ^{13}C -Kreatin- und ^{13}C -Kreatinphospha-Signale im Skelettmuskel für 105 Tage. Der gemessene Kreatinumsatz lag bei 1,6% pro Tag. (Kan et al., 2006)

Die Serumkonzentration des Kreatinins, sowie die Kreatinin-Ausscheidung (sog. Kreatinin-Clearance) stellen einen wichtigen Marker der Nierenfunktion dar. Da die Kreatininbildung nur von der Muskelmasse abhängt, sind Erhöhungen des Kreatininspiegels im Blutplasma bei normaler Muskelmasse Ausdruck der Nierenfunktionsstörung. Der Kreatininspiegel liegt bei ca. 0,7 mg/100 ml (50 bis 120 $\mu\text{mol/l}$), hängt aber auch von Faktoren wie Muskelmasse, körperlicher Aktivität, Lebensalter, Geschlecht und Nierenfunktion ab.

Durch Bestimmung des Kreatinin-Clearance kann die GFR eingeschätzt werden. Die Berechnung der GFR durch die Bestimmung der Kreatinin-Clearance ist allerdings aufwendig, weil neben dem 24-h-Sammelurin auch eine venöse Blutprobe benötigt wird, um genaue Aussagen über die GFR machen zu können. Eine einfachere Abschätzung der GFR ist durch die alleinige Bestimmung der Plasmakreatinin-Konzentration gegeben. Dabei macht man sich eine nichtlineare Beziehung zwischen GFR und der Konzentration im Blutplasma zunutze. In die Formel von Donald W. Cockcroft und Henry Gault (i.e. Cockcroft-Gault-Formel) gehen des Weiteren noch das Geschlecht, Lebensalter und das Körpergewicht ein. (Cockcroft and Gault, 1976) Die in 1999 von der Modification of Diet in Renal Disease Study Group (MDRD) entwickelte MDRD-Formel verzichtet auf eine Einbeziehung des Körpergewichts. (Levey et al., 1999)

Die Nierenfunktionsstörung ist ein starker unabhängiger Prädiktor für kardiovaskulären Ereignisse, sowie die Gesamt-Mortalität in der Allgemeinbevölkerung. (Jose et al., 2006) In der Literatur wurde der geringe Anstieg des Kreatinins über einen bestimmten Zeitraum als unabhängiger Prognosemarker evaluiert. In der SAVE-Studie wurde häufig ein Kreatinin-Anstieg um $>0,3$ mg/dl innerhalb von zwei Wochen nach Myokardinfarkt beobachtet. Dieser Anstieg war signifikant mit der kardiovaskulären Mortalität assoziiert. (Jose et al., 2006) Dieses Ergebnis legt nahe, dass eine engmaschige Kontrolle der Nierenfunktion in den

ersten Wochen nach einem akuten Myokardinfarkt die langfristige kardiovaskuläre Risikostratifizierung unterstützen kann.

In der vorliegenden Studienpopulation lag der mediane BMI bei 28 (IQB 25–33), was einem beginnend übergewichtigen Patientenkollektiv entspricht. Somit waren die eingeschlossenen Patienten durch eine normale Muskelmasse gekennzeichnet. Die Nierenfunktion blieb während des Follow-up unverändert. Wir beobachteten keine signifikante Veränderung des Kreatininspiegels nach interventionellen LAA-Verschluss weder innerhalb der gesamten Studienkohorte noch in allen Subgruppen. Zusammenfassend konnten wir keinen Einfluss des LAA-Verschlusses auf den Metabolismus von Kreatin und Kreatinin nachweisen.

4.6 Studienlimitierungen

Die wesentliche Limitation der vorliegenden Studie besteht in der Tatsache, dass ihr ein nicht-randomisiertes, nicht-kontrolliertes und beobachtendes Studiendesign zugrunde liegt. Die Studie wurde ohne eine Kontrollgruppe, also Patienten ohne LAA-Verschluss, durchgeführt. Weiterhin können aufgrund des Studiendesigns keine eindeutigen Rückschlüsse in Bezug auf die mechanische, biochemische oder pathophysiologische Kausalität gezogen werden. Darüber hinaus wurden die Messungen im Plasma durchgeführt, obwohl die untersuchten Stoffwechselzyklen intrazellulär ablaufen, was nur bedingt Rückschlüsse auf die genauen intrazellulären Mechanismen zulässt, die infolge des LAA-Verschlusses stattfinden. Daher wären weitere Studien mit selektiven Probenentnahmen (z.B. Blutentnahmen aus dem Sinus coronarius, linken Vorhof oder Gewebeproben) sinnvoll.

Eine weitere Limitation liegt an der kleineren Studienpopulation. In metabolischen Studien spielen Störfaktoren, wie zum Beispiel diätische Maßnahmen, sowie andere individuelle metabolische Variationen und Umweltfaktoren eine wichtige Rolle. Daher wird optimaler Weise eine große Studienpopulation mit längerer Follow-up-Zeit herangezogen, um aussagekräftigere Ergebnisse zu erzielen. Eine Überinterpretation der Ergebnisse, vor allem in den Subgruppe-Analysen, sollte aufgrund der geringen Stichprobengröße dieser Studie vermieden werden.

Weiterhin wurden in unserer Analyse die unterschiedlichen Verschlussysteme (i.e. Watchman und Amplatzer) miteinander nicht verglichen. Das Amplatzer-System unterscheidet sich vom Watchman-System deutlich in der erforderlichen lokalen Kompression, die ausgeübt wird, um das Verschlussystem im LAA zu fixieren. Ob

die jeweiligen Device-Typen unterschiedlichen Einfluss auf die Veränderungen des Metabolom und die bioenergetische Effizienz nehmen, sollte in weiterführenden Studien untersucht werden. Weiterhin wurden in der Studie kein epikardialer LAA-Verschluss durchgeführt. In der vorliegenden Literatur wurden größere hämodynamischen und neuroendokrinen Effekte nach dem epikardialen LAA-Verschluss im Vergleich zum endokardialen LAA-Verschluss gezeigt. (Lakkireddy et al., 2018) Deshalb würde das Vergleich des Metaboloms nach den beiden Verfahren wertvolle Informationen liefern.

4.7 Schlussfolgerung

Die vorliegenden Ausführungen unserer Studie zeigen, dass der interventionelle LAA-Verschluss das menschliche Metabolom beeinflussen kann. Die Metabolom-Analyse erlaubt sowohl das weiterführende Verständnis der vorliegenden Pathomechanismen interventionellen Therapien am Herzen, als auch die Entdeckung innovativer Biomarker, etwa des oxidativen Stresses, Entzündung, Herzinsuffizienz und der bioenergetischen Effizienz. Zusammenfassend unterstützt die vorliegende Studie die Hypothese, dass insbesondere bestimmte essentielle Aminosäuren und Kynurenin als klinische Biomarker dienen könnten, die pathophysiologischen Veränderungen innerhalb eines halben Jahres nach erfolgreichem LAA-Verschluss abzubilden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Dissertation konnte gezeigt werden, dass der interventionelle Vorhofohrverschluss das menschliche Metabolom beeinflussen kann. Zu diesem Zweck wurde ein Kollektiv von 44 Patienten mit Vorhofflimmern eingeschlossen, die die Indikation zum LAA-Verschluss nach Leitlinienempfehlung erfüllten. Anhand der Metabolom-Analyse konnten wir nachweisen, dass sowohl bestimmte essentielle Aminosäuren und das Kynurenin nach dieser Intervention verändert waren. Die Interpretation dieser Ergebnisse ist jedoch aufgrund der Komplexität des menschlichen Metaboloms, sowie der zahlreichen möglichen Störfaktoren erschwert und von hypothesengenerierendem Charakter. Die zunehmende Konzentration von den aromatischen Aminosäuren könnte jedoch darauf hindeuten, dass der kardiale Proteinumsatz etwa im Rahmen des Neo-Endothelialisations-Prozesses zunahm. In Bezug auf die Entzündungsaktivität nach erfolgreichem LAA-Verschluss konnten mehrere Beobachtungen gemacht werden. Das steigende Tyrosin/Phenylalanin-Verhältnis spricht für eine abnehmende entzündliche Aktivität. Zudem deutet die abnehmende Kynurenin/Tryptophan-Ratio ebenfalls auf eine abnehmende entzündliche Aktivität hin. Das Ergebnis weist auf Reduktion der gesamten entzündlichen Aktivität innerhalb von 6 Monaten nach dem LAA-Verschluss. Deshalb werden weitere Studien benötigt, um den Effekt des LAA-Verschlusses auf die Entzündung zu prüfen, eventuell mit Hinzunahme von weiteren Markern der Entzündung, wie z.B. Interferon- γ . In anderem Zusammenhang zeigte das Katecholamin-Substrat Tyrosin einen signifikanten Anstieg um 20%. Dieser Anstieg könnte ein Hinweis auf die veränderte Katecholaminsynthese nach dem LAA-Verschluss mit möglichen bioenergetischen Konsequenzen sein.

Weiterhin bestätigte unsere Studie die Bedeutung der Fischer-Ratio als Marker der Herzinsuffizienz. Die abnehmende Fischer-Ratio nach LAA-Verschluss zeigt eine mögliche Verschlechterung der Herzinsuffizienz. Der abnehmende Verbrauch von ketogenen Aminosäuren, die gleichzeitig Substrate für Acetyl-CoA darstellen, spiegelt insgesamt eine abnehmende Aktivität des Citratzyklus wider, und somit eine Verschlechterung der myokardialen Bioenergetik. Dagegen spiegelt der steigende plasmatische Kynurenin-Spiegel nach LAA-Verschluss durch die Hemmung der Kynurenin-Aminotransferase einen eher günstigen Einfluss auf die myokardiale Bioenergetik.

Die univariable Subgruppen-Analyse zeigte signifikante Veränderung der Metaboliten in den folgenden Subgruppen und Metaboliten: Geschlecht (Tyrosin, Phenylalanin), BMI (Valin), Lebensalter (Tyrosin, Phenylalanin), Diabetes (Kynurenin und Fischer-Ratio), LV-Dysfunktion (Kynurenin/Tryptophan-Ratio), chronische Niereninsuffizienz (Kynurenin, Kynurenin/Tryptophan-Ratio), NT-Pro-BNP (Tryptophan, Valin). Schließlich zeigte die durchgeführte multivariate Regressionsanalyse keinen Störeinfluss von vordefinierten Subgruppen auf die signifikant veränderten Aminosäuren, das Kynurenin, die Fischer-Ratio und die Tyrosin/Phenylalanin-Ratio. Schlussfolgernd könnte der LAA-Verschluss den Metabolismus von Kynurenin, Tryptophan, Phenylalanin, Tyrosin und die Fischer-Ratio beeinflussen. Dieses Ergebnis könnte der Ausgangspunkt für zukünftige Studien sein, um mögliche innovative Biomarker für die Überwachung von Patienten mit Vorhofflimmern oder Herzinsuffizienz nach kardialen Interventionen zu untersuchen.

6 LITERATURVERZEICHNIS

Al-Saady, N.M., Obel, O.A., and Camm, A.J. (1999). Left atrial appendage: structure, function, and role in thromboembolism. *Heart* 82, 547-554.

Ausma, J., Coumans, W.A., Duimel, H., Van der Vusse, G.J., Allessie, M.A., and Borgers, M. (2000). Atrial high energy phosphate content and mitochondrial enzyme activity during chronic atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 47, 788-796.

Avezum, A., Lopes, R.D., Schulte, P.J., Lanus, F., Gersh, B.J., Hanna, M., Pais, P., Erol, C., Diaz, R., Bahit, M.C., *et al.* (2015). Apixaban in Comparison With Warfarin in Patients With Atrial Fibrillation and Valvular Heart Disease: Findings From the Apixaban for Reduction in Stroke and Other Thromboembolic Events in Atrial Fibrillation (ARISTOTLE) Trial. *Circulation* 132, 624-632.

Ballermann, B.J., and Brenner, B.M. (1987). Atrial natriuretic peptide and the kidney. *Am J Kidney Dis* 10, 7-12.

Bansal, M., and Kasliwal, R.R. (2012). Echocardiography for left atrial appendage structure and function. *Indian Heart J* 64, 469-475.

Bansilal, S., Bloomgarden, Z., Halperin, J.L., Hellkamp, A.S., Lokhnygina, Y., Patel, M.R., Becker, R.C., Breithardt, G., Hacke, W., Hankey, G.J., *et al.* (2015). Efficacy and safety of rivaroxaban in patients with diabetes and nonvalvular atrial fibrillation: the Rivaroxaban Once-daily, Oral, Direct Factor Xa Inhibition Compared with Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation (ROCKET AF Trial). *Am Heart J* 170, 675-682 e678.

Baran, H., Staniek, K., Kepplinger, B., Gille, L., Stolze, K., and Nohl, H. (2001). Kynurenic acid influences the respiratory parameters of rat heart mitochondria. *Pharmacology* 62, 119-123.

Bartel, J., Krumsiek, J., and Theis, F.J. (2013). Statistical methods for the analysis of high-throughput metabolomics data. *Comput Struct Biotechnol J* 4, e201301009.

Barth, A.S., Merk, S., Arnoldi, E., Zwermann, L., Kloos, P., Gebauer, M., Steinmeyer, K., Bleich, M., Kaab, S., Hinterseer, M., *et al.* (2005). Reprogramming of the human atrial transcriptome in permanent atrial fibrillation: expression of a ventricular-like genomic signature. *Circ Res* 96, 1022-1029.

Behnes, M., Akin, I., Sartorius, B., Fastner, C., El-Battrawy, I., Borggrefe, M., Haubenreisser, H., Meyer, M., Schoenberg, S.O., and Henzler, T. (2016). --LAA Occluder View for post-implantation Evaluation (LOVE)--standardized imaging proposal evaluating implanted left atrial appendage occlusion devices by cardiac computed tomography. *BMC Med Imaging* 16, 25.

Behnes, M., Sartorius, B., Wenke, A., Lang, S., Hoffmann, U., Fastner, C., Borggrefe, M., Roth, T., Triebel, J., Bertsch, T., *et al.* (2017). Percutaneous Closure of Left Atrial Appendage affects Mid-Term Release of MR-proANP. *Sci Rep* 7, 9028.

Brosnan, J.T., da Silva, R.P., and Brosnan, M.E. (2011). The metabolic burden of creatine synthesis. *Amino Acids* 40, 1325-1331.

Camm, A.J., Kirchhof, P., Lip, G.Y., Schotten, U., Savelieva, I., Ernst, S., Van Gelder, I.C., Al-Attar, N., Hindricks, G., Prendergast, B., *et al.* (2010). Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Europace* 12, 1360-1420.

Chance, B., Holmes, W., Higgins, J., and Connelly, C.M. (1958). Localization of interaction sites in multi-component transfer systems: theorems derived from analogues. *Nature* 182, 1190-1193.

Chen, H.H., Tseng, Y.J., Wang, S.Y., Tsai, Y.S., Chang, C.S., Kuo, T.C., Yao, W.J., Shieh, C.C., Wu, C.H., and Kuo, P.H. (2015). The metabolome profiling and pathway analysis in metabolic healthy and abnormal obesity. *Int J Obes (Lond)* 39, 1241-1248.

Chiarla, C., Giovannini, I., and Siegel, J.H. (2004). The relationship between plasma cholesterol, amino acids and acute phase proteins in sepsis. *Amino Acids* 27, 97-100.

Cockcroft, D.W., and Gault, M.H. (1976). Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 16, 31-41.

Coisne, A., Pilato, R., Brigadeau, F., Klug, D., Marquie, C., Souissi, Z., Richardson, M., Mouton, S., Polge, A.S., Lancellotti, P., *et al.* (2017). Percutaneous left atrial appendage closure improves left atrial mechanical function through Frank-Starling mechanism. *Heart Rhythm* 14, 710-716.

Colabroy, K.L., and Begley, T.P. (2005). Tryptophan catabolism: identification and characterization of a new degradative pathway. *J Bacteriol* 187, 7866-7869.

Connor, M.J., Pheasant, A.E., and Blair, J.A. (1979). The identification of p-acetamidobenzoate as a folate degradation product in rat urine. *Biochem J* 178, 795-797.

Czibik, G., Steeples, V., Yavari, A., and Ashrafian, H. (2014). Citric acid cycle intermediates in cardioprotection. *Circ Cardiovasc Genet* 7, 711-719.

Dabrowski, W., Kocki, T., Pilat, J., Parada-Turska, J., and Malbrain, M.L. (2014). Changes in plasma kynurenic acid concentration in septic shock patients undergoing continuous veno-venous haemofiltration. *Inflammation* 37, 223-234.

Darlington, L.G., Mackay, G.M., Forrest, C.M., Stoy, N., George, C., and Stone, T.W. (2007). Altered kynurenine metabolism correlates with infarct volume in stroke. *Eur J Neurosci* 26, 2211-2221.

Dejong, C.H., van de Poll, M.C., Soeters, P.B., Jalan, R., and Olde Damink, S.W. (2007). Aromatic amino acid metabolism during liver failure. *J Nutr* 137, 1579S-1585S; discussion 1597S-1598S.

Di Biase, L., Santangeli, P., Anselmino, M., Mohanty, P., Salvetti, I., Gili, S., Horton, R., Sanchez, J.E., Bai, R., Mohanty, S., *et al.* (2012). Does the left atrial appendage

morphology correlate with the risk of stroke in patients with atrial fibrillation? Results from a multicenter study. *J Am Coll Cardiol* 60, 531-538.

Drake, K.J., Sidorov, V.Y., McGuinness, O.P., Wasserman, D.H., and Wikswo, J.P. (2012). Amino acids as metabolic substrates during cardiac ischemia. *Exp Biol Med (Maywood)* 237, 1369-1378.

Dukkipati, S.R., Kar, S., Holmes, D.R., Doshi, S.K., Swarup, V., Gibson, D.N., Maini, B., Gordon, N.T., Main, M.L., and Reddy, V.Y. (2018). Device-Related Thrombus After Left Atrial Appendage Closure: Incidence, Predictors, and Outcomes. *Circulation* 138, 874-885.

Eastman, J.W., Sherwin, J.E., Wong, R., Liao, C.L., Currier, R.J., Lorey, F., and Cunningham, G. (2000). Use of the phenylalanine:tyrosine ratio to test newborns for phenylketonuria in a large public health screening programme. *J Med Screen* 7, 131-135.

Ernst, G., Stollberger, C., Abzieher, F., Veit-Dirscherl, W., Bonner, E., Bibus, B., Schneider, B., and Slany, J. (1995). Morphology of the left atrial appendage. *Anat Rec* 242, 553-561.

Ezekowitz, M.D., Nagarakanti, R., Noack, H., Brueckmann, M., Litherland, C., Jacobs, M., Clemens, A., Reilly, P.A., Connolly, S.J., Yusuf, S., *et al.* (2016). Comparison of Dabigatran and Warfarin in Patients With Atrial Fibrillation and Valvular Heart Disease: The RE-LY Trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulant Therapy). *Circulation* 134, 589-598.

Fastner, C., Behnes, M., Sartorius, B., Wenke, A., Lang, S., Yucel, G., Sattler, K., Rusnak, J., Saleh, A., Barth, C., *et al.* (2018). Interventional Left Atrial Appendage Closure Affects the Metabolism of Acylcarnitines. *Int J Mol Sci* 19.

Fernstrom, J.D., and Fernstrom, M.H. (2007). Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain. *J Nutr* 137, 1539S-1547S; discussion 1548S.

Friberg, L., Rosenqvist, M., and Lip, G.Y. (2012). Evaluation of risk stratification schemes for ischaemic stroke and bleeding in 182 678 patients with atrial fibrillation: the Swedish Atrial Fibrillation cohort study. *Eur Heart J* 33, 1500-1510.

Gage, B.F., Waterman, A.D., Shannon, W., Boechler, M., Rich, M.W., and Radford, M.J. (2001). Validation of clinical classification schemes for predicting stroke: results from the National Registry of Atrial Fibrillation. *JAMA* 285, 2864-2870.

Giugliano, R.P., Ruff, C.T., Braunwald, E., Murphy, S.A., Wiviott, S.D., Halperin, J.L., Waldo, A.L., Ezekowitz, M.D., Weitz, J.I., Spinar, J., *et al.* (2013). Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 369, 2093-2104.

Guerios, E.E., Schmid, M., Gloekler, S., Khattab, A.A., Wenaweser, P.M., Windecker, S., and Meier, B. (2012). Left atrial appendage closure with the Amplatzer cardiac plug in patients with atrial fibrillation. *Arq Bras Cardiol* 98, 528-536.

Guo, Y., Lip, G.Y., and Apostolakis, S. (2012). Inflammation in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 60, 2263-2270.

- Haanwinckel, M.A., Elias, L.K., Favaretto, A.L., Gutkowska, J., McCann, S.M., and Antunes-Rodrigues, J. (1995). Oxytocin mediates atrial natriuretic peptide release and natriuresis after volume expansion in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 7902-7906.
- Hakuno, D., Hamba, Y., Toya, T., and Adachi, T. (2015). Plasma amino acid profiling identifies specific amino acid associations with cardiovascular function in patients with systolic heart failure. *PLoS One* 10, e0117325.
- Harris, R.A., Joshi, M., and Jeoung, N.H. (2004). Mechanisms responsible for regulation of branched-chain amino acid catabolism. *Biochem Biophys Res Commun* 313, 391-396.
- Hart, R.G., Pearce, L.A., and Aguilar, M.I. (2007). Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med* 146, 857-867.
- Hartai, Z., Juhasz, A., Rimanoczy, A., Janaky, T., Donko, T., Dux, L., Penke, B., Toth, G.K., Janka, Z., and Kalman, J. (2007). Decreased serum and red blood cell kynurenic acid levels in Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 50, 308-313.
- Heinrich, P.e.a. (2014). *Biochemie und Pathobiochemie*.
- Heinrich, R., and Rapoport, T.A. (1974). A linear steady-state treatment of enzymatic chains. Critique of the crossover theorem and a general procedure to identify interaction sites with an effector. *Eur J Biochem* 42, 97-105.
- Hiraiwa, H., Okumura, T., Kondo, T., Kato, T., Kazama, S., Ishihara, T., Iwata, E., Shimojo, M., Kondo, S., Aoki, S., *et al.* (2020). Usefulness of the plasma branched-chain amino acid/Aromatic amino acid ratio for predicting future cardiac events in patients with heart failure. *J Cardiol* 75, 689-696.
- Ho, S.Y., Cabrera, J.A., and Sanchez-Quintana, D. (2012). Left atrial anatomy revisited. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 5, 220-228.
- Holmes, D.R., Jr., Kar, S., Price, M.J., Whisenant, B., Sievert, H., Doshi, S.K., Huber, K., and Reddy, V.Y. (2014). Prospective randomized evaluation of the Watchman Left Atrial Appendage Closure device in patients with atrial fibrillation versus long-term warfarin therapy: the PREVAIL trial. *J Am Coll Cardiol* 64, 1-12.
- Holmes, D.R., Reddy, V.Y., Turi, Z.G., Doshi, S.K., Sievert, H., Buchbinder, M., Mullin, C.M., Sick, P., and Investigators, P.A. (2009). Percutaneous closure of the left atrial appendage versus warfarin therapy for prevention of stroke in patients with atrial fibrillation: a randomised non-inferiority trial. *Lancet* 374, 534-542.
- Hopkins, W.E., Chen, Z., Fukagawa, N.K., Hall, C., Knot, H.J., and LeWinter, M.M. (2004). Increased atrial and brain natriuretic peptides in adults with cyanotic congenital heart disease: enhanced understanding of the relationship between hypoxia and natriuretic peptide secretion. *Circulation* 109, 2872-2877.
- Horning, E.C., and Horning, M.G. (1971). Metabolic profiles: gas-phase methods for analysis of metabolites. *Clin Chem* 17, 802-809.

Huffman, K.M., Shah, S.H., Stevens, R.D., Bain, J.R., Muehlbauer, M., Slentz, C.A., Tanner, C.J., Kuchibhatla, M., Houmard, J.A., Newgard, C.B., *et al.* (2009). Relationships between circulating metabolic intermediates and insulin action in overweight to obese, inactive men and women. *Diabetes Care* 32, 1678-1683.

Igarashi, Y., Kashimura, K., Makiyama, Y., Sato, T., Ojima, K., and Aizawa, Y. (2001). Left atrial appendage dysfunction in chronic nonvalvular atrial fibrillation is significantly associated with an elevated level of brain natriuretic peptide and a prothrombotic state. *Jpn Circ J* 65, 788-792.

Jorgensen, H.S., Nakayama, H., Reith, J., Raaschou, H.O., and Olsen, T.S. (1996). Acute stroke with atrial fibrillation. The Copenhagen Stroke Study. *Stroke* 27, 1765-1769.

Jose, P., Skali, H., Anavekar, N., Tomson, C., Krumholz, H.M., Rouleau, J.L., Moya, L., Pfeffer, M.A., and Solomon, S.D. (2006). Increase in creatinine and cardiovascular risk in patients with systolic dysfunction after myocardial infarction. *J Am Soc Nephrol* 17, 2886-2891.

Jue, J., Winslow, T., Fazio, G., Redberg, R.F., Foster, E., and Schiller, N.B. (1993). Pulsed Doppler characterization of left atrial appendage flow. *J Am Soc Echocardiogr* 6, 237-244.

Kalifa, J., Maixent, J.M., Chalvidan, T., Dalmaso, C., Colin, D., Cozma, D., Laurent, P., Deharo, J.C., Djiane, P., Cozzone, P., *et al.* (2008). Energetic metabolism during acute stretch-related atrial fibrillation. *Mol Cell Biochem* 317, 69-75.

Kan, H.E., van der Graaf, M., Klomp, D.W., Vlak, M.H., Padberg, G.W., and Heerschap, A. (2006). Intake of ¹³C-4 creatine enables simultaneous assessment of creatine and phosphocreatine pools in human skeletal muscle by ¹³C MR spectroscopy. *Magn Reson Med* 56, 953-957.

Kanderian, A.S., Gillinov, A.M., Pettersson, G.B., Blackstone, E., and Klein, A.L. (2008). Success of surgical left atrial appendage closure: assessment by transesophageal echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 52, 924-929.

Kar, S., Hou, D., Jones, R., Werner, D., Swanson, L., Tischler, B., Stein, K., Huibregtse, B., Ladich, E., Kutys, R., *et al.* (2014). Impact of Watchman and Amplatzer devices on left atrial appendage adjacent structures and healing response in a canine model. *JACC Cardiovasc Interv* 7, 801-809.

Kebarle, P. (2000). A brief overview of the present status of the mechanisms involved in electrospray mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 35, 804-817.

Kirchhof, P., Benussi, S., Kotecha, D., Ahlsson, A., Atar, D., Casadei, B., Castella, M., Diener, H.C., Heidbuchel, H., Hendriks, J., *et al.* (2017). 2016 ESC Guidelines for the Management of Atrial Fibrillation Developed in Collaboration With EACTS. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 70, 50.

Kotlinska-Hasiec, E., Nowicka-Stazka, P., Parada-Turska, J., Stazka, K., Stazka, J., Zadora, P., and Dabrowski, W. (2015). Plasma kynurenic acid concentration in patients undergoing cardiac surgery: effect of anaesthesia. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 63, 129-137.

- Lakkireddy, D., Turagam, M., Afzal, M.R., Rajasingh, J., Atkins, D., Dawn, B., Di Biase, L., Bartus, K., Kar, S., Natale, A., *et al.* (2018). Left Atrial Appendage Closure and Systemic Homeostasis: The LAA HOMEOSTASIS Study. *J Am Coll Cardiol* 71, 135-144.
- Levey, A.S., Bosch, J.P., Lewis, J.B., Greene, T., Rogers, N., and Roth, D. (1999). A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 130, 461-470.
- Lewis, G.D., Asnani, A., and Gerszten, R.E. (2008). Application of metabolomics to cardiovascular biomarker and pathway discovery. *J Am Coll Cardiol* 52, 117-123.
- Lip, G.Y., Lowe, G.D., Rumley, A., and Dunn, F.G. (1995). Increased markers of thrombogenesis in chronic atrial fibrillation: effects of warfarin treatment. *Br Heart J* 73, 527-533.
- Löffler, G. (2008). *Basiswissen Biochemie* (Heidelberg: Springer).
- Luchner, A., Stevens, T.L., Borgeson, D.D., Redfield, M., Wei, C.M., Porter, J.G., and Burnett, J.C., Jr. (1998). Differential atrial and ventricular expression of myocardial BNP during evolution of heart failure. *Am J Physiol* 274, H1684-1689.
- Mandi, Y., and Vecsei, L. (2012). The kynurenine system and immunoregulation. *J Neural Transm (Vienna)* 119, 197-209.
- Masawa, N., Yoshida, Y., Yamada, T., Joshita, T., and Ooneda, G. (1993). Diagnosis of cardiac thrombosis in patients with atrial fibrillation in the absence of macroscopically visible thrombi. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 422, 67-71.
- Matthews, D.E. (2007). An overview of phenylalanine and tyrosine kinetics in humans. *J Nutr* 137, 1549S-1555S; discussion 1573S-1575S.
- Mayr, M., Yusuf, S., Weir, G., Chung, Y.L., Mayr, U., Yin, X., Ladroue, C., Madhu, B., Roberts, N., De Souza, A., *et al.* (2008). Combined metabolomic and proteomic analysis of human atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 51, 585-594.
- Mevik, R.W.a.B.-H. (2007). *pls: Partial Least Squares Regression (PLSR) and principal Component Regression*. R package version 21-0.
- Mihm, M.J., Yu, F., Carnes, C.A., Reiser, P.J., McCarthy, P.M., Van Wagoner, D.R., and Bauer, J.A. (2001). Impaired myofibrillar energetics and oxidative injury during human atrial fibrillation. *Circulation* 104, 174-180.
- Mitchell, J.J., Trakadis, Y.J., and Scriver, C.R. (2011). Phenylalanine hydroxylase deficiency. *Genet Med* 13, 697-707.
- Mobius-Winkler, S., Sandri, M., Mangner, N., Lurz, P., Dahnert, I., and Schuler, G. (2012). The WATCHMAN left atrial appendage closure device for atrial fibrillation. *J Vis Exp*.

- Nemutlu, E., Zhang, S., Xu, Y.Z., Terzic, A., Zhong, L., Dzeja, P.D., and Cha, Y.M. (2015). Cardiac resynchronization therapy induces adaptive metabolic transitions in the metabolomic profile of heart failure. *J Card Fail* 21, 460-469.
- Neubauer, S. (2007). The failing heart--an engine out of fuel. *N Engl J Med* 356, 1140-1151.
- Newgard, C.B., An, J., Bain, J.R., Muehlbauer, M.J., Stevens, R.D., Lien, L.F., Haqq, A.M., Shah, S.H., Arlotto, M., Slentz, C.A., *et al.* (2009). A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab* 9, 311-326.
- Nicholson, J.K., Lindon, J.C., and Holmes, E. (1999). 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica* 29, 1181-1189.
- Niinisalo, P., Raitala, A., Pertovaara, M., Oja, S.S., Lehtimäki, T., Kahonen, M., Reunanen, A., Jula, A., Moilanen, L., Kesäniemi, Y.A., *et al.* (2008). Indoleamine 2,3-dioxygenase activity associates with cardiovascular risk factors: the Health 2000 study. *Scand J Clin Lab Invest* 68, 767-770.
- Nilsson, L.K., Linderholm, K.R., Engberg, G., Paulson, L., Blennow, K., Lindström, L.H., Nordin, C., Karanti, A., Persson, P., and Erhardt, S. (2005). Elevated levels of kynurenic acid in the cerebrospinal fluid of male patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 80, 315-322.
- Patti, G., Pengo, V., Marcucci, R., Cirillo, P., Renda, G., Santilli, F., Calabro, P., De Caterina, A.R., Cavallari, I., Ricottini, E., *et al.* (2017). The left atrial appendage: from embryology to prevention of thromboembolism. *Eur Heart J* 38, 877-887.
- Pauling, L., Robinson, A.B., Teranishi, R., and Cary, P. (1971). Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc Natl Acad Sci U S A* 68, 2374-2376.
- Pawlak, D., Tankiewicz, A., Matys, T., and Buczek, W. (2003). Peripheral distribution of kynurenine metabolites and activity of kynurenine pathway enzymes in renal failure. *J Physiol Pharmacol* 54, 175-189.
- Pitkanen, H.T., Oja, S.S., Kempainen, K., Seppä, J.M., and Mero, A.A. (2003). Serum amino acid concentrations in aging men and women. *Amino Acids* 24, 413-421.
- Ploder, M., Neutrauer, G., Spittler, A., Schroecksnadel, K., Roth, E., and Fuchs, D. (2008). Serum phenylalanine in patients post trauma and with sepsis correlate to neopterin concentrations. *Amino Acids* 35, 303-307.
- Ponikowski, P., Voors, A.A., Anker, S.D., Bueno, H., Cleland, J.G.F., Coats, A.J.S., Falk, V., Gonzalez-Juanatey, J.R., Harjola, V.P., Jankowska, E.A., *et al.* (2016). 2016 ESC Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 69, 1167.

Reddy, V.Y., Holmes, D., Doshi, S.K., Neuzil, P., and Kar, S. (2011). Safety of percutaneous left atrial appendage closure: results from the Watchman Left Atrial Appendage System for Embolic Protection in Patients with AF (PROTECT AF) clinical trial and the Continued Access Registry. *Circulation* 123, 417-424.

Roberts, L.D., and Gerszten, R.E. (2013). Toward new biomarkers of cardiometabolic diseases. *Cell Metab* 18, 43-50.

Roger, V.L., Go, A.S., Lloyd-Jones, D.M., Benjamin, E.J., Berry, J.D., Borden, W.B., Bravata, D.M., Dai, S., Ford, E.S., Fox, C.S., *et al.* (2012). Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 125, e2-e220.

Ruff, C.T., Giugliano, R.P., Braunwald, E., Hoffman, E.B., Deenadayalu, N., Ezekowitz, M.D., Camm, A.J., Weitz, J.I., Lewis, B.S., Parkhomenko, A., *et al.* (2014). Comparison of the efficacy and safety of new oral anticoagulants with warfarin in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 383, 955-962.

Ruiz-Canela, M., Toledo, E., Clish, C.B., Hruby, A., Liang, L., Salas-Salvado, J., Razquin, C., Corella, D., Estruch, R., Ros, E., *et al.* (2016). Plasma Branched-Chain Amino Acids and Incident Cardiovascular Disease in the PREDIMED Trial. *Clin Chem* 62, 582-592.

Sabatine, M.S., Liu, E., Morrow, D.A., Heller, E., McCarroll, R., Wiegand, R., Berriz, G.F., Roth, F.P., and Gerszten, R.E. (2005). Metabolomic identification of novel biomarkers of myocardial ischemia. *Circulation* 112, 3868-3875.

Sattler, K., Behnes, M., Barth, C., Wenke, A., Sartorius, B., El-Battrawy, I., Mashayekhi, K., Kuschyk, J., Hoffmann, U., Papavasiliu, T., *et al.* (2017). Occlusion of left atrial appendage affects metabolomic profile: focus on glycolysis, tricarboxylic acid and urea metabolism. *Metabolomics* 13, 127.

Schwartz, R.S., Holmes, D.R., Van Tassel, R.A., Hauser, R., Henry, T.D., Mooney, M., Matthews, R., Doshi, S., Jones, R.M., and Virmani, R. (2010). Left atrial appendage obliteration: mechanisms of healing and intracardiac integration. *JACC Cardiovasc Interv* 3, 870-877.

Sharma, S., Devine, W., Anderson, R.H., and Zuberbuhler, J.R. (1988). The determination of atrial arrangement by examination of appendage morphology in 1842 heart specimens. *Br Heart J* 60, 227-231.

Shi, H., Enriquez, A., Rapadas, M., Martin, E., Wang, R., Moreau, J., Lim, C.K., Szot, J.O., Ip, E., Hughes, J.N., *et al.* (2017). NAD Deficiency, Congenital Malformations, and Niacin Supplementation. *N Engl J Med* 377, 544-552.

Shiota, T., Nakatsukasa, H., Fujiwara, M., Takei, N., Yamauchi, Y., Kobayashi, M., Watanabe, A., and Nagashima, H. (1984). Plasma amino acid imbalance in alcoholic liver cirrhosis. *Biochem Med* 32, 181-188.

Shirani, J., and Alaeddini, J. (2000). Structural remodeling of the left atrial appendage in patients with chronic non-valvular atrial fibrillation: Implications for thrombus

formation, systemic embolism, and assessment by transesophageal echocardiography. *Cardiovasc Pathol* 9, 95-101.

Smetnev, A.S., Bunin lu, A., Nargizian, A.B., Petrovskii, P.F., and Vakhliaev, V.D. (1983). [Characteristics of lactate metabolism in the myocardium of patients with auricular fibrillation]. *Kardiologiia* 23, 70-73.

Soeters, P.B., and Fischer, J.E. (1976). Insulin, glucagon, aminoacid imbalance, and hepatic encephalopathy. *Lancet* 2, 880-882.

Stoddard, M.F., Dawkins, P.R., Prince, C.R., and Ammash, N.M. (1995). Left atrial appendage thrombus is not uncommon in patients with acute atrial fibrillation and a recent embolic event: a transesophageal echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 25, 452-459.

Stollberger, C., Schneider, B., and Finsterer, J. (2003). Elimination of the left atrial appendage to prevent stroke or embolism? Anatomic, physiologic, and pathophysiologic considerations. *Chest* 124, 2356-2362.

Stone, T.W., Mackay, G.M., Forrest, C.M., Clark, C.J., and Darlington, L.G. (2003). Tryptophan metabolites and brain disorders. *Clin Chem Lab Med* 41, 852-859.

Sulo, G., Vollset, S.E., Nygard, O., Midttun, O., Ueland, P.M., Eussen, S.J., Pedersen, E.R., and Tell, G.S. (2013). Neopterin and kynurenine-tryptophan ratio as predictors of coronary events in older adults, the Hordaland Health Study. *Int J Cardiol* 168, 1435-1440.

Sun, H., Olson, K.C., Gao, C., Prosdocimo, D.A., Zhou, M., Wang, Z., Jeyaraj, D., Youn, J.Y., Ren, S., Liu, Y., *et al.* (2016). Catabolic Defect of Branched-Chain Amino Acids Promotes Heart Failure. *Circulation* 133, 2038-2049.

Sun, H., and Wang, Y. (2016). Branched chain amino acid metabolic reprogramming in heart failure. *Biochim Biophys Acta* 1862, 2270-2275.

Tabata, T., Oki, T., Yamada, H., Abe, M., Onose, Y., and Thomas, J.D. (2000). Relationship between left atrial appendage function and plasma concentration of atrial natriuretic peptide. *Eur J Echocardiogr* 1, 130-137.

Taegtmeyer, H., Young, M.E., Lopaschuk, G.D., Abel, E.D., Brunengraber, H., Darley-USmar, V., Des Rosiers, C., Gerszten, R., Glatz, J.F., Griffin, J.L., *et al.* (2016). Assessing Cardiac Metabolism: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circ Res* 118, 1659-1701.

Terlecki, P., Pawlik, P., Iwaniuk, A., Kocki, T., Przywara, S., Ilzecki, M., Zubilewicz, T., Kowalczyk, M., Parada-Turska, J., and Dabrowski, W. (2014). Carotid surgery affects plasma kynurenic acid concentration: a pilot study. *Med Sci Monit* 20, 303-310.

Tzikas, A., Shakir, S., Gafoor, S., Omran, H., Berti, S., Santoro, G., Kefer, J., Landmesser, U., Nielsen-Kudsk, J.E., Cruz-Gonzalez, I., *et al.* (2016). Left atrial appendage occlusion for stroke prevention in atrial fibrillation: multicentre experience with the AMPLATZER Cardiac Plug. *EuroIntervention* 11, 1170-1179.

- Ussher, J.R., Elmariah, S., Gerszten, R.E., and Dyck, J.R. (2016). The Emerging Role of Metabolomics in the Diagnosis and Prognosis of Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol* 68, 2850-2870.
- Ventura-Clapier, R., Garnier, A., and Veksler, V. (2004). Energy metabolism in heart failure. *J Physiol* 555, 1-13.
- Wallimann, T., Wyss, M., Brdiczka, D., Nicolay, K., and Eppenberger, H.M. (1992). Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J* 281 (Pt 1), 21-40.
- Wang, Q., Liu, D., Song, P., and Zou, M.H. (2015). Tryptophan-kynurenine pathway is dysregulated in inflammation, and immune activation. *Front Biosci (Landmark Ed)* 20, 1116-1143.
- Wang, T.J., Larson, M.G., Vasani, R.S., Cheng, S., Rhee, E.P., McCabe, E., Lewis, G.D., Fox, C.S., Jacques, P.F., Fernandez, C., *et al.* (2011). Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med* 17, 448-453.
- Watson, T., Shantsila, E., and Lip, G.Y. (2009). Mechanisms of thrombogenesis in atrial fibrillation: Virchow's triad revisited. *Lancet* 373, 155-166.
- White, C.W., Hoidal, M.D., and Marcus, M.L. (1986). Effects of acute atrial fibrillation on the vasodilator reserve of the canine atrium. *Cardiovasc Res* 20, 683-689.
- Wilke, T., Groth, A., Mueller, S., Pfannkuche, M., Verheyen, F., Linder, R., Maywald, U., Bauersachs, R., and Breithardt, G. (2013). Incidence and prevalence of atrial fibrillation: an analysis based on 8.3 million patients. *Europace* 15, 486-493.
- Wyss, M., and Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev* 80, 1107-1213.
- Yanagisawa, R., Kataoka, M., Inami, T., Momose, Y., Kawakami, T., Takei, M., Kimura, M., Isobe, S., Yamakado, M., Fukuda, K., *et al.* (2015). Usefulness of circulating amino acid profile and Fischer ratio to predict severity of pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 115, 831-836.
- Yourick, D.L., and Tessel, R.E. (1989). Mechanisms of phenylalanine-induced pressor effects in conscious rats. *Eur J Pharmacol* 160, 219-228.
- Zapolski, T., Kaminska, A., Kocki, T., Wysokinski, A., and Urbanska, E.M. (2020). Aortic stiffness-Is kynurenic acid a novel marker? Cross-sectional study in patients with persistent atrial fibrillation. *PLoS One* 15, e0236413.
- Zeden, J.P., Fusch, G., Holtfreter, B., Schefold, J.C., Reinke, P., Domanska, G., Haas, J.P., Gruendling, M., Westerholt, A., and Schuett, C. (2010). Excessive tryptophan catabolism along the kynurenine pathway precedes ongoing sepsis in critically ill patients. *Anaesth Intensive Care* 38, 307-316.
- Zhang, D., Contu, R., Latronico, M.V., Zhang, J., Rizzi, R., Catalucci, D., Miyamoto, S., Huang, K., Ceci, M., Gu, Y., *et al.* (2010). mTORC1 regulates cardiac function

and myocyte survival through 4E-BP1 inhibition in mice. *J Clin Invest* 120, 2805-2816.

7 EIGENE PUBLIKATIONEN

Interventional left atrial appendage closure may affect metabolism of essential amino acids and bioenergetic efficacy.

J Rusnak, M Behnes, A Saleh, C Fastner, K Sattler, C Barth, A Wenke, B Sartorius, K Mashayekhi, U Hoffmann, G Yucel, S Lang, M Borggrefe, I Akin

Publiziert in: International Journal of Cardiology; 2018.05.031.

Percutaneous Closure of Left Atrial Appendage significantly affects Lipidome Metabolism.

G Yücel, M Behnes, C Barth, A Wenke, B Sartorius, K Mashayekhi, B Yazdani, T Bertsch, J Rusnak, A Saleh, U Hoffmann, C Fastner, S Lang, X Zhou, K Sattler, M Borggrefe, I Akin

Publiziert in: Scientific Reports; 2018; 8: 5894.

Interventional Left Atrial Appendage Closure Affects the Metabolism of Acylcarnitines.

C Fastner, M Behnes, B Sartorius, A Wenke, S Lang, G Yücel, K Sattler, J Rusnak, A Saleh, C Barth, K Mashayekhi, U Hoffmann, M Borggrefe, I Akin

Publiziert in: International Journal of Molecular Sciences; 2018 Feb 7;19(2):500.

Electrical storm is associated with impaired prognosis compared to ventricular tachyarrhythmias.

M Behnes, J Müller, D Ellguth, T Schupp, G Taton, L Reise, N Engelke, T Reichelt, A Bollow, S Kim, C Barth, A Saleh, J Rusnak, K Weidner, C A Nienaber, K Mashayekhi, M Akin, T Bertsch, C Weiß, M Borggrefe, I Akin

Publiziert in: International Journal of Cardiology; 2019 Oct 1;292:119-125.

Prognostic impact of left ventricular ejection fraction in patients with electrical storm.

J Müller, M Behnes, D Ellguth, T Schupp, G Taton, L Reiser, T Reichelt, A Bollow, S Kim, C Barth, A Saleh, J Rusnak, K Weidner, C A Nienaber, K Mashayekhi, M Akin, T Bertsch, C Weiß, M Borggrefe, I Akin

Publiziert in: Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology; 2019 Sep;55(3):307-315.

8 LEBENSLAUF

PERSONALIEN

Name und Vorname: Saleh, Ahmad
Geburtsdatum: 11.08.1986
Geburtsort: Alqassim, Saudi-Arabien.
Familienstand: Verheiratet, zwei Kinder.
Vater: Ali Saleh, Landwirtschaftsingenieur.
Mutter: Nadia Agha, Lehrerin.

SCHULISCHER WERDEGANG

1992 – 1998 Die Zukunft-Privatgrundschule, Saudi-Arabien
1999 – 2003 Almanarat Privatgymnasium, Saudi-Arabien
2004 Abitur in Saudi-Arabien, Abschlussnote: 99,8%

UNIVERSITÄRER WERDEGANG

09/2004- 07/2010 Studium der Humanmedizin an der Fakultät für Humanmedizin, Universität Aleppo, Syrien.
Abschlussnote: sehr gut.
10.11.2015 Deutsche Approbation nach Bestehen der Fachsprachprüfung und Kenntnisprüfung.

BERUFLICHER WERDEGANG

11/2013 – 03/2016 Assistenzarzt Innere Medizin und Kardiologie, Klinikum Frankfurt Oder.
Seit 04/2016 Assistenzarzt Innere Medizin und Kardiologie, Universitätsmedizin Mannheim.
15.10.2019 Facharzt für Innere Medizin
20.08.2020 Zusatzbezeichnung Notfallmedizin

9 DANKSAGUNG

Zunächst danke ich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Martin Borggreffe für die Möglichkeit mein Promotionsvorhaben in der I. Medizinischen Klinik der Fakultät für Medizin Mannheim der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg durchführen zu können. Zu dem danke ich Herrn Prof. Dr. med. Daniel Dürschmied, dass ich die Promotion unter seiner Leitung fortführen dürfte.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Ibrahim Akin für die Bereitstellung dieses interessanten Themas, für seine kontinuierliche Aufsicht, sowie seine fachliche und wissenschaftliche Beratung.

Mein größter Dank und besondere Wertschätzung gilt Herrn Prof. Dr. med. Michael Behnes für seine Geduld, seine enorme Unterstützung, Offenheit und Diskussionsfreude während der stets freundlichen Betreuung der nun vorliegenden Promotionsarbeit.

Herrn Dr. med. Benjamin Satorius und Dr. med. Christian Barth danke ich für die gute Zusammenarbeit an diesem Projekt, gerade auch bei Fragen der Statistik und Interpretation der Ergebnisse.

Dem ärztlichen und pflegerischen Personal der I. Medizinischen Klinik auf den Stationen, Ambulanzen und im Herzkatheterlabor danke ich im Speziellen für ihre Unterstützung während täglicher Versorgung aller Patienten und indirekten Mitbetreuung der Studienteilnehmer.

Von ganzem Herzen danke ich meinen Eltern, Ali Saleh und Nadia Agha, die mich auf meinem weiten Weg während des Medizinstudiums und meiner medizinischen Ausbildung in Deutschland unentwegt unterstützt und begleitet haben.

Abschließend danke ich meiner lieben Ehefrau Alaa und meinen lieben Kindern Lyana und Ali. Ihr unterstützt mich ohne Einschränkung, ermutigt und motiviert mich Tag für Tag.

Für Eure stetige Liebe widme ich diese Arbeit.