

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

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	1
<b>1. EINLEITUNG</b> .....	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
<b>2 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	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

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	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
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	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
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	69
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	71
<b>7</b>	<b>EIGENE PUBLIKATIONEN</b> .....	82
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF</b> .....	83
<b>9</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	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	Adenosintri-phosphate
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**

<b>Vorhofflimmern-Typ</b>	<b>Definition</b>
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**

<b>Modifizierter EHRA-Score</b>	<b>Symptome</b>	<b>Beschreibung</b>
I	keine	Vorhofflimmern verursacht keinerlei Beschwerden.
IIa	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 hirnversorgenden 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)**

<b>CHA2DS2-VASc-Risikofaktor</b>	<b>Punkte</b>	<b>HAS-BLED-Risikofaktor</b>	<b>Punkte</b>
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 CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-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 Ventrikelmuskulatur 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)

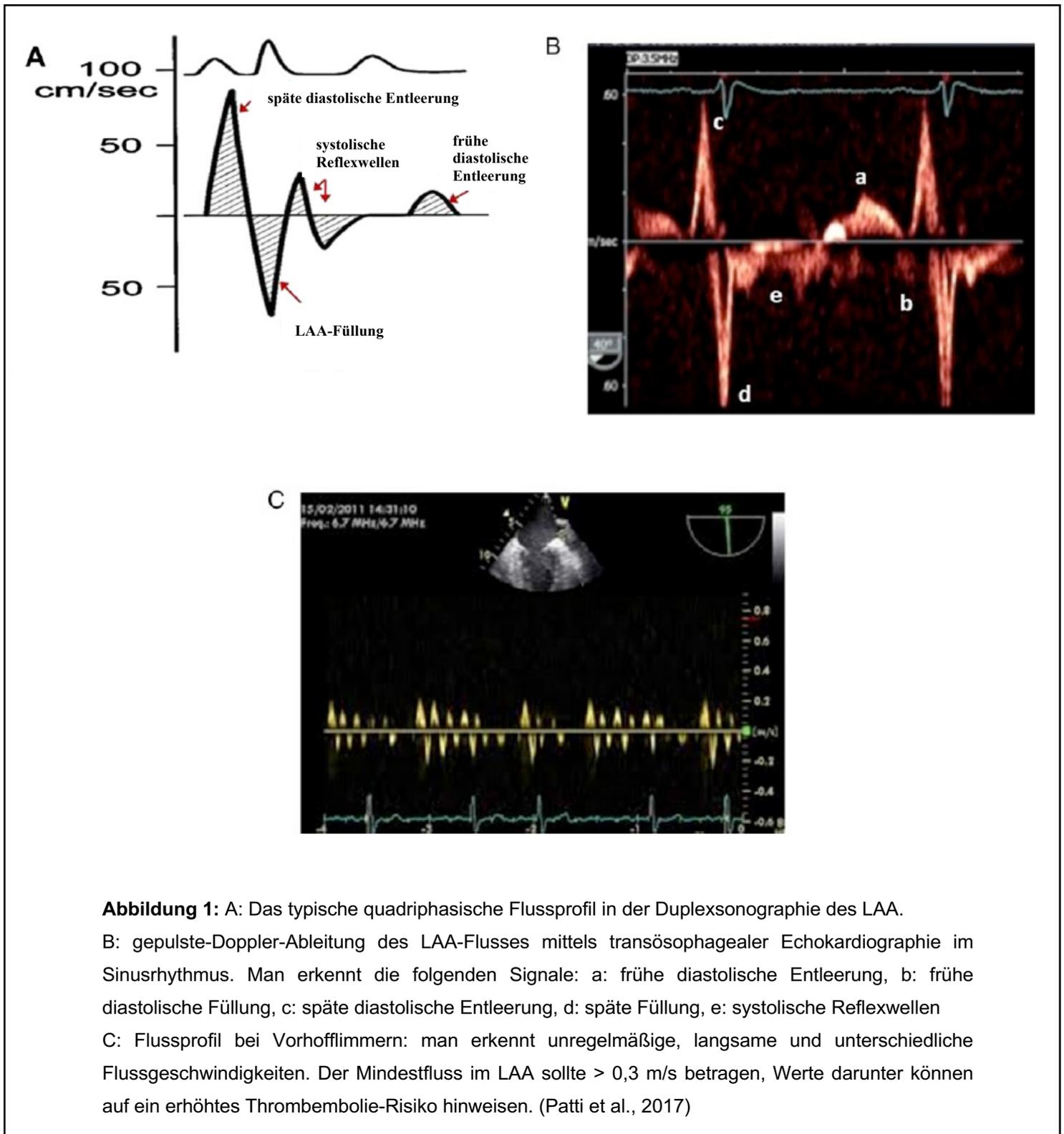
### **1.3.3 Das linke Vorhofohr als Emboliequelle**

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

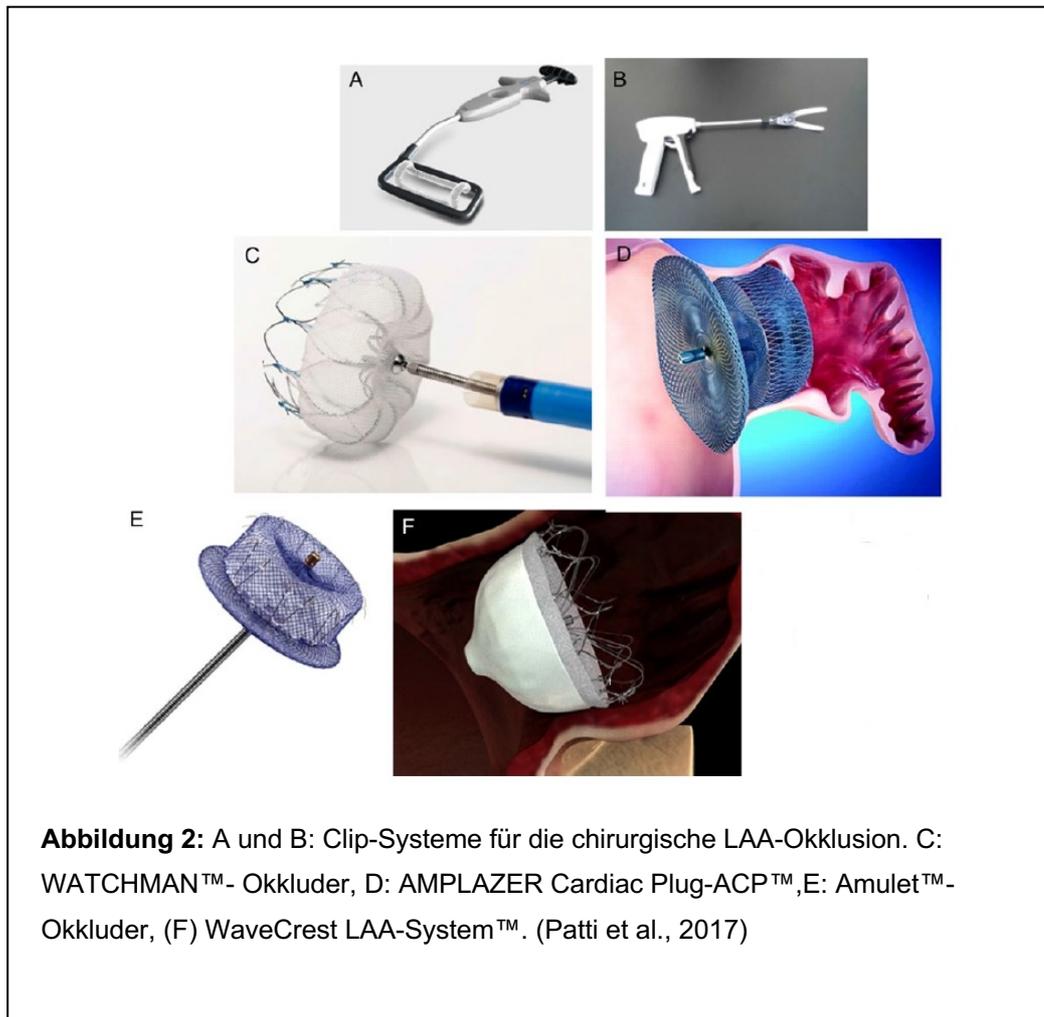
Der chirurgische Verschluss wird primär im Rahmen von anderen herzchirurgischen Eingriffen, wie z. B. Herzklappenoperationen, durchgeführt. Das LAA kann entweder mit einer Schere entfernt werden oder per Naht bzw. Stapler verschlossen werden (**Abbildung 2**). Jedoch sind die Erfolgsraten eher niedrig. 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  $\alpha$ -Ketoglutarat) einzuschleusen. (Heinrich, 2014, pp. 795-799) Dabei fallen reduzierte wasserstoffübertragende Coenzyme, wie z.B. Nicotinamadenindinukleotid (NADH/H<sup>+</sup>) und Flavin-Adenin-Dinukleotid (FADH<sub>2</sub>), 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)

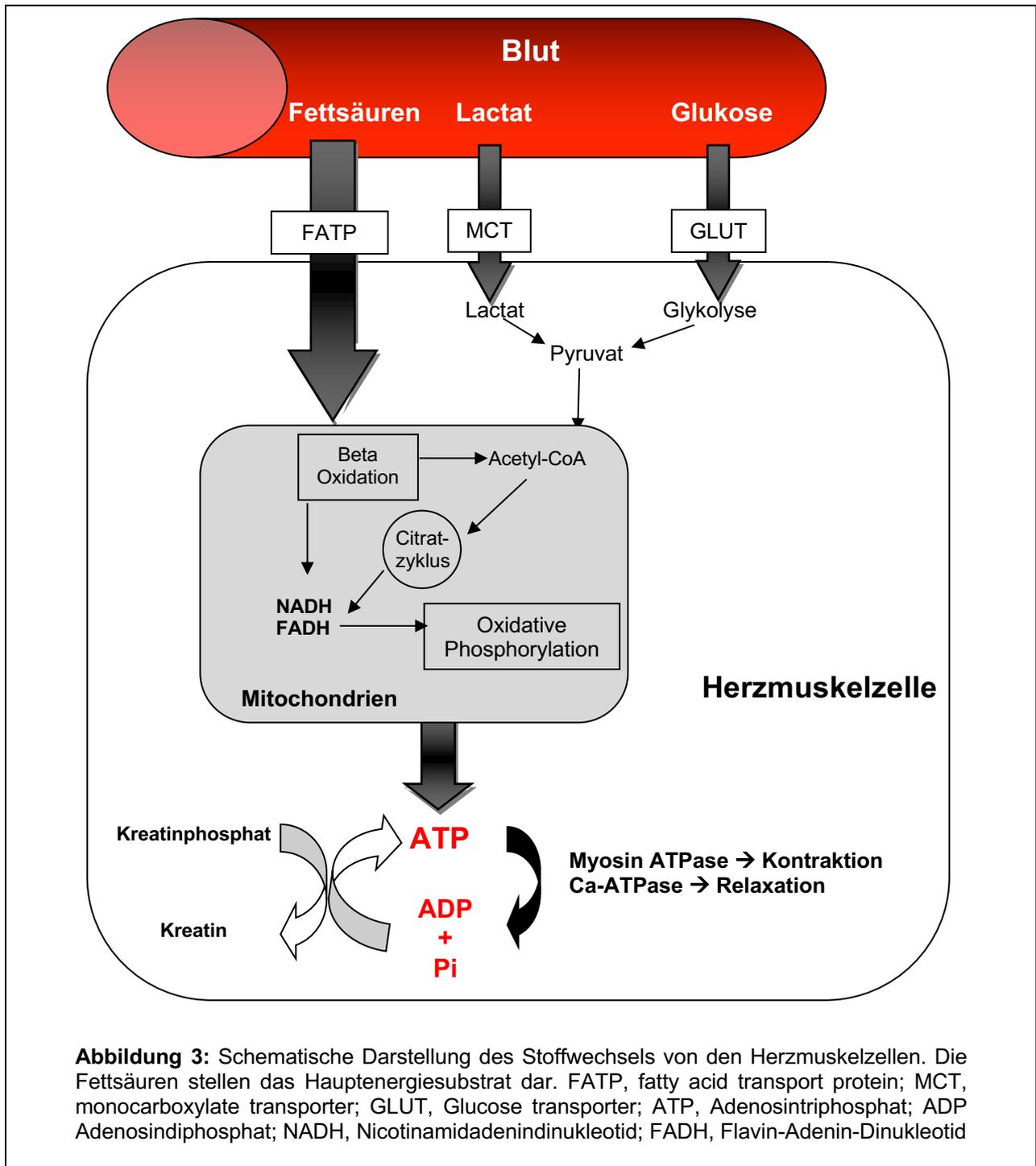
Das Herz kann sich sehr schnell an verschiedene pathophysiologische Umstände anpassen. Um den jeweils notwendigen Energiebedarf zu decken, kann das Herz aus fast jedem Substrat ATP gewinnen. Die vorrangigen Energiesubstrate des Herzens sind: Glukose, Glykogen, Lactat, Pyruvat, Triglyzeride, langkettige Fettsäuren, Ketonkörper, Acetoacetat und  $\beta$ -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

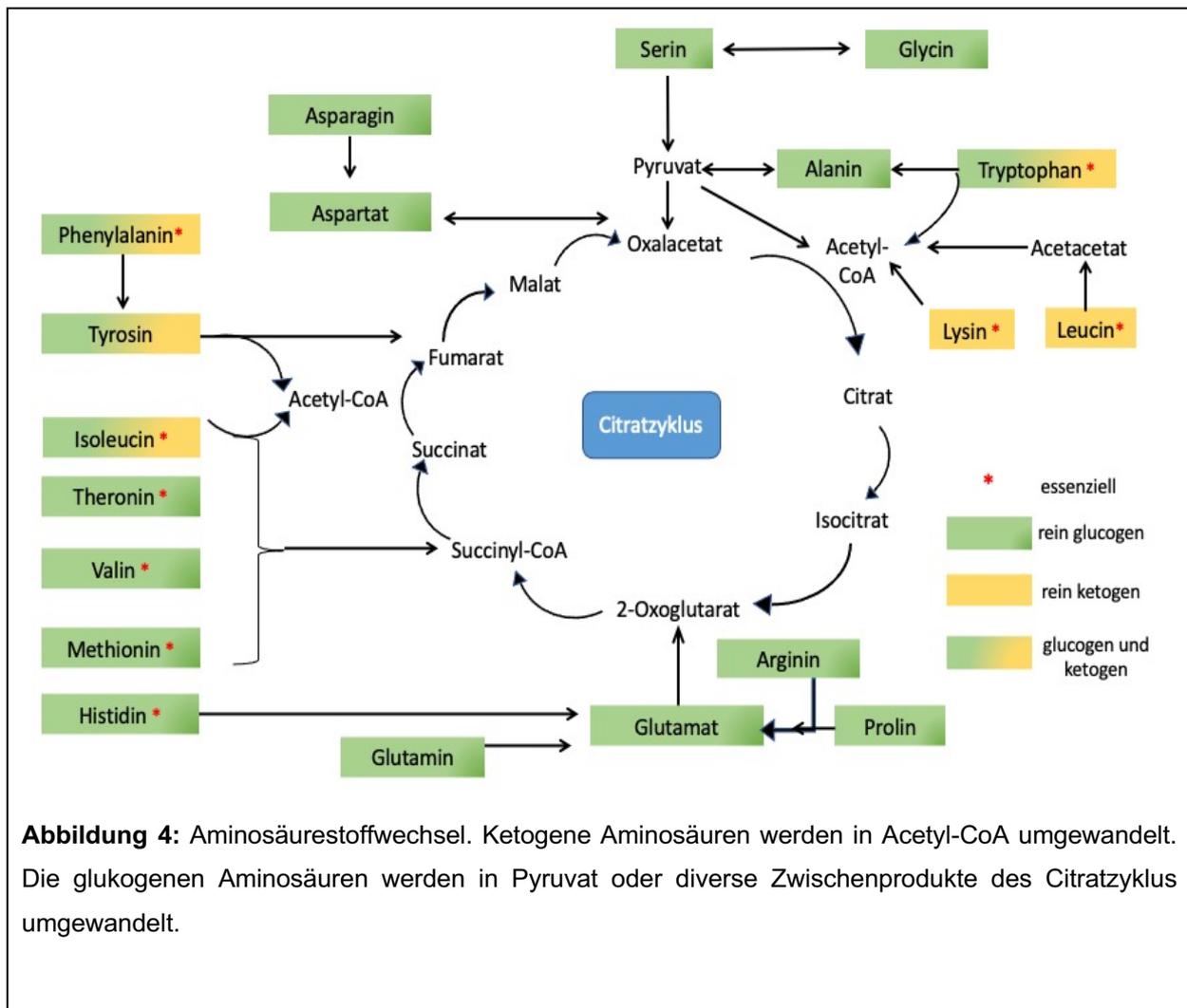
abgegeben, um den Substratbedarf der in der Leber stattfindenden Gluconeogenese zu decken. Daher ist es aus bioenergetischer Sicht sehr bedeutsam, die Aminosäuren nach ihrer Funktion als Substrate der Gluconeogenese (glucogene versus ketogene Aminosäuren) separiert zu betrachten. (Löffler, 2008, pp.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



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)

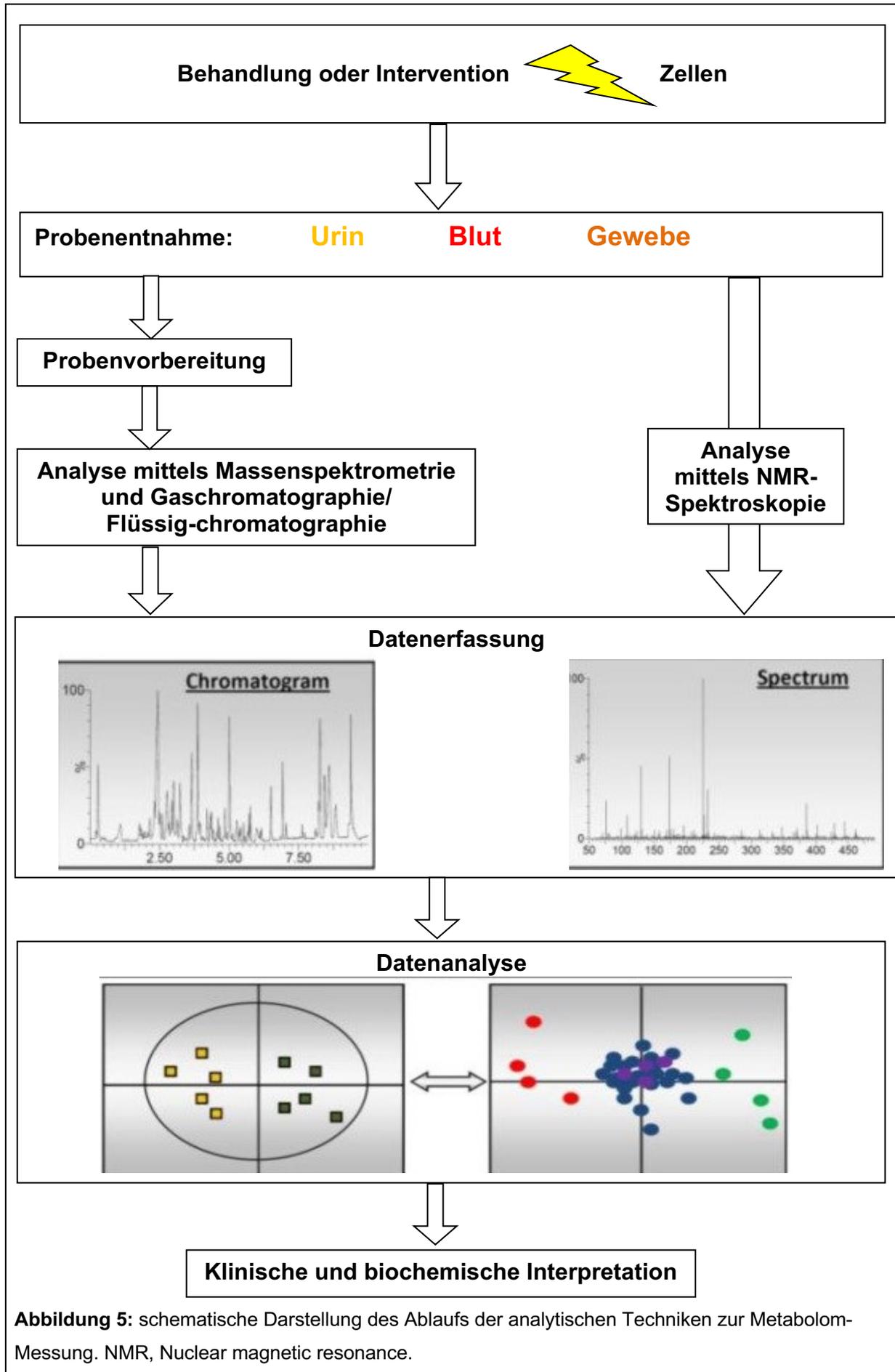
Die Massenspektrometrie unterscheidet die Metabolite anhand des Verhältnisses zwischen Molekül-Maß und Ladung und benötigt für die Separation der Metabolite die Gaschromatographie oder Flüssigchromatographie. Der Vorteil der Massenspektrometrie ist die deutlich höhere Sensitivität im Vergleich zur NMR-Spektroskopie (**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 eingeschränkter Reproduzierbarkeit einhergeht. Die Interpretation von metabolischen Daten ist oft langwierig und benötigt eine enge Zusammenarbeit zwischen Bio-Analysikern und Ärzten.



## 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  $\geq 2$  und einem HAS-BLED score  $\geq 3$  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).**

<b>Einschlusskriterien</b>	<b>Ausschlusskriterien</b>
Lebensalter > 18 Jahre	Herzinsuffizienz im NYHA-Stadium IV
Nicht-valvuläres Vorhofflimmern	Herzinfarkt in den letzten drei Monaten
CHA2DS2-Vasc Score $\geq 2$	Vorhofflimmernablation in den letzten 30 Tagen
HAS-BLED Score $\geq 3$	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).**

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

### 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**

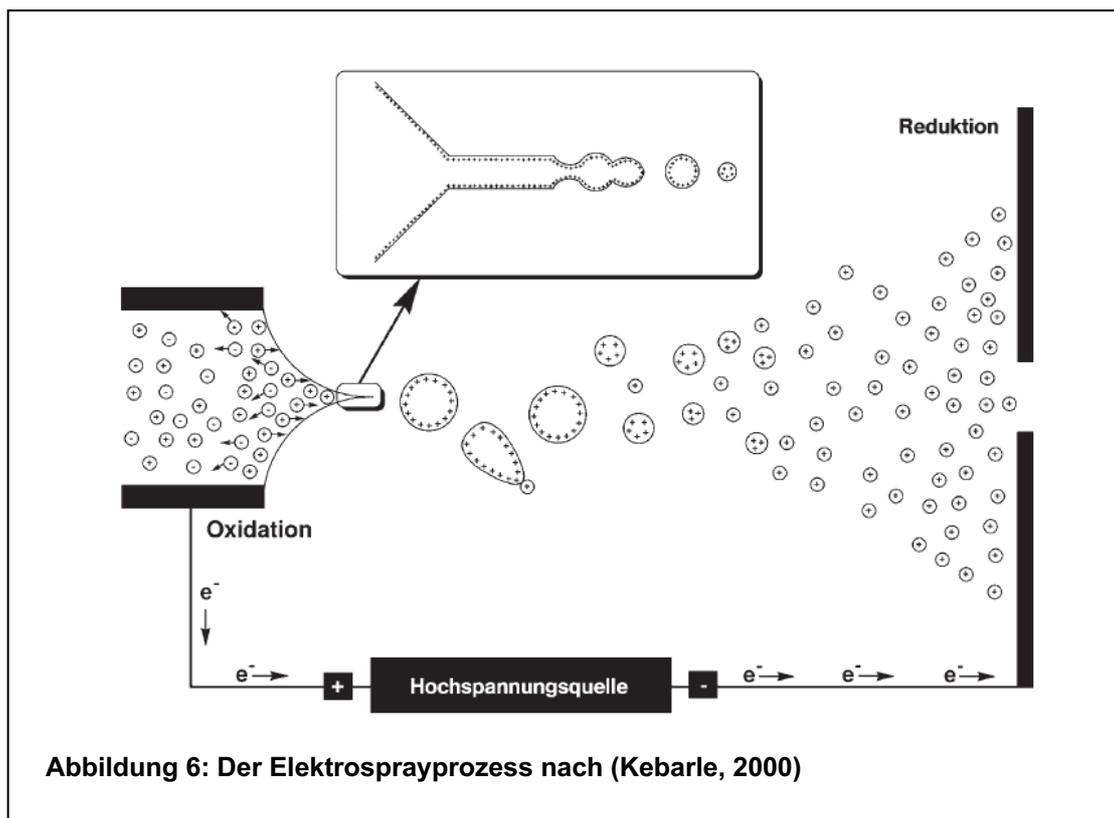
Alle Blutproben wurden durch die Punktion einer peripheren Vene vor dem Eingriff (T0) und am Tage des mittelfristigen Follow-ups nach sechs Monaten (T1) in Ethylendiamintetraessigsäure- (EDTA)-Röhrchen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) durchgeführt. Die Patienten waren bei der Blutabnahme klinisch stabil, 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)

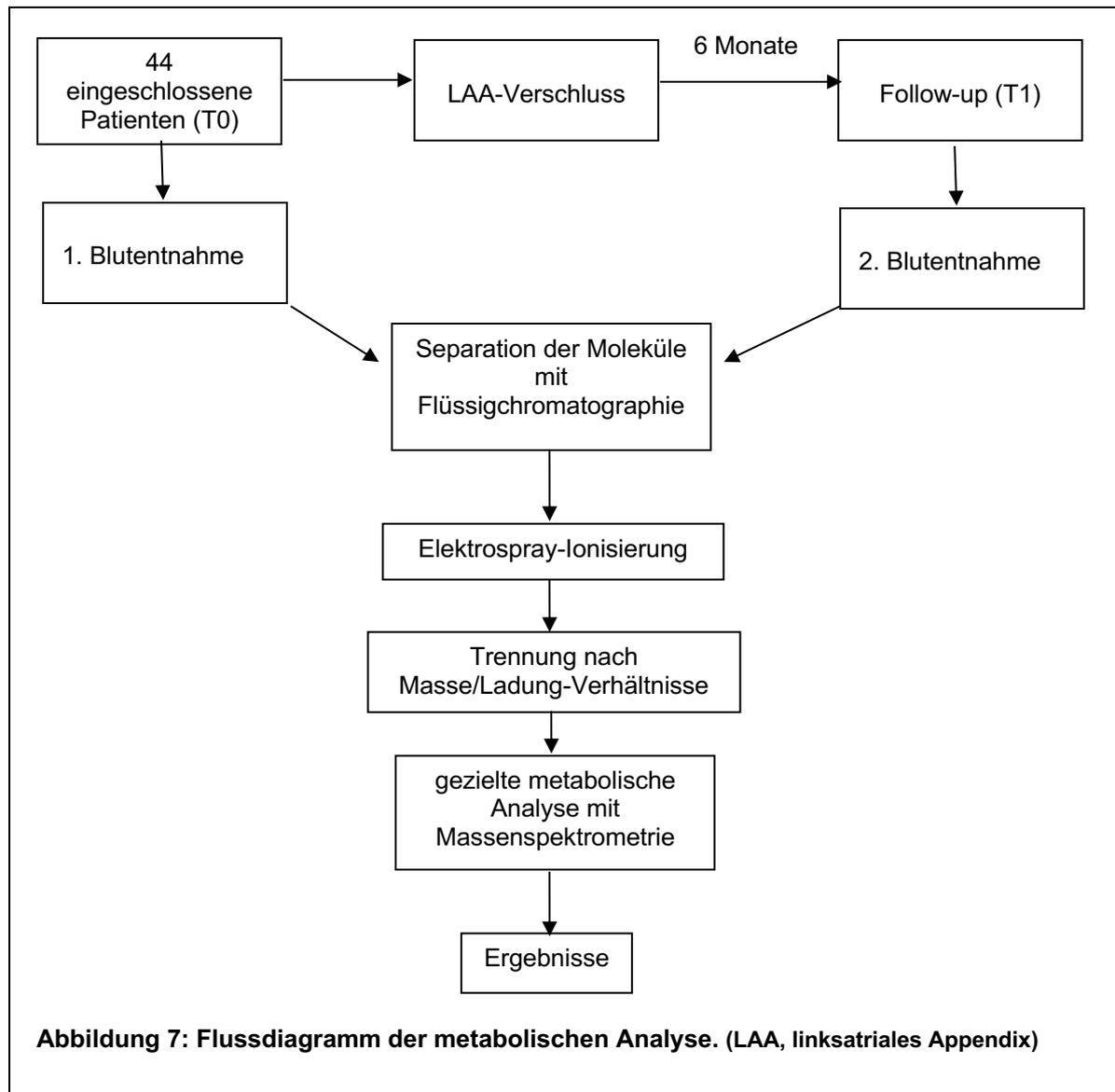
Die Plasmaproben wurden zuerst auf einer geeigneten Analyseplatte vorbereitet und in der Analyse-Software registriert (BIOCRATES MetIDQ™). Es erfolgte die Analyse mittels LC-MS. Bei der LC-MS werden zwei unabhängig voneinander Analysensysteme gekoppelt. Analyten von Interesse werden unter Verwendung 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
<b>Leucin</b>	√		√		√	
<b>Isoleucin</b>	√			√	√	
<b>Valin</b>	√	√			√	
<b>Tyrosin</b>				√		√
<b>Phenylalanin</b>	√			√		√
<b>Tryptophan</b>	√			√		√
<b>Threonin</b>	√	√				

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 Logsplines-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)

<b>Charakteristikum</b>	<b>Wert</b>
<i>Demographisch</i>	
Männliches Geschlecht, n (%)	30 (68)
Alter, Jahre (IQB)	78 (76–83)
BMI (kg/m <sup>2</sup> ), 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 <sup>2</sup> ), 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 <sup>2</sup> )	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).**

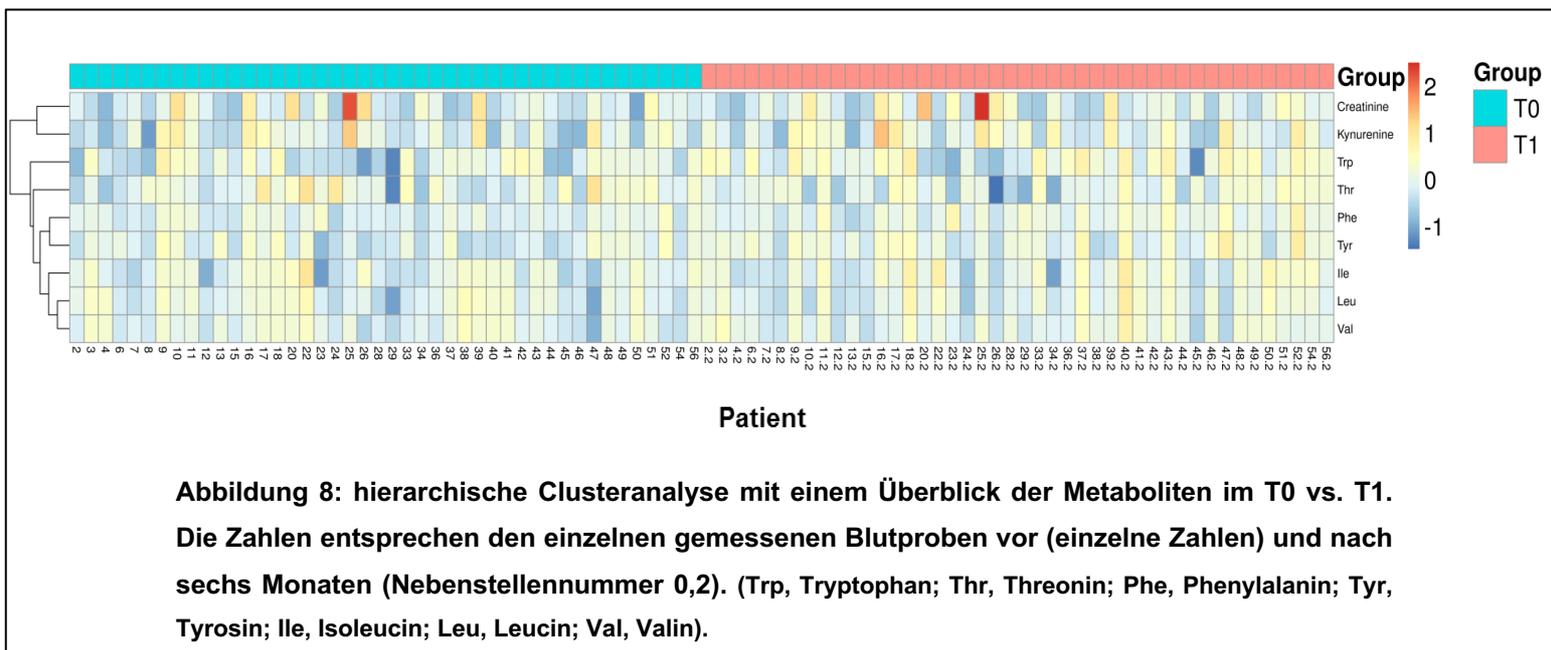
(LVEDD, linksventrikulärer enddiastolische Diameter; LV, linker Ventrikel; LA, linker Vorhof; ASD, Atriumseptumdefekt; PFO, persistierendes Foramen ovale; LAA, linksatrialer Appendix; IQB, Interquartilsbereichen)

<b>Charakteristikum</b>	<b>Wert</b>
<b>Ausgangswert, Median (IQB)</b>	
Septum, (mm)	12 (11–14)
LVEDD, (mm)	48 (43.5–52.3)
LA-Diameter, (mm)	48 (43.7–55)
LA-Volumen, (mm <sup>3</sup> )	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)
<b>Follow-Up</b>	
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 mm<sup>3</sup>). 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 Vorhofrohr-Verschluss-Therapie auf das Metabolom

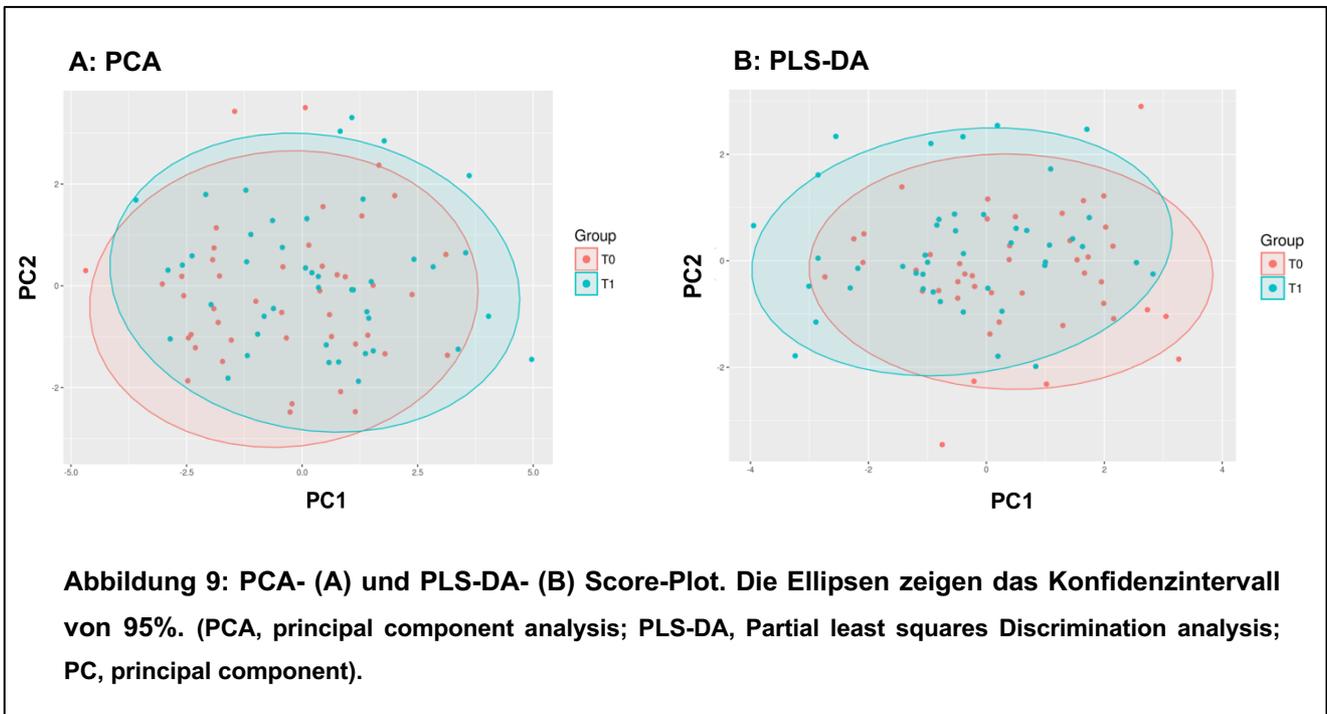


**Abbildung 8: hierarchische Clusteranalyse mit einem Überblick der Metaboliten im T0 vs. T1. Die Zahlen entsprechen den einzelnen gemessenen Blutproben vor (einzelne Zahlen) und nach sechs Monaten (Nebenstellennummer 0,2). (Trp, Tryptophan; Thr, Threonin; Phe, Phenylalanin; Tyr, Tyrosin; Ile, Isoleucin; 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 Log<sub>2</sub>-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%,  $P=0,1319$ ).

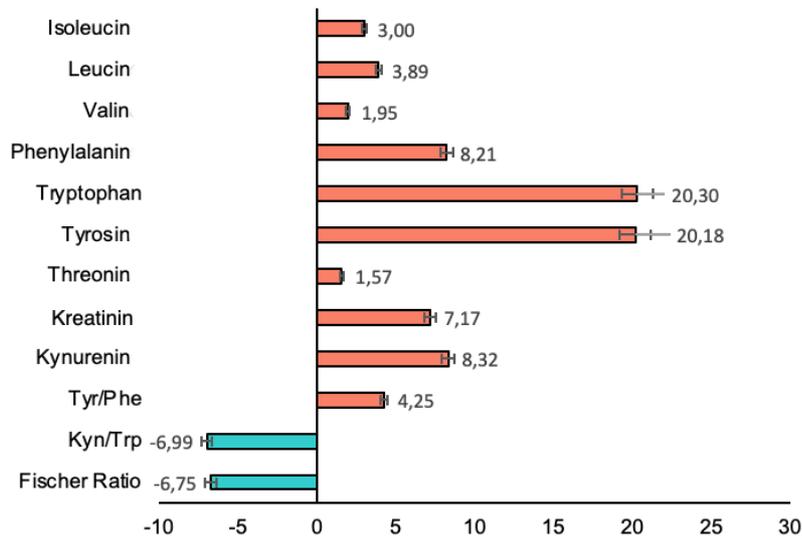
Weiterhin wurden die Messverhältnisse (Ratio) zwischen Tyrosin/Phenylalanin und Kynurenin/Tryptophan berechnet. Das Verhältnis Tyrosin/Phenylalanin war signifikant steigend ( $P=0,0159$ ), während Kynurenin/Tryptophan einen fallenden statistischen Trend zeigte ( $P=0,0766$ ). Die berechnete Fischer-Ratio 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	<b>0,0060</b>	8
5	Tryptophan	46,0500	35,0250	58,8750	55,4000	41,0000	69,1750	<b>0,0006</b>	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	<b>0,0001</b>	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	<b>0,0239</b>	8
10	Tyr/Phe	1,0387	0,9149	1,1067	1,0828	0,9396	1,1785	<b>0,0159</b>	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	<b>0,0009</b>	-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
<b>Phenylalanin</b>	<b>63,0500</b>	<b>64,2000</b>	<b>56,5500</b>	<b>65,5750</b>	<b>56,5500</b>	<b>74,2500</b>	<b>67,0500</b>	<b>69,9000</b>	<b>57,9500</b>	<b>68,9750</b>	<b>61,7000</b>	<b>75,0500</b>	<b>0,0144</b>	<b>0,0963</b>
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
<b>Tyrosin</b>	<b>56,1500</b>	<b>63,9000</b>	<b>52,8750</b>	<b>70,0250</b>	<b>54,0750</b>	<b>82,9500</b>	<b>62,8500</b>	<b>77,9000</b>	<b>57,3500</b>	<b>75,3000</b>	<b>65,4000</b>	<b>84,4500</b>	<b>0,0214</b>	<b>0,0963</b>
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
<b>Tyr/Phe</b>	<b>1,0159</b>	<b>1,0603</b>	<b>0,9131</b>	<b>1,0443</b>	<b>0,9159</b>	<b>1,1175</b>	<b>1,0327</b>	<b>1,0916</b>	<b>0,9173</b>	<b>1,1500</b>	<b>0,9540</b>	<b>1,1811</b>	<b>0,0327</b>	<b>0,1063</b>
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
<b>Valin</b>	<b>205,0000</b>	<b>243,0000</b>	<b>193,5000</b>	<b>248,0000</b>	<b>208,5000</b>	<b>284,0000</b>	<b>228,0000</b>	<b>242,0000</b>	<b>188,0000</b>	<b>239,5000</b>	<b>218,0000</b>	<b>281,0000</b>	<b>0,0110</b>	<b>0,0990</b>
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
<b>Tyr/Phe</b>	<b>1,0820</b>	<b>0,9372</b>	<b>1,0335</b>	<b>1,1589</b>	<b>0,8460</b>	<b>1,0603</b>	<b>1,1213</b>	<b>0,9754</b>	<b>1,0249</b>	<b>1,2778</b>	<b>0,9257</b>	<b>1,1158</b>	<b>0,0217</b>	<b>0,1410</b>
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
<b>Kynurenin</b>	<b>3,3250</b>	<b>2,6000</b>	<b>2,6075</b>	<b>4,2775</b>	<b>2,3150</b>	<b>3,5475</b>	<b>3,2950</b>	<b>3,0600</b>	<b>2,9350</b>	<b>4,6950</b>	<b>2,5250</b>	<b>3,8125</b>	<b>0,0150</b>	<b>0,1350</b>
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
<b>Fischer Ratio</b>	<b>2,8002</b>	<b>2,3842</b>	<b>2,4285</b>	<b>3,1408</b>	<b>2,1936</b>	<b>2,6718</b>	<b>2,5665</b>	<b>2,2113</b>	<b>2,1768</b>	<b>2,8142</b>	<b>2,0776</b>	<b>2,4072</b>	<b>0,0294</b>	<b>0,1911</b>

## 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
<b>Kyn/Trp</b>	<b>0,0635</b>	<b>0,0855</b>	<b>0,0457</b>	<b>0,0871</b>	<b>0,0652</b>	<b>0,0927</b>	<b>0,0564</b>	<b>0,0714</b>	<b>0,0462</b>	<b>0,0764</b>	<b>0,0569</b>	<b>0,1015</b>	<b>0,0461</b>	<b>0,2639</b>
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
<b>Kynurenin</b>	<b>2,5000</b>	<b>3,7250</b>	<b>2,2625</b>	<b>3,3450</b>	<b>3,0625</b>	<b>5,5450</b>	<b>2,8400</b>	<b>4,3850</b>	<b>2,4950</b>	<b>3,3400</b>	<b>3,4475</b>	<b>5,1275</b>	<b>0,0011</b>	<b>0,0099</b>
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
<b>Kyn/Trp</b>	<b>0,0588</b>	<b>0,0855</b>	<b>0,0429</b>	<b>0,0842</b>	<b>0,0730</b>	<b>0,0943</b>	<b>0,0548</b>	<b>0,0845</b>	<b>0,0457</b>	<b>0,0677</b>	<b>0,0558</b>	<b>0,1175</b>	<b>0,0461</b>	<b>0,2639</b>
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
<b>Valin</b>	<b>253,0000</b>	<b>214,0000</b>	<b>209,5000</b>	<b>285,0000</b>	<b>192,0000</b>	<b>243,0000</b>	<b>242,0000</b>	<b>228,0000</b>	<b>221,5000</b>	<b>281,0000</b>	<b>190,0000</b>	<b>262,0000</b>	<b>0,0363</b>	<b>0,1634</b>
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
<b>Tryptophan</b>	<b>52,4000</b>	<b>39,4000</b>	<b>39,3500</b>	<b>59,9000</b>	<b>34,5000</b>	<b>53,5000</b>	<b>58,0000</b>	<b>49,9000</b>	<b>45,4500</b>	<b>70,1500</b>	<b>40,9000</b>	<b>67,8000</b>	<b>0,0157</b>	<b>0,1413</b>
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.

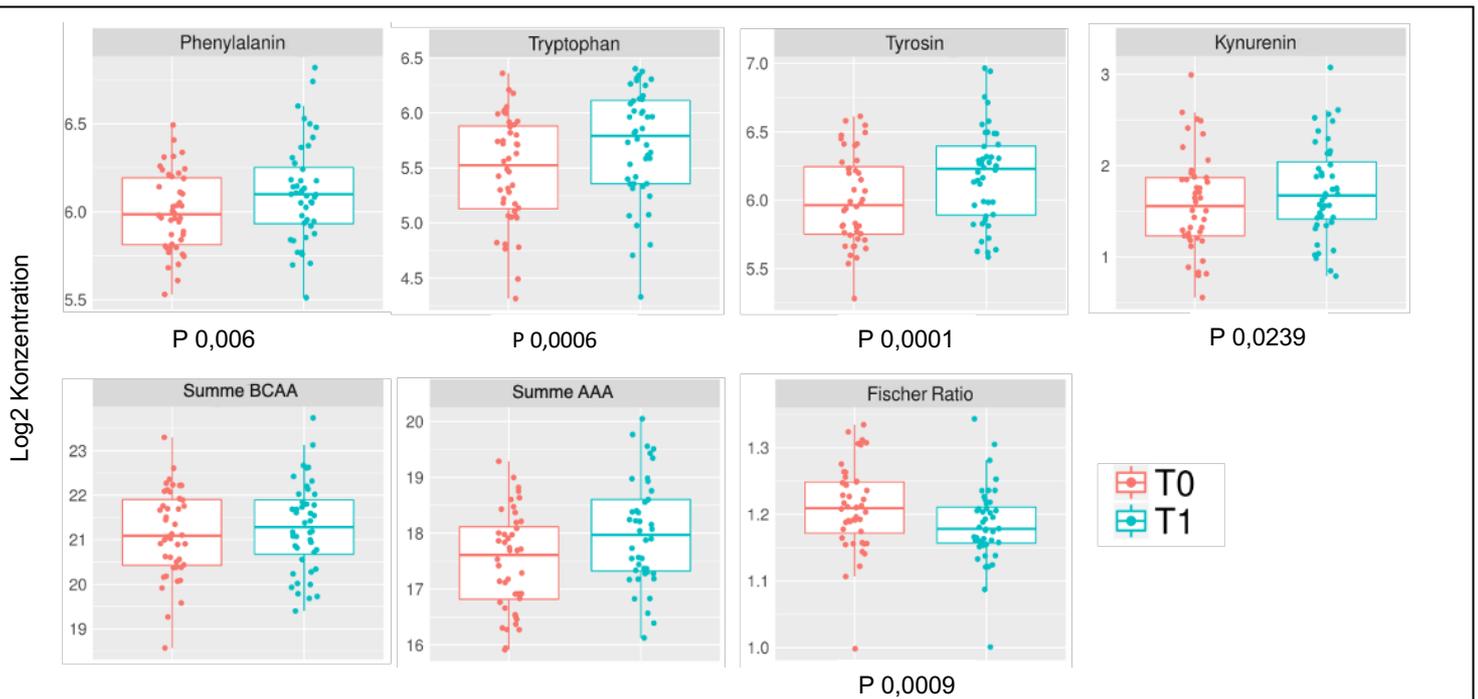
**Tabelle 18: multivariable Regressionsmodell**

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

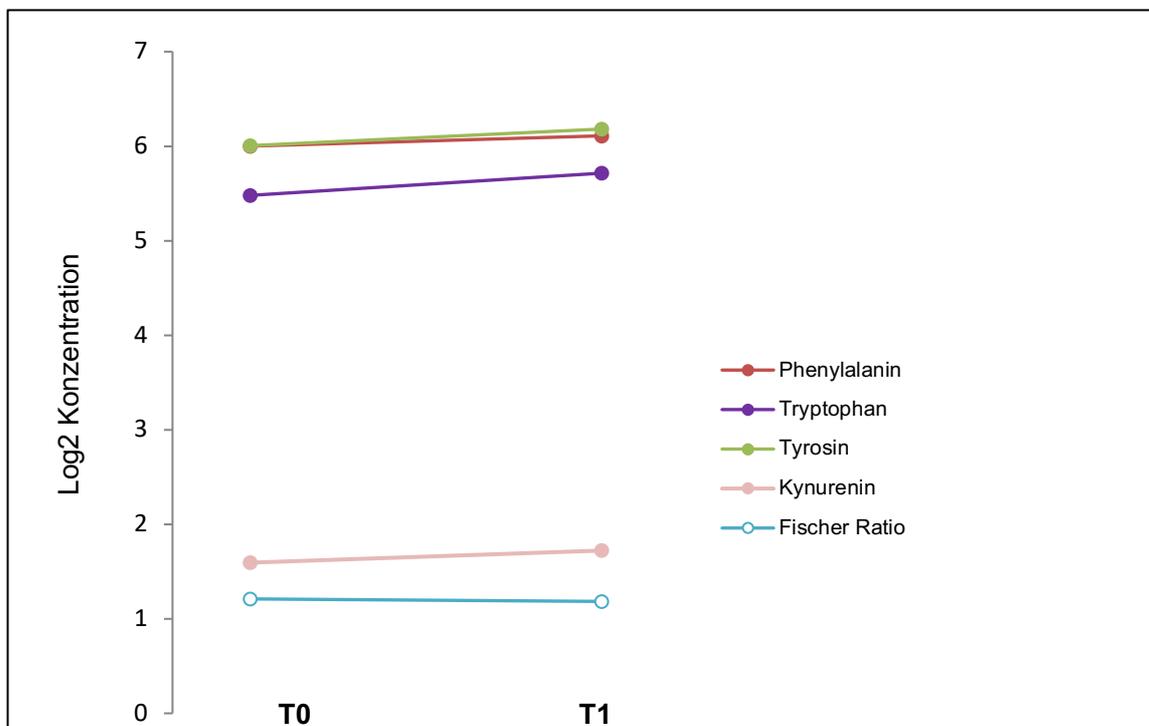
	<b>Metabolit</b>	<b>p-Wert</b>	<b>FDR</b>	<b>Beta</b>	<b>Std. error</b>	<b>t-Wert</b>
1	Isoleucin	0,2373	0,2670	0,072	0,060	1,198
2	Leucin	0,5757	0,5757	0,030	0,053	0,564
3	Valin	0,1698	0,2547	0,053	0,038	1,396
4	<b>Phenylalanin</b>	<b>0,0060</b>	<b>0,0180</b>	<b>0,109</b>	<b>0,038</b>	<b>2,890</b>
5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

### 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.



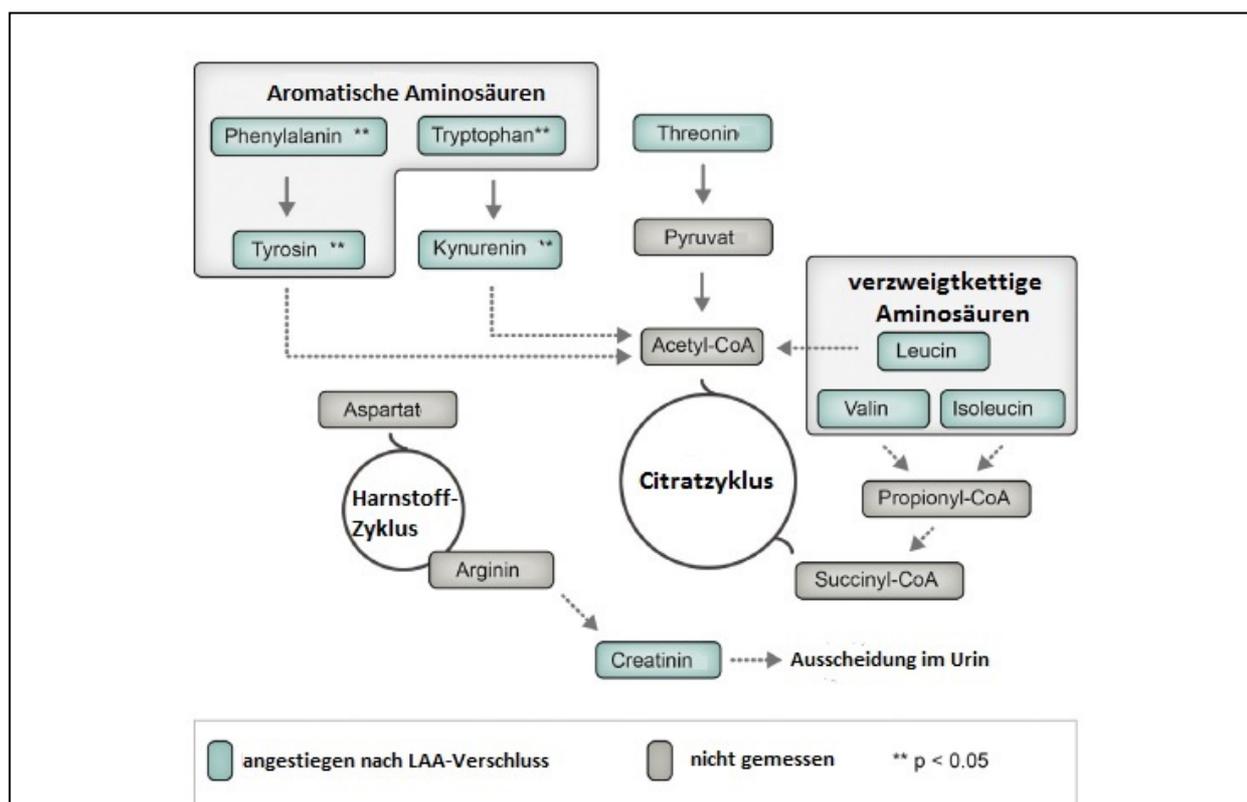
**Abbildung 11: Box-Plot-Darstellung der Aminosäuren mit signifikanter Veränderung und Fischer-Ratio vor (T0) und nach (T1) dem LAA-Verschluss. Daten sind als Mediane und 25. und 75. Perzentile (Box). Fischer-Ratio= BCAA/AAA. (BCAA, branched chain amino acids; AAA, aromatische Aminosäure).**



**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  $\alpha$ -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  $^3\text{H}$  oder  $^{14}\text{C}$  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  $^3\text{H}$  und  $^{14}\text{C}$  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  $^{13}\text{C}$  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<sup>+</sup> 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.

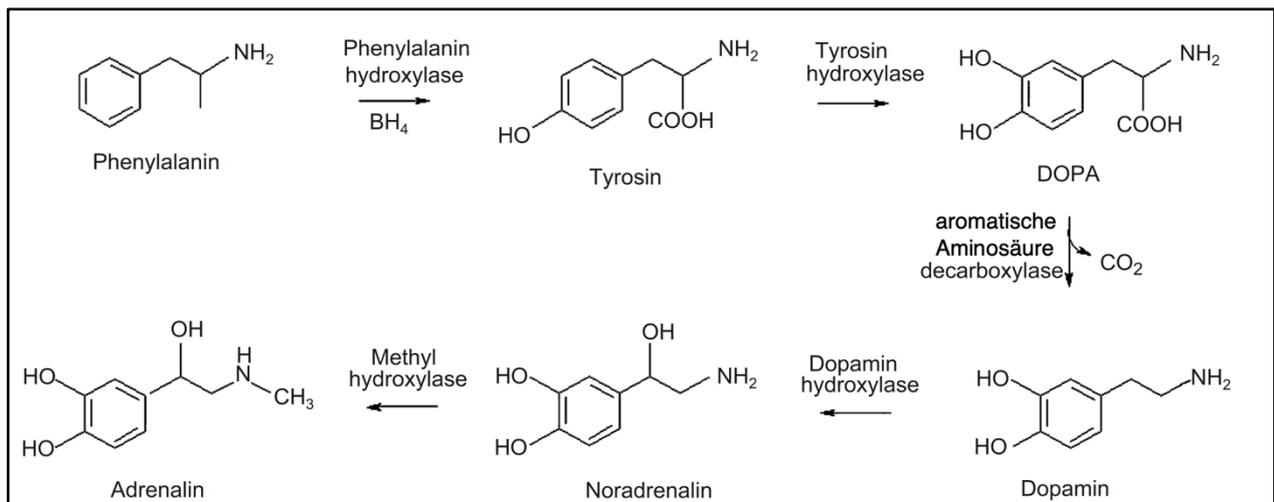
Mehrere Tierexperimente zeigten eine relevante Zunahme der Aminosäure Tyrosin unter hypoxischen Bedingungen als Hinweis auf eine zunehmende Proteolyse. (Peuhkurinen et al., 1983), (Taegtmeier et al., 1977)

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 (BH<sub>4</sub>) zurückgeführt werden. Der Kofaktor dient als Wasserstoffspender im Rahmen der enzymatischen Hydroxylierungsreaktion (**Abbildung 14**). Der oxidative Stress führt vermutlich zur Ausschöpfung des BH<sub>4</sub> 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 (BH<sub>4</sub>). Bei beiden enzymatischen Reaktionen wird BH<sub>4</sub> 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 BH<sub>4</sub>-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.

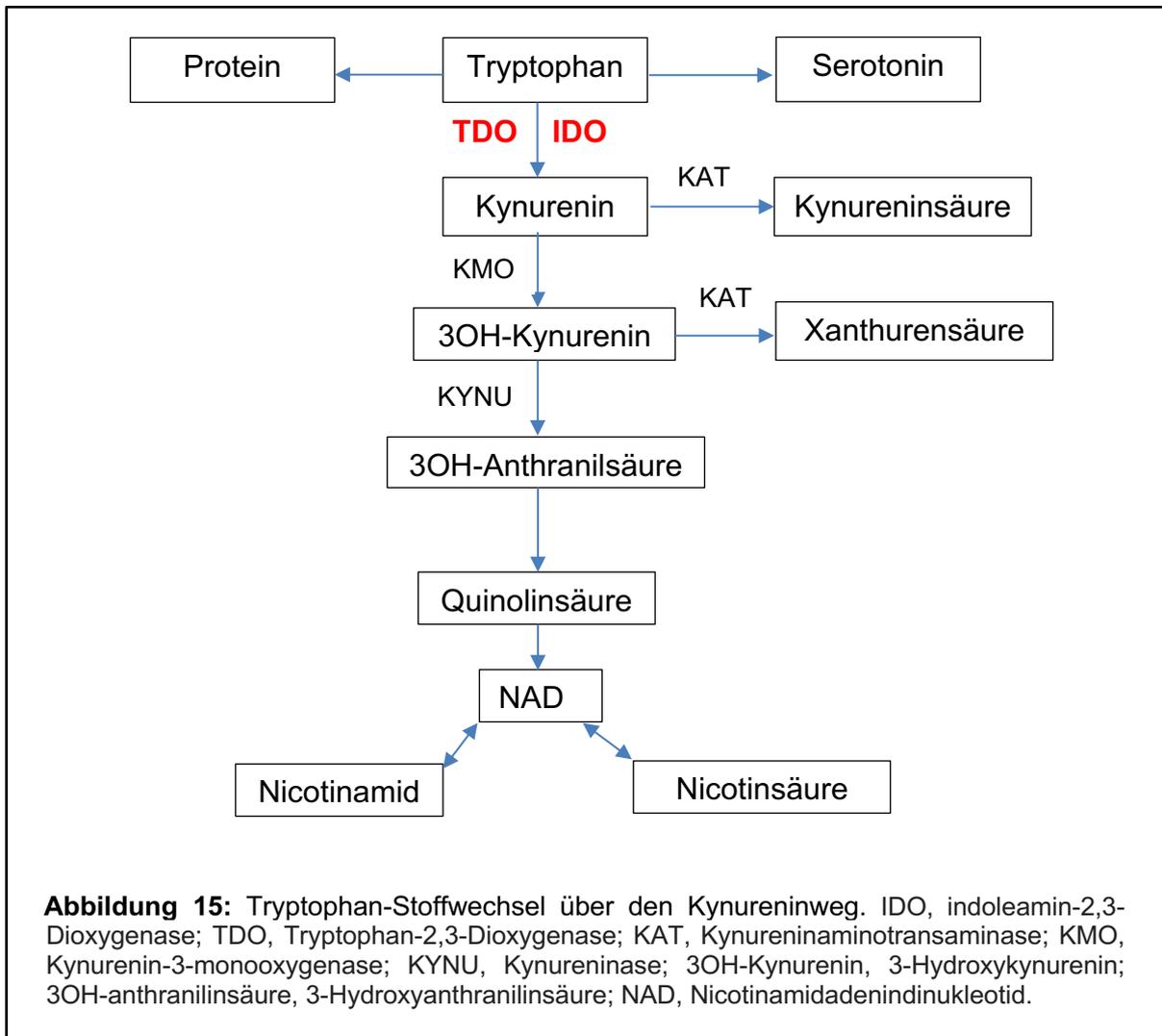
#### **4.4 Klinische und bioenergetische Bedeutung von Tryptophan und Kynurenin**

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- $\beta$ -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- $\gamma$  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- $\gamma$  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- $\gamma$ , 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 (<sup>13</sup>C-Kreatin) und verfolgten mittels Magnetresonanzspektroskopie die <sup>13</sup>C-Kreatin- und <sup>13</sup>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 µmol/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- $\gamma$ . 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 <sup>13</sup>C-4 creatine enables simultaneous assessment of creatine and phosphocreatine pools in human skeletal muscle by <sup>13</sup>C 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., Vasan, 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., Gruending, 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 Borggreffe, 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 Borggreffe, 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 Borggreffe, 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 Borggreffe, 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 Borggreffe, 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 Borggrefe 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.