

**Einfluss von Vorhofflimmern
auf zirkulierenden cellular communication network factor 1 als Marker kardialer
Fibrose**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von **Bouillon, Laura**
aus Bad Homburg

Gießen 2024

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Aus der Medizinischen Klinik I, Kardiologie

1. Gutachter: Prof. Dr. Keller, Till

2. Gutachter: PD Dr. Roller, Fritz

Tag der Disputation: 25. November 2025

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Vorhofflimmern.....	1
1.1.1	Definition, Epidemiologie und Klinik des Vorhofflimmerns	1
1.1.2	Pathophysiologie von Vorhofflimmern.....	5
1.1.2.1	Atriale Fibrose	8
1.1.3	Vorhofflimmern im Geschlechtervergleich	10
1.1.4	Diagnostik von Vorhofflimmern.....	10
1.1.5	Therapie von Vorhofflimmern	11
1.1.5.1	Frequenzkontrolle.....	12
1.1.5.2	Rhythmuskontrolle	12
1.1.5.2.1	Medikamentös.....	13
1.1.5.2.2	Elektrisch/Interventionell	13
1.1.5.2.2.1	Pulmonalvenenisolation	13
1.1.5.3	Orale Antikoagulation	16
1.2	Cellular communication network factor 1	19
1.2.1	Aufbau und Struktur.....	19
1.2.2	Physiologisches Vorkommen von CCN1.....	20
1.2.2.1	CCN1 im Geschlechtervergleich.....	20
1.2.2.2	CCN1 als Mediator der Angiogenese.....	21
1.2.3	Pathophysiologische Rolle von CCN1	21
1.2.3.1	CCN1 beim Akuten Koronarsyndrom.....	22
1.2.3.2	CCN1 in der Tumorgenese	22
1.2.4	Pro-& antifibrotische Funktionen von CCN1	23
2	Eigene Fragestellung zum Zusammenhang zwischen Vorhofflimmern und CCN1	24
3	Material & Methoden.....	25
3.1	Charakteristika der Patient:innen zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses.....	25

3.2	EKG-Definition von Vorhofflimmern.....	26
3.3	Klinischer Ablauf der Studie	27
3.4	Beschreibung ausgewählter Variablen	28
3.4.1	Ablauf der Pulmonalvenenisolation	30
3.4.2	Nachbeobachtung und Definition eines Vorhofflimmerrezidivs	30
3.5	Labortechnischer Ablauf	31
3.5.1	Serumproben	31
3.5.2	Proteinbiochemische Methoden für CCN1-Serumlevel.....	31
3.5.2.1	Verbrauchsmaterialien.....	32
3.5.2.2	Laborgeräte und weitere Materialien.....	33
3.6	Statistische Methodik	33
4	Ergebnisse.....	37
4.1	Charakteristika der Patient:innenkohorte zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses	37
4.1.1	Demografische Daten der Patient:innenkohorte	37
4.1.2	Vorhofflimmer-spezifische Charakteristika der Patient:innenkohorte	38
4.1.3	Serumspiegel von CCN1 bei Studieneinschluss	40
4.2	Charakteristika der Studienkohorte im Geschlechtervergleich	43
4.2.1	Alter und CHA ₂ DS ₂ VASc-Score im Geschlechtervergleich	43
4.2.2	Laborparameter bei Studieneinschluss im Geschlechtervergleich.....	43
4.3	Zusammenhang zwischen CCN1 und weiteren Laborparametern bei Studieneinschluss.....	44
4.4	Zusammenhang zwischen Vorhofflimmern und CCN1	45
4.5	Zusammenhang zwischen Pulmonalvenenisolation und CCN1	46
4.5.1	Einfluss stattgehabter Pulmonalvenenisolation auf CCN1	46
4.5.2	Einfluss der Pulmonalvenenisolation auf die Studienkohorte.....	47
4.5.2.1	Veränderung CCN1-Serumspiegel mit der Pulmonalvenenisolation....	47

4.5.2.2	Einfluss der Ablationstechnik auf CCN1-Serumspiegel einen Tag nach Pulmonalvenenisolation	48
4.6	Rezidivfreiheit nach Pulmonalvenenisolation	48
4.6.1	Zusammenhang von ausgewählten Variablen und dem Erfolg der Pulmonalvenenisolation	49
4.6.2	Abhängigkeit der Erfolgswahrscheinlichkeit der Pulmonalvenenisolation von CCN1-Serumspiegeln	50
5	Diskussion.....	52
5.1	Der <i>Biomarker CCN1</i> in Bezug auf das Alter	53
5.2	Der <i>Biomarker CCN1</i> und Vorerkrankungen.....	53
5.3	Geschlechterspezifische Aspekte zu dem <i>Biomarker CCN1</i>	55
5.4	Der <i>Biomarker CCN1</i> und weitere Laborparameter.....	56
5.5	Der <i>Biomarker CCN1</i> und Vorhofflimmern.....	57
5.5.1	Der <i>Biomarker CCN1</i> und die Art des Vorhofflimmerns	58
5.5.2	Der <i>Biomarker CCN1</i> und die Dauer des Vorhofflimmerns.....	59
5.6	Der <i>Biomarker CCN1</i> im Kontext der Pulmonalvenenisolation	60
5.6.1	Einfluss stattgehabter Pulmonalvenenisolation vor Studieneinschluss auf den <i>Biomarker CCN1</i>	60
5.6.2	Einfluss der durchgeführten Pulmonalvenenisolation auf den <i>Biomarker CCN1</i>	60
5.6.2.1	Betrachtung der Ablationsarten im Hinblick auf den <i>Biomarker CCN1</i>	62
5.7	Outcome der Pulmonalvenenisolation nach einem Jahr.....	63
5.7.1	Abhängigkeit der Vorhofflimmerrezidivfreiheit nach einem Jahr von ausgewählten Variablen	63
5.7.1.1	Assoziation von Ablationstechnik und dem Outcome der Pulmonalvenenisolation	63
5.7.1.2	Assoziation von Vorhofflimmerart und dem Outcome der Pulmonalvenenisolation	64

5.7.1.3	Assoziation von Vorhofflimmerdauer bis Studienschluss und dem Outcome der Pulmonalvenenisolation	64
5.7.1.4	Assoziation von bereits stattgehabten Ablationen und dem Outcome der aktuellen Pulmonalvenenisolation.....	65
5.7.2	Zusammenhang zwischen Vorhofflimmerrezidivfreiheit nach einem Jahr und dem <i>Biomarker CCNI</i>	65
5.7.2.1	Schätzung der Wahrscheinlichkeit der Vorhofflimmerrezidivfreiheit nach einem Jahr mithilfe des <i>Biomarkers CCNI</i>	66
5.8	Limitationen der Studie	66
5.9	Schlussfolgerung und Ausblick.....	67
6	Zusammenfassung.....	68
7	Summary	69
8	Abkürzungsverzeichnis.....	70
9	Abbildungsverzeichnis.....	71
10	Tabellenverzeichnis	72
11	Literaturverzeichnis	73
12	Anhang.....	88
13	Publikationsverzeichnis	89
14	Ehrenwörtliche Erklärung.....	90
15	Tabellarischer Lebenslauf.....	91

1 Einleitung

1.1 Vorhofflimmern

1.1.1 Definition, Epidemiologie und Klinik des Vorhofflimmerns

Vorhofflimmern (VHF) ist die häufigste Herzrhythmusstörung in Deutschland mit einer Prävalenz von rund 1,6 Mio. Menschen, was ca. 2% der deutschen Bevölkerung entspricht⁹. Das Krankheitsbild VHF wurde erstmalig 1909/1910 von Lewis, Rothberger und Winterberg beschrieben⁶⁷. Doch bereits im Jahre 1827 konnte Robert Adams ein gemeinsames Auftreten von unregelmäßigem Puls und einer Mitralklappenstenose beschreiben. Durch die Erfindung der Elektrokardiographie William Einthovens Anfang des 20. Jahrhunderts konnte dann jener irreguläre Puls aufgezeichnet und in einem Elektrokardiogramm (EKG) verbildlicht werden⁷³.

Das VHF ist definiert als eine im EKG detektierbare unregelmäßige (in Abbildung 1 mittels Pfeilabständen dargestellt) supraventrikuläre Herzrhythmusstörung, die zu Vorhoffrequenzen von 350-600/min führt. Merkmal sind irreguläre RR-Intervalle und fehlende P-Wellen im EKG, wobei isoelektrische Flimmerwellen insbesondere in Ableitung V1 (in Abbildung 1 mit roten Kreisen markiert) auftreten können¹¹.

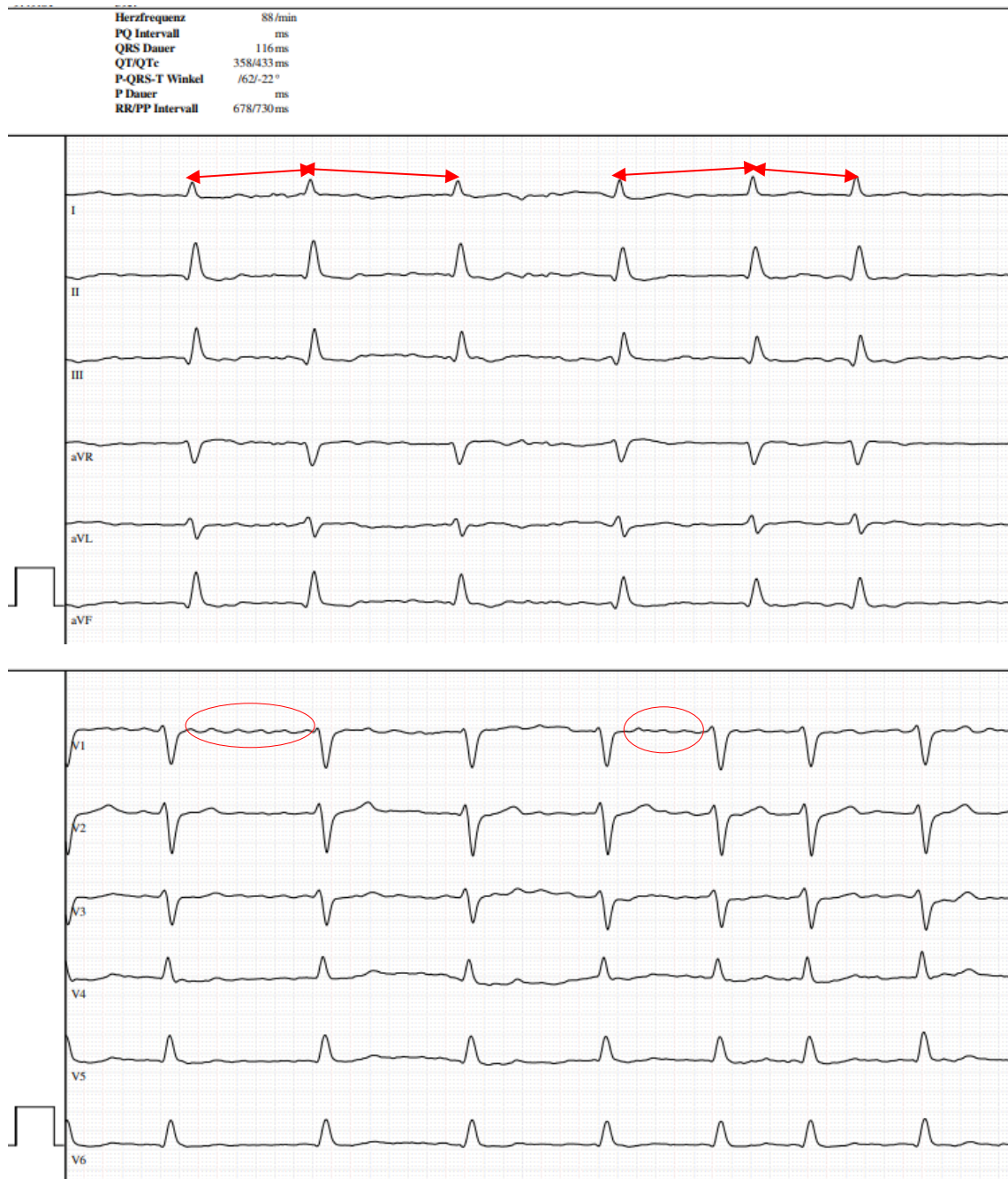


Abbildung 1: EKG eines/r Patient:in aus der Studienkohorte mit Vorhofflimmern

Bei einer mittleren Herzfrequenz von über 110 Schlägen/min spricht man von Tachyarrhythmia absoluta, liegt die Herzfrequenz bei unter 60 Schlägen/min nennt man die Herzrhythmusstörung Bradyarrhythmia absoluta²⁰. Diese kann vor allem nachts auftreten oder in Kombination mit einem bestehenden AV-(atrioventrikulären)Block.

VHF kann in vier Kategorien eingeordnet werden, die Einteilung erfolgt hierbei nach der Dauer des VHF, wie in untenstehender Tabelle dargestellt¹¹.

Tabelle 1: Typen von Vorhofflimmern mit Angabe der jeweiligen Dauer

	paroxysmal	persistierend	lang-anhaltend persistierend	permanent
<i>Dauer</i>	≤ 7 Tage	> 7 Tage	> 1 Jahr	∞

Oftmals entwickelt sich aus der paroxysmalen Form die persistierende. Die permanente Form steht am Ende von VHF und wird als nicht konvertierbar betrachtet und ist somit von Patienten- und ärztlicher Seite akzeptiert. Diese Form ist also eher anhand der Meinung, das VHF nicht in den Sinusrhythmus konvertieren zu wollen, definiert.

In den aktuellen Leitlinien der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie, engl. European Society of Cardiology (ESC), von 2020 wird ein 4S-Schema vorgeschlagen, welches Schlaganfallrisiko, Symptomschwere, Fibroselast (severity of AF burden) und Substratlast beinhalten soll. Aufgrund derzeit fehlender klinischer Evidenz ist dieses Schema im klinischen Alltag jedoch noch nicht etabliert¹¹.

Aufgrund einer deutlichen Zunahme der Prävalenz von VHF mit dem Alter der Patient:innen (Pat) wird durch den demographischen Wandel eine Zunahme an VHF Erkrankter erwartet. „Bis zum Jahr 2030 rechnet man in der Europäischen Union mit 14–17 Mio. [VHF-]Patient[:inn]en und pro Jahr mit 120.000–215.000 Neuerkrankten“¹². Kornej et al. konnten mittels Auswertung von Daten der Framingham Heart Study erkennen, dass die weltweite Prävalenz in den letzten 50 Jahren um das Dreifache angestiegen sei – 2016 sollen geschätzte 46,3 Millionen Menschen weltweit an VHF gelitten haben³¹. Man vermutet, dass dieser Umstand auf mit dem Alter assoziierter Fibroseentwicklung beruht¹¹.

Das Entstehen von VHF ist dabei meist mit anderen chronischen Vorerkrankungen wie arterieller Hypertonie, Herzklappenerkrankungen, chronischer Herzinsuffizienz, Koronarer Herzkrankheit (KHK) und Diabetes mellitus assoziiert.

Klassisch erfolgte die Einteilung in valvuläres und nicht-valvuläres VHF: Die valvuläre Form lag vor bei Mitralklappenstenose bzw. nach mechanischem Herzklappenersatz, wobei sich bei dieser Form ein höheres Risiko thromboembolischer Ereignisse fand im Vergleich zur nicht-valvulären Form. Weitere beeinflussbare Risikofaktoren sind Adi-

positas, obstruktive Schlafapnoe, Schilddrüsenerkrankungen und ein chronisch erhöhter Alkoholkonsum. Es konnte gezeigt werden, dass viele der genannten Risikofaktoren nicht nur zur VHF-Entstehung beitragen, sondern dieses auch chronifizieren lassen bzw. zu Rezidiven nach Therapie führen⁵.

Dementsprechend gilt es die kausalen Ursprünge frühzeitig adäquat zu therapieren, um das Risiko des Entstehens und eine weitere Progression von VHF zu verringern.

Klinisch kann sich VHF in vielen Fällen, laut den Guidelines der ESC von 2020 liegt der Anteil zwischen 50 und 87%, asymptomatisch zeigen¹¹. Diese Tatsache begünstigt eine Progression der Krankheit aufgrund von ausbleibenden Arztbesuchen durch die Pat und einer zufälligen Diagnosestellung bei Routineuntersuchungen. Daraus resultiert ein verzögerter Therapiebeginn. Falls Symptome bestehen, treten folgende v.a. bei der paroxysmalen Form auf: Palpitationen, Schwindel, Synkopen und Dyspnoe sind die am häufigsten beschriebenen klinischen Symptome. Zudem kann der/die Pat Fatigue bzw. Belastungsintoleranz beklagen, welche die Lebensqualität stark einschränken².

VHF kann einige Komplikationen mit sich bringen¹¹.

- Linksherzinsuffizienz durch ein verringertes Herzzeitvolumen, was bei unzureichender Vorhofkontraktion entsteht.
- Tachykardiomyopathie mit vergrößertem linken Ventrikel und Linksherzinsuffizienz bei Tachyarrhythmie.
- Emboliegeschehen, v.a. Hirnembolien über die Bildung von Vorhofthromben bei Blutstase im Vorhof. Man geht davon aus, dass Pat mit VHF ein fünffach erhöhtes Risiko für die Entstehung von Schlaganfällen haben. Dabei ist zu erwähnen, dass zwischen 20 und 30% der Schlaganfälle bei Pat mit vorbestehendem VHF entstehen². Es ist anzumerken, dass kardioembolische Schlaganfälle, welche durch VHF verursacht wurden, eine hohe Mortalität aber auch Morbidität im Sinne von Residuen (bleibende Behinderung) mit sich bringen¹¹.

1.1.2 Pathophysiologie von Vorhofflimmern

VHF ist eine supraventrikuläre Herzrhythmusstörung (meist Tachyarrhythmia absoluta), die durch isoliert auftretende elektrische Spontanentladungen v.a. im linken Vorhof charakterisiert ist. Durch die anatomische Nähe zu den Pulmonalvenen (PV) bilden sich kreisförmige elektrische Erregungen nahe des linken Vorhofohrs aus, die eine hämodynamisch unwirksame Vorhofkontraktion mit einer Frequenz von 350-600/min zur Folge haben. Durch die Filterfunktion des AV-Knotens wird nur ein Teil der Vorhof-erregung auf den Ventrikel übergeleitet⁵¹.

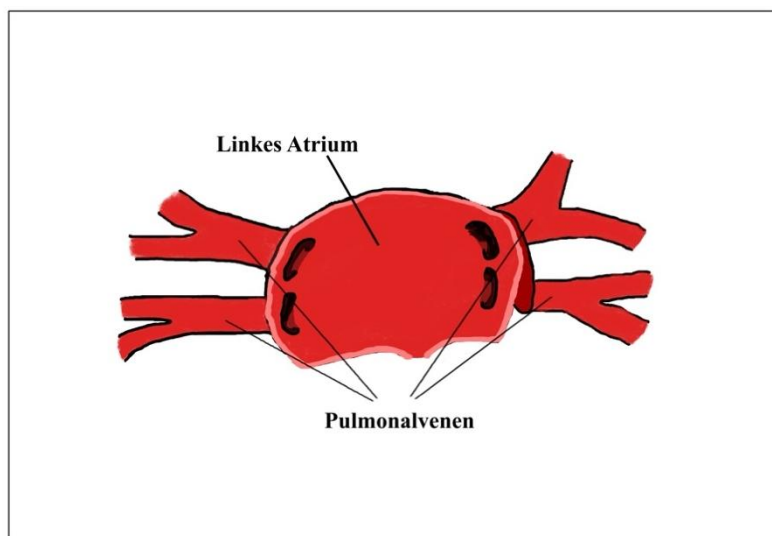


Abbildung 2: Linkes Atrium mit Darstellung der Lage der vier Pulmonalvenen

Ob VHF auch vom rechten Vorhof ausgehen kann, bleibt bislang noch ungeklärt. In einer Studie mit Pat mit Medikamenten-resistentem VHF konnte jedoch gezeigt werden, dass die Größe des Durchmessers des rechten Atriums, genauso wie beim linken Atrium, positiv mit der Wahrscheinlichkeit eines Vorhofflimmerrezidivs korreliert⁸⁰.

Für die Entstehung des paroxysmalen VHF wird dabei ein bestimmter Trigger verantwortlich gemacht. Man vermutet, dass auftretende Entladungen unter anderem von Myozyten der PV ausgehen. Am Übergang vom linken Atrium in die vier PV reicht Muskelgewebe noch einige Zentimeter aus dem Atrium in die Venen hinein. Hierbei werden longitudinale Fasern der PV als Auslöser der Erregungen angesehen¹⁵. Grund dafür ist ein Ausstrom von Calcium aus abnormalen Kanälen des sarkoplasmatischen

Retikulums während der Diastole. Das führt wiederum zu einem Natriumeinstrom via $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher. Durch diese durch Ionenstrom entstehende Instabilität des Membranpotentials treten spontane Depolarisationen der Myozyten auf⁸. Der beschriebene Calciumausstrom wird unter anderem über eine Hyperphosphorylierung von Schlüsselenzymen wie der Proteinkinase A oder dem Ryanodinrezeptor Typ 2 ausgelöst. Durch das Vorkommen von heterogenen Repolarisationszeiten innerhalb der PV kann somit ein lokaler Reentry der Erregung aufrechterhalten werden⁷³.

Jedoch konnte gezeigt werden, dass bei länger bestehendem VHF, wie der persistierenden Form, eine Art „Calcium-silencing“ stattfindet. Dieser Mechanismus kann als Adaptation des sonst gesunden Vorhofs auf das Bestehen von VHF gesehen werden, wo es zunächst zu einem unkontrollierten Calcium-Ausstrom kommt¹⁶. Bereits nach 30 Minuten konnte eine Anpassung bei Calcium-Overload mittels Verkürzung der atrialen Refraktärzeit gezeigt werden⁷³. Von daher geht man auch davon aus, dass ein Persistieren des Flimmerns nicht durch Prozesse im Bereich der PV entsteht, sondern eher andere Areale im linken Atrium wie die posteriore Wand oder auch beispielsweise in der Vena cava superior (liegt vor der rechten oberen Pulmonalvene) dafür verantwortlich sind. Diese ektopen Areale scheinen zudem relevant für ein VHF-Rezidiv nach Pulmonalvenenisolation (PVI) zu sein. Hier konnte beobachtet werden, dass eine zirkuläre PVI bessere Erfolgsaussichten hat. Es werden zum einen ektope Foci eliminiert und zum anderen wird das Volumen, in dem sich die kreisenden Erregungen ausbreiten können, reduziert⁴⁰.

Beim Vergleich der Aktionspotenzialdauer von linkem Atrium und PV fällt auf, dass dieses in den PV kürzer ist. Das liegt daran, dass zum einen Kalium-Kanäle größer und zum anderen Calcium-Kanäle kleiner sind (Ionenkanalmodifikation)⁵. Dies hat zur Folge, dass auch die Refraktärzeit, in welcher die Myozyten sich in einem nicht erregbaren Zustand befinden, verkürzt wird. Dieses elektrische Remodeling im atrialen Bereich bringt viele kleine kreisende Erregungen mit sich, welche man im EKG als VHF beobachten kann⁶⁵. Durch das Auftreten von kleinen zusätzlichen Kaliumkanälen in den Myozyten der PV kommt es zu einer Verringerung des Ruhemembranpotentials. Dadurch werden Natrium-Kanäle inaktiviert⁵. Sobald also eine langsame Leitungsgeschwindigkeit und eine gleichzeitig verkürzte Refraktärzeit bestehen, kann es zum Reentry einer elektrischen Erregung kommen⁷³.

Zudem konnten in diversen Studien Zusammenhänge zwischen der Aktivität des autonomen Nervensystems (ANS) am Herzen und dem Auftreten von VHF aufgezeigt

werden: Relevant sei dabei vor allem das intrinsische ANS, welches vorwiegend parasympathische Nervenfasern beinhaltet, welche sich in Ganglion-Plexus sammeln. Vier der sieben großen Ganglion-Plexus befinden sich im linken Atrium an der Einmündung der PV⁵. In einer Studie konnte demonstriert werden, dass durch schnelles Pacing des linken Atriums, also auch des intrinsischen ANS, VHF initiiert werden kann. Es kommt hierbei zu einem elektrischen Remodeling im linken Atrium. Dabei konnte gezeigt werden, dass ein Wiederauftreten (bei der paroxysmalen Form) und ein Persistieren durch VHF selbst ausgelöst wird⁴⁴.

Auf dem Boden eines vulnerablen Substrats im Vorhof kann ein Re-Entry des anfänglichen Triggers ermöglicht werden. Durch eine Dilatation des linken Vorhofs im Rahmen struktureller Herzerkrankungen wie bei einer chronischen Herzinsuffizienz aber auch bei Herzklappenerkrankungen wie der Mitralklappenstenose kommt es zu diesem sogenannten Remodeling des Myokards. Dabei entsteht ein erhöhter Druck auf den Vorhof und es findet gleichzeitig eine Aktivierung des sympathischen Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) statt. Im Zuge dessen entwickeln sich unter anderem fibrotische Areale durch Aktivierung von Fibroblasten und den Einbau von Kollagenfasern. Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Vorhofflimmerlast („atrial burden“), welche mittels elektroanatomischem Mapping messbar ist, mit der Fibroselast im linken Vorhof korreliert³². Dass sich persistierendes VHF aus der paroxysmalen Form ergibt, konnte bislang nicht sicher nachgewiesen jedoch auch nicht ausgeschlossen werden⁷³. Jedoch wird vermutet, dass eine Umwandlung in die persistierende Form durch strukturellen und elektrophysiologischen Umbau in beiden Atria ausgelöst wird. Zu diesem Remodeling kommt es durch verschiedene Faktoren wie oxidativen Stress, Entzündung und Vorhofdehnung. Durch hohe atriale Frequenzen werden Fibroblasten aktiviert und es resultiert eine erhöhte Kollagen-Exprimierung⁵. Was außerdem beobachtet werden konnte, ist die Tatsache, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit einer therapeutischen Intervention wie der Katheterablation mit der Größe des linken Vorhofs sinkt, da bereits ein großer Anteil des Myokards durch Fibrose im linken Atrium verändert ist³².

Adipositas gilt als ein modifizierbarer Risikofaktor für VHF. Es kommt bei den Pat zu epikardialen Fettablagerungen. Es wird vermutet, dass gewisse Biomarker aus Fettzellen Fibrose und myokardiales Remodeling fördern und dadurch als Trigger von VHF dienen⁵.

1.1.2.1 Atriale Fibrose

Fibrose entsteht durch die Aktivierung von Fibroblasten. Diese spindelförmigen Zellen kontrollieren Struktur und Zusammensetzung der Extrazellulärmatrix (EZM). Durch verschiedene Trigger wie zum Beispiel mechanischen Stress (Dehnung von Gewebe) und Hypoxie kommt es zu einer Umwandlung von Fibroblasten in die profibrotisch wirkenden Myofibroblasten. Myofibroblasten entstehen demnach meist aus aktivierten Fibroblasten oder rekrutierten Fibrozyten. Um während der Wundheilung die Gewebsarchitektur aufrecht zu erhalten, bilden Myofibroblasten vermehrt EZM⁵⁷. Dieser Mechanismus schützt das sich regenerierende Gewebe zudem vor dem Eindringen von Keimen. Gleichzeitig haben Myofibroblasten kontraktile Eigenschaften und sind somit für die Bildung von Narbengewebe verantwortlich. Von daher ist es wichtig, den Prozess der Wundheilung kontrolliert ablaufen zu lassen, um Fibrosebildung zu vermeiden. Doch es kommt nicht nur zu einer Umwandlung von Fibroblasten. Diese sind außerdem für eine vermehrte Produktion profibrotisch wirkender Mediatoren verantwortlich. Dazu gehören Prokollagen, Fibronectin und Metalloproteinasen. Zudem sind in der Kaskade der Fibroseentstehung weitere wichtige Membranrezeptoren zu nennen, welche u.a. connective tissue growth factor (CTGF), Angiotensin II (AT II), platelet-derived growth factor (PDGF) und transforming growth factor-beta (TGF- β) binden⁵⁷.

Fibrose entsteht im Herzen, bei VHF v.a. im linken Vorhof, durch das RAAS. Relevant ist dabei das bereits erwähnte AT II, welches selbst über eine Aktivierung einer Proteinkinase (PAK1: p-21 activated kinase 1) vermehrt exprimiert wird. Über die Kaskade der Vorhofdehnung wird das RAAS aktiviert⁸⁸. Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Entstehung von VHF mit der Substanzbeschaffenheit des linken Vorhofs zusammenhängt. Aufgrund einer gewissen Fibroelast kann das VHF einfacher aufrechterhalten werden und chronifizieren. Dieses Fibrosesubstrat ist möglicherweise das Ergebnis einer sogenannten „fibrotic atrial cardiomyopathy“ (FACM). Die FACM kann milde bis schwere Formen annehmen⁵. Es kommt zu einer beide Atria betreffenden Degeneration von Myozyten und gleichzeitigem fibrösem Umbau des Gewebes²². Die Größe des Vorhofs ist hierbei ein entscheidender Risikofaktor für eine Fibroseentstehung⁶². Durch eine Mitralklappeninsuffizienz zum Beispiel im Rahmen einer Linksherzinsuffizienz kommt es zu Regurgitationen über der Mitralklappe, was zu einer Volumenbelastung des linken Vorhofs führt. Letztendlich ergibt sich daraus eine vermehrte Dilatation des linken Vorhofs. Dies stellt einen entscheidenden Auslöser der atrialen Fibroseentstehung dar⁵⁷.

In der DECAAF Studie von Marrouche et al. konnte mittels „late gadolinium enhancement“-MRT-Aufnahmen des Herzens bei Pat mit VHF vermehrt Fibrose im linken Atrium dargestellt werden. Da es bei Fibrose zu einer Zunahme von EZM kommt, zeigt sich eine Verzögerung des An- und Abflutens des Kontrastmittels im Herzen. Es wurde nicht nur ein Zusammenhang zwischen Fibroelast und VHF-Rezidivwahrscheinlichkeit nach Ablation festgestellt, sondern auch eine Korrelation zur VHF-Progression beobachtet⁴⁸.

Es wird zwischen zwei Fibrosegewebearten unterschieden:

- Reaktive oder auch interstitielle Fibrose erhöht den Kollagenfaseranteil zwischen Herzmuskelzellen, ohne die Architektur der Muskelbündel zu verändern. Die normalerweise die Kardiomyozyten umgebende dünne Gewebsschicht verändert sich zu einem dickeren Mantel aus Myofibroblasten.
- Verdrängende oder auch reparierende Fibrose ersetzt zerstörte Herzmuskelzellen mit Zellen der EZM und Fibroblasten. Dabei wird zwar eine Gewebskontinuität aufrechterhalten, jedoch die Struktur der Herzmuskelzellen verändert. Diese Form der Fibrose tritt unter anderem beim Myokardinfarkt auf. Vermutlich führt dieser zweite Fibrosetyp vermehrt zu einer Störung der elektrokardialen Überleitung und erschwert eine Rückbildung in einen regelmäßigen Sinusrhythmus⁵⁷.

Zudem konnte Nattel in seinen Experimenten feststellen, dass Fibrose vermehrt entsteht, wenn Calcium-Ionen über entsprechende Ionenkanäle in Fibroblasten strömen. Das intrazellulär ansteigende Calcium führt über eine Phosphorylierung zur Aktivierung einer Kinase („extracellular signal-related kinase“), die die Fibrosebildung begünstigt. Zum einen fließen, Rezeptor-gekoppelt via der Agonisten AT II und Endothelin, vermehrt Calcium-Ionen nach intrazellulär. Zum anderen kommt es in bereits fibrotischen Arealen im Vorhof zu einer Hochregulation von nach innen gerichteten Kaliumkanälen, welche zu einer Hyperdepolarisation des Membranpotentials führen. Über den Mechanismus des veränderten Membranpotentials fließen dadurch weitere Calcium-Ionen nach intrazellulär⁵⁷.

1.1.3 Vorhofflimmern im Geschlechtervergleich

Ko et al. konnten zeigen, dass Frauen in höherem Alter als Männer VHF diagnostiziert bekommen. Es konnten geschlechterabhängige Komorbiditäten beobachtet werden: Frauen leiden meist begleitend unter valvulären Herzerkrankungen, während Männer an einer KHK erkrankt sind³⁰.

Dies wird zum einen mit einer längeren Lebensdauer von Frauen begründet, zum anderen haben weibliche Hormone Einfluss auf die elektrophysiologischen Abläufe am Herzen. Bei Frauen liegt eine im Durchschnitt längere QT-Zeit von 10-20 ms im Vergleich zu Männern vor, was Einfluss auf die Entstehung von VHF haben kann. Man mutmaßt, dass ursächlich Androgene eine Verkürzung der Ventrikelrepolarisation bei Männern ab der Pubertät nach sich ziehen und somit die Entstehung von kreisenden Erregungen auslösen. Postmenopausal ist dieser schützende Effekt bei Frauen nicht mehr vorhanden, wodurch eine mit dem Alter steigende Inzidenz von VHF bei Frauen erklärt werden kann⁸¹. Ein hormonell bedingter Einfluss auf die Entstehung von VHF ließ sich zudem zeigen durch eine positive Korrelation zwischen der Anzahl stattgehabter Geburten und dem Auftreten von VHF. Durch eine wiederholte Wirkung inflammatorischer und veränderter hormoneller Prozesse v.a. auf das linke Atrium erklärt man sich diesen Umstand⁸¹.

1.1.4 Diagnostik von Vorhofflimmern

Wie bereits weiter oben beschrieben, wird VHF durch das Auftreten von unregelmäßigen, supraventrikulären Herzrhythmusstörungen beschrieben. Somit gilt das EKG weiterhin als primäres diagnostisches Instrument zur Detektion von VHF. Die Diagnose wird mittels 12-Kanal-Ruhe-EKG oder 1-Kanal-EKG-Ableitung über mindestens 30 Sekunden gestellt. Wearables sind dabei mittlerweile auch als Messmethode zulässig¹¹. Entsprechend den Empfehlungen der ESC Guidelines von 2020 besteht die Möglichkeit eines opportunistischen VHF-Screenings für Pat ab 65 Jahren. Dies könne mittels Puls-messung und einfachem EKG durchgeführt werden. Ein systematisches Screening hingegen sollte laut bei Pat ab 75 Jahren oder bestehendem erhöhten Schlaganfallrisiko erfolgen¹¹.

Nach Stellen der Diagnose VHF sollten laut den Guidelines der ESC von 2020 einige Schritte an Diagnostik durchgeführt werden, welche im folgenden Work-Flow-Diagramm dargestellt sind¹¹.

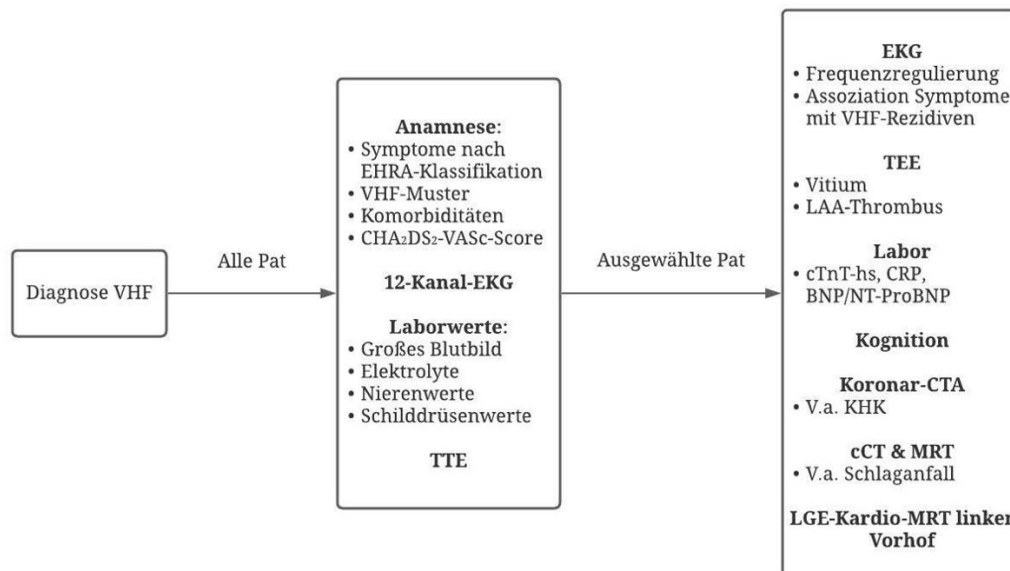


Abbildung 3: Workflow diagnostischer Schritte bei Vorhofflimmern

Von Diagnosestellung (1. Box) zu essenzieller Diagnostik (mittlere Box) zu fakultativer Diagnostik bei entsprechender Indikation (3. Box)

cCT: kraniale Computertomographie, CRP: C-reaktives Peptid, CTA: Computertomographische Angiographie, cTnT-hs: hochsensitives kardiales Troponin T, EHRA: European Heart Rhythm Association, KHK: Koronare Herzkrankheit, LAA: left atrial appendage (linkes Herzohr), LGE: late-gadolinium-enhancement, MRT: Magnetresonanztomographie, NT-proBNP: N-terminales pro brain natriuretic peptide, TEE: Transösophageale Echokardiographie, TTE: Transthorakale Echokardiographie

1.1.5 Therapie von Vorhofflimmern

In den ESC Guidelines von 2020 wird der „ABC pathway“ für die Therapie des VHF empfohlen. Dabei steht „A“ für die orale Antikoagulation („anticoagulation/avoid stroke“). „B“ steht für „better symptom management“, wozu unter anderem eine Frequenz- und Rhythmuskontrolle gehören. „C“ beinhaltet „cardiovascular and comorbidity optimization“¹¹.

Vor medikamentösem oder interventionellem Therapiebeginn sollte selbstverständlich der Lebensstil des Pat optimiert werden, was Nikotinkarenz, moderaten Ausdauersport

und Ernährung umfasst². Zudem können die Pat präventiv angehalten werden, den Puls gelegentlich selbst zu tasten und auf die oben genannten Symptome wie Palpitationen zu achten. Außerdem ist bei der Behandlung von VHF eine Verringerung von Risikofaktoren durch eine adäquate Therapie von Komorbiditäten (Blutdruckeinstellung, Schilddrüsenkontrolle) erforderlich⁵.

1.1.5.1 Frequenzkontrolle

Zuerst erfolgt die Frequenzkontrolle, da diese vornehmlich die Symptome des VHF mit sich bringt. Bei einer Tachyarrhythmia absoluta, wo das Therapieziel bei einer mittleren Herzfrequenz von unter 80 Schlägen pro Minute liegt, wird meist mit Betablockern wie Metoprolol oder Bisoprolol oder Non-Dihydropyridin-Kalziumantagonisten wie Verapamil therapiert. Beide Substanzklassen dürfen aufgrund der Gefahr eines AV-Blocks nicht miteinander kombiniert werden. Die Auswahl der Substanz erfolgt unter Berücksichtigung der Komorbiditäten¹¹.

Die ESC sieht das strikte Erreichen einer Herzfrequenz von unter 80 Schlägen pro Minute in den Leitlinien von 2020 eher kritisch. Eine Herzfrequenz unter 110 Schlägen pro Minute kann ausreichend sein, wenn darunter die Symptome der Pat kontrolliert sind¹¹.

1.1.5.2 Rhythmuskontrolle

Anschließend folgt eine Rhythmuskontrolle (in den Sinusrhythmus) welche entweder medikamentös oder mittels EKG-getriggter Elektrokardioversion durchgeführt wird. Diese dient vorrangig einer Symptomlinderung und Besserung der Lebensqualität¹¹.

1.1.5.2.1 Medikamentös

Dabei stehen Klasse-Ic-Antiarrhythmika wie Flecainid zur Verfügung. Bei Pat mit begleitender Herzinsuffizienz wird zur Rhythmuskontrolle Amiodaron angewandt¹⁷. Dabei sollten täglich 600 bis 800mg oral in Tablettenform eingenommen werden, bis eine Gesamtdosis von 10g erreicht wird. Dies hat zur Folge, dass zum einen regelmäßig EKGs geschrieben werden müssen (oder eine dauerhafte EKG-Überwachung vorliegt) und zum anderen Spiegelkontrollen durchgeführt werden müssen aufgrund der Gefahr einer QT-Zeitverlängerung und damit der Entstehung von Torsades-de-pointes-Tachykardien⁷¹.

1.1.5.2.2 Elektrisch/Interventionell

Eine elektrische Kardioversion erfolgt mittels biphasischem Defibrillator unter Sedierung des Pat. Soll eine elektrische Kardioversion erfolgen, müssen bei einem länger als 48 Stunden bestehenden VHF Thromben mittels transösophagealem Herzecho (TEE) im linken Vorhof ausgeschlossen werden. Eine andere Möglichkeit zur Thrombembolieprophylaxe stellt eine dreiwöchige Einnahme von Antikoagulanzen dar¹¹.

Diese Maßnahme dient als Schlaganfallprophylaxe. Durch eine unzureichende Vorhofkontraktion und eine daraus entstehende Blutstase können sich vor allem im linken Herzohr kardiale Thromben bilden, die dann mittels Blutstroms ins Gehirn fortgeleitet werden können.

1.1.5.2.2.1 Pulmonalvenenisolation

Die PVI ist ein ablatives Katheterverfahren, bei dem mittels Hochfrequenzstrom (HF) oder Kryo-Technik eine therapeutische bzw. künstliche Fibrose an den Mündungen der PV erzeugt wird. Aufgrund der anatomischen Nähe und dem daraus resultierendem Überlappen von Kardiomyozyten des linken Vorhofs in die proximalen Anteile der PV ist die PVI eine vielversprechende ablativ Therapieoption. Das Ziel ist eine Beendigung von kreisenden Mikroerregungen und ein persistierender Sinusrhythmus (Rhythmuskontrolle)⁵.

Bei beiden Verfahren wird dem/der sedierten Pat ein Katheter mittels Seldinger-Technik über eine Vene (meist die Vena femoralis) bis in den linken Vorhof vorgeschoben. Dabei wird das Vorhofseptum punktiert. Es erfolgt ein elektroanatomisches Mapping mittels Röntgenkontrastmittelverfahren oder mittlerweile üblicher ein 3D-Mapping (CARTO 3 System) mittels erzeugter magnetischer Felder und zugehörigen Sensoren an der Katheterspitze⁶³.



Abbildung 4: Vergleich von Hochfrequenzstrom- (links) und Kryoablation (rechts) als interventionelle Therapie bei Vorhofflimmern

Beim Einsatz eines Kryoballonkatheters versucht man die pulmonalen Venen mit dem Ballon an der Katheterspitze vollständig zu verschließen bzw. abzudichten. Dann kann gasförmiges Kühlmittel (oft Stickstoff) mit Temperaturen unterhalb von -40°C insuffliert werden, wodurch das vom Ballon berührte Gewebe kreisförmig verödet wird⁸². Man setzt dadurch eine künstliche Narbe oder auch Fibrose, die eine Reizweiterleitung von den PV auf das linke Atrium verhindern soll.

Ein weiteres etabliertes Verfahren ist die HF-Ablation⁴⁹. Vor der Prozedur werden dabei das linke Atrium dreidimensional gemappt und die Lage der Pulmonalvenenostien markiert, um genau dort HF am vorhofnahen Myokard zu applizieren. Es wird darauf geachtet, eine Temperatur von 50°C bei maximal 30 Watt nicht zu überschreiten, um eine Pulmonalvenenstenose als mögliche Komplikation zu vermeiden¹⁵. Durch diese Ablation trennt man den linken Vorhof elektrophysiologisch von den PV, um eine Weiterleitung von elektrischen Signalen aus den PV zu verhindern. Dieses Verfahren kann eine sehr

gute kurative Therapieoption bei Pat mit VHF darstellen, wobei angegebene Erfolgsquoten in der Literatur stark variieren und von der Dauer des VHF und anderen Komorbiditäten abhängen.

In einer großen Studie der European Heart Rhythm Association (EHRA) wurde bei vornehmlich durchgeführter Radiofrequenzstromablation eine Ein-Jahres-Erfolgsquote von 50-60% beobachtet. Das Ziel einer HF-Ablation sollte es sein, eine transmurale Wirkung zu erzeugen, um VHF erfolgreich zu verhindern⁵. Jurcevic et al. differenzierten zwischen den VHF-Arten, wobei Langzeit-Erfolgsquoten von 62–79,5% bei paroxysmalem und 46,2–68,2% bei persistierendem VHF angegeben wurden²⁶.

Es wird zwischen zwei Arten von VHF-Rezidiv unterschieden⁵⁶:

- Die frühe Form tritt innerhalb der ersten drei Monate nach PVI auf. Man spricht von der sogenannten Blanking-Periode, in der ein auftretendes Rezidiv auch durch den Eingriff der Ablation an sich auftreten kann. Erst nach dieser Phase sind Narbenbildung und Ausheilung des ablatierten Vorhofs abgeschlossen, weswegen man diesen Zeitpunkt zur Bewertung des Ablationserfolgs wählt³⁵. Dieses Phänomen beruht vermutlich auf einer vorübergehenden Entzündung des Gewebes im linken Vorhof und konnte von Mujović et al. bei 30-70% der Pat beobachtet werden⁵⁶.

- Die späte Form bezeichnet ein VHF-Rezidiv in der Zeit zwischen drei und zwölf Monaten nach PVI.

Bei beiden Varianten muss eine VHF-Episode (atriale Tachyarrhythmie) von über 30 Sekunden am Stück im EKG nachgewiesen werden, wobei der/die Pat auch symptomlos sein kann. Es konnte beobachtet werden, dass eine Ablation eher als nicht erfolgreich bewertet wurde, wenn Rezidive in der früheren Phase aufgetreten sind⁵⁶.

Zu Vorhofflimmerrezidiven nach PVI kann es aus verschiedenen Gründen kommen: Zum einen kann es sein, dass bei der PVI keine vollständige Trennung der PV vom linken Atrium stattgefunden hat oder sich elektrische Bahnen zurückgebildet haben. Dadurch können elektrische Ströme weiterhin oder wieder fließen, was das VHF aufrechterhält. Zum anderen kann es auch zu akut inflammatorischen Veränderungen oder einer Veränderung des Gewebes im Vorhof, im Sinne einer Fibrosebildung, kommen⁵.

Nach interventioneller Katheterablation erhält jeder/jede Pat eine mindestens zwei-monatige Antikoagulation, um das Risiko einer Thrombusentstehung aufgrund ablationsbedingter Läsionen im Vorhof zu minimieren³⁵. Mögliche periprozedurale

Komplikationen umfassen u.a. Herztamponaden, Schlaganfälle und atrio-ösophageale Fisteln bei Perforation⁵⁶.

1.1.5.3 Orale Antikoagulation

Zur Risikostratifizierung des Auftretens von einem ischämischen Schlaganfall bei VHF wird aktuell durch die ESC (2020) die Nutzung eines Risikoscores, der CHA₂DS₂-VASc-Score, empfohlen, welcher sieben Risikofaktoren beinhaltet¹¹.

Zur Nutzen-Risiko-Abwägung von Hirnembolie und der Gefahr einer intrakraniellen Blutung durch die Einnahme von Antikoagulanzen wird der genannte Score mit dem HAS-BLED-Score verglichen und meist eine adaptierte Antikoagulation begonnen¹¹. Bei einem HAS-BLED-Score von mind. drei Punkten und einem somit erhöhten Blutungsrisiko, wird in den neuen Leitlinien der ESC von 2020 empfohlen, modifizierbare Risikofaktoren zunächst zu reduzieren. Eine OAK müsse dann abgewogen werden¹¹.

In Tabelle 2 werden beide Scores mit den jeweiligen Risikofaktoren aufgeführt.

Tabelle 2: Vergleich von CHA₂DS₂-VASc Score (linke Spalte) und HAS-BLED Score (rechte Spalte) zur Evaluation der Notwendigkeit einer Antikoagulation bei Vorhofflimmern¹¹

CHA₂DS₂-VASc	<i>Punkte</i>	HAS-BLED	<i>Punkte</i>
Chronische Herz- insuffizienz o. linksventrikuläre Dysfunktion	1	Arterielle Hypertonie	1
Arterielle Hyper- tonie	1	Abnormale Funktion Niere &/o. Leber	1 o. 2
Alter mind. 75 Jahre	2	Schlaganfall	1
Diabetes mellitus	1	Blutungsneigung	1
Schlaganfall/TIA/ Thrombembolie	2	Labile INR-Werte (unter VKA- Therapie)	1
Vaskuläre Vorerkrankung wie KHK, pAVK	1	Alter > 65 Jahre	1
Alter 65-74 Jahre	1	Einnahme Thrombozytenaggregationshemmer, NSAR	1
Sex category: weiblich	1	Alkoholabusus	1
	Max.: 10		Max.: 9

KHK: Koronare Herzkrankheit, NSAR: Nicht-steroidale Antirheumatika, pAVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit, TIA: Transitorische ischämische Attacke, VKA: Vitamin-K-Antagonist

Ab einem CHA₂DS₂VASc-Score von eins bei Männern und zwei bei Frauen sollte eine orale Antikoagulation zur Schlaganfallprophylaxe erwogen werden. Es können neue orale Antikoagulanzen (NOAK) wie Apixaban (First-line Therapie bei nicht-valvulärem VHF) aber auch Vitamin-K-Antagonisten (VKA) verabreicht werden. Dabei sollte sich der INR-(International Normalized Ratio)Wert im Zielbereich von 2,0-3,0 befinden. Ab einem CHA₂DS₂-VASc-Score von zwei (Männer) bzw. drei (Frauen) profitieren die Pat hinsichtlich der Reduktion des Schlaganfallrisikos¹¹.

Ergänzend sind in der untenstehenden Tabelle die CHA₂DS₂VASc-Score-Werte mit den dazugehörigen Prozentangaben des jährlichen Schlaganfallrisikos aufgeführt¹⁴.

Tabelle 3: Abhängigkeit des jährlichen Schlaganfallrisikos (rechte Spalte) vom CHA₂DS₂-VASc Score (linke Spalte) bei Vorhofflimmern

<u>CHA₂DS₂-VASc-Score-Punktwert</u>	<u>Schlaganfallrisiko (jährlich in %)</u>
0	0
1	1,3
2	2,2
3	3,2
4	4,0
5	6,7
6	9,8
7	9,6
8	12,5
9	15,2

Bislang wird die Art des VHF in Schlaganfallrisikoberechnungen nicht mit aufgeführt, da es meist schwierig ist, die beim Pat bestehende Form des VHF zu benennen (bei meist unklarem genauem Beginn des VHF). Bertaglia et al. konnten jedoch zeigen, dass eine länger andauernde Episode von atrialen Hochfrequenzepisoden („atrial high-rate episodes“ (AHRE)), welche als Vorstufe von VHF gelten, mit einer höheren Rate an Schlaganfällen einhergeht³. Dies gilt es bei der Planung einer oralen Antikoagulation zu berücksichtigen.

Weiterhin wird in den ESC Leitlinien von 2020 die Option eines LAA-Occluders (Verschluss des linken Herzohrs, engl. „left atrial appendage“) v.a. bei Pat mit erhöhtem Blutungsrisiko genannt, um das Schlaganfallrisiko zu minimieren¹¹.

1.2 Cellular communication network factor 1

1.2.1 Aufbau und Struktur

CCN1, kurz für cellular communication network factor 1, früher auch bekannt als CYR61 (cysteine-rich angiogenic inducer 61) gehört zur Familie der matrizellulären CCN-Proteine (cysteine-rich 61 (CCN1), connective tissue growth factor (CCN2), nephroblastoma-1 (CCN3)). Es ist ein 41 kDa-schweres Polypeptid, das als Bestandteil der EZM vielmehr regulatorische als Struktur-gebende Aufgaben übernimmt³⁹. Es ist auf Chromosom 1p lokalisiert und enthält 381 Aminosäuren²⁴. Vor allem Cystein und Prolin sind führende Aminosäuren von Protein CCN1. Es besteht wie alle CCN-Proteine aus vier Untereinheiten: einem „insulin-like growth factor binding protein“, „von Willebrand factor type C“, „thrombospondin type-1 repeat module“ und einem „cysteine-knot-containing module“⁸⁹.

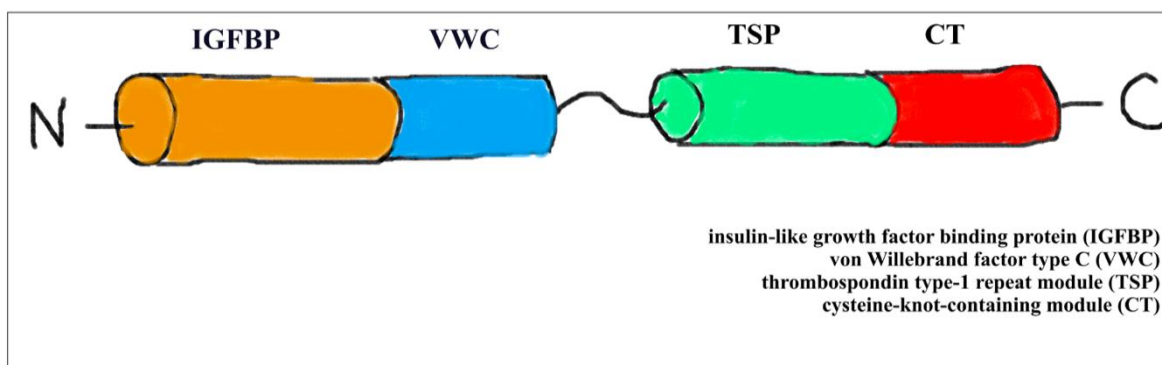


Abbildung 5: Proteinstruktur von CCN1 mit Darstellung seiner vier Untereinheiten

1.2.2 Physiologisches Vorkommen von CCN1

CCN1 fungiert als Mediator zwischen verschiedenen Zellen. Es dient der Regulierung des Zellzyklus: Eingeschlossen sind die Zelladhäsion, -proliferation, -differenzierung und -apoptose. Seine Wirkung entfaltet CCN1 über die Bindung von Heparansulfatproteoglykanen und Integrinen⁸⁹. CCN1 ist ein immediate early gene Produkt, welches durch verschiedene Wachstumsstimuli in Fibroblasten induziert wird^{59,89}. Stimuliert wird die vermehrte Genexpression von CCN1 durch Hypoxie, mechanischen Stress, Östrogeneinfluss und AT II⁸⁹. CCN1 wird in ruhenden Fibroblasten in geringem Maße exprimiert. Bei einer Aktivierung durch Serumwachstumsfaktoren wie zum Beispiel PDGF oder TGF- β 1 kommt es zu einer transkriptionellen Aktivierung von CCN1 innerhalb weniger Minuten³⁶.

1.2.2.1 CCN1 im Geschlechtervergleich

In einer Studie zu Hormon-abhängigem Brustkrebs, also mit positivem Östrogen- und/oder Progesteron-Rezeptorstatus, konnte ein Zusammenhang zu erhöhten CCN1-Serumleveln gezeigt werden. Außerdem wurde beobachtet, dass das Wiederauftreten hormonabhängigen Brustkrebses deutlich häufiger bei höheren CCN1-Spiegeln vorkam. Es konnte dabei eine Tendenz gezeigt werden, dass CCN1 bei Hormonrezeptor-positivem Brustkrebs zu einer Therapieresistenz führt, indem es die Tumorzellen gegenüber einer endokrinen Tumorthherapie widerstandsfähig macht⁵⁰. Auch im Rahmen einer Studie mit Endometriose-Patientinnen konnte ein erhöhter CCN1-Spiegel in vorliegenden Endometrioseherden nachgewiesen werden. Man geht davon aus, dass Estradiol zu einer Stimulation der vermehrten Expression von CCN1 geführt hat. Im Rahmen der Endometriose fungiert CCN1 wieder als proangiogenetischer Mediator, indem dieser Endothelzellen aktiviert und rekrutiert⁸⁷. Daraus entsteht die Überlegung, dass CCN1 womöglich auf die Ausschüttung weiblicher Hormone vermehrt exprimiert wird⁴. In einer Studie zu Serumleveln von zirkulierendem CCN1 konnte ein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Geschlechter festgestellt werden. Außerdem gab es lediglich bei Frauen eine signifikante Veränderung des CCN1-Levels mit dem Alter, was die Annahme von Li et al. eines Einflusses von weiblichen Hormonen auf die Expression von CCN1 erhärtete⁴¹.

1.2.2.2 CCN1 als Mediator der Angiogenese

Im Rahmen der Angiogenese kommt es zu einer Umstrukturierung der EZM. Um die Umgebung um ein neu entstehendes Gefäß vorzubereiten, findet eine Aktivierung des perizellulären Matrixproteins CCN1 statt. Dabei kommt es zu einer Art des „Weichmachens“ der Umgebung, um die Angiogenese einzuleiten. Die dabei entscheidende vermehrte Genexpression von CCN1 in Endothelzellen der Gefäße wird durch den Co-Aktivator Yes-associated protein (YAP) ausgelöst, sobald Stimuli wie mechanischer Stress oder Hypoxie auftreten. Diese Trigger kommen in ischämischen Zuständen durch Verletzung aber auch im Rahmen pathologischer Situationen also in der Tumorgenese vor³⁹. Bei einer CCN1-loss-Mutation kommt es zu Störungen in der Gefäßbildung, wobei angiogenetische Faktoren wie vascular endothelial growth factor (VEGF) vermindert exprimiert werden⁸⁷. Indem CCN1 an die Integrinrezeptoren $\alpha\beta3$, die größtenteils in Endothelzellen exprimiert werden, bindet, kommt es zur Angiogenese³⁶.

1.2.3 Pathophysiologische Rolle von CCN1

Im Rahmen von chronisch inflammatorischen Erkrankungen wie beispielsweise Rheumatoider Arthritis, Tumorerkrankungen und Lungenfibrose konnte eine erhöhte unkontrollierte Expression des extrazellulären Proteins CCN1 detektiert werden³⁷. CCN1 ist ein wichtiger Bestandteil von Inflammation, Wundheilung und Umbau der EZM³⁴. Man geht davon aus, dass die Proteine der CCN-Familie (v.a. hierbei CCN1- und -2) als Marker von Zuständen mit starker fibrotischer EZM, also dessen Umbildung in eine steife Form, dienen. Durch diesen mechanischen Stress auf das Gewebe würden CCN1 und -2 aktiviert werden und dadurch ihre pathophysiologische Wirkung entfalten³⁷.

Wichtige Triggerfaktoren im Rahmen von Inflammation sind unter anderem auch bakterielle und virale Infektionen, die zu einer vermehrten CCN1-Expression über eine Zytokinsekretion (Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interleukin-1 (IL-1)) führen. CCN1 fördert eine Adhäsion aktivierter Monozyten und führt außerdem zu einer proinflammatorischen Umprogrammierung von Makrophagen. Einen erhöhten Serumspiegel von CCN1 konnte man bereits bei Rheumatoider Arthritis und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa nachweisen³⁶.

Im Rahmen der Wundheilung in der Haut konnte bereits eine erhöhte CCN1-Expression im Granulationsgewebe nachgewiesen werden. Dadurch kommt es zu einer Seneszenz, also dem Einstellen des Wachstums der Zellen, der vorher aktivierten Myofibroblasten, um eine überschießende EZM-Produktion zu verhindern⁶⁸. Gleichzeitig wird vermindert Kollagen produziert, was für den Umbau der EZM benötigt wird. Sobald die Myofibroblasten den Status der Seneszenz erreicht haben, können diese von Natürlichen Killerzellen beseitigt werden. Durch diesen regulierenden Mechanismus von CCN1 soll Fibrose, also eine überschießende und auch chronische Wundheilung, vermieden werden³⁶.

1.2.3.1 CCN1 beim Akuten Koronarsyndrom

Es konnte gezeigt werden, dass die Serumlevel des Biomarkers CCN1 bei Pat mit Akutem Koronarsyndrom (AKS) erhöht sind²⁸. Dies wurde zurückgeführt auf eine Schädigung des Myokards, welche beim AKS (inbegriffen STEMI („ST-elevation myocardial infarction“), NSTEMI („non-ST-elevation myocardial infarction“ und instabile Angina Pectoris) entsteht und Teil des thrombotischen Prozesses ist. Daraus wurde abgeleitet, dass CCN1 im Rahmen von Thrombenbildung bzw. Fibrose vermehrt im Herzen ausgeschüttet wird. In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass CCN1 als Mediator der Seneszenzaktivierung von Myofibroblasten wirkt und somit eine überschießende Fibrosebildung verhindert. Diese Funktion von CCN1 führt dadurch zu einer verbesserten Regeneration von geschädigtem Myokard¹³.

1.2.3.2 CCN1 in der Tumorgenese

CCN1 wirkt Zelltyp- und Kontext-abhängig unterschiedlich bei Betrachtung seiner Rolle in der Tumorgenese. Zum einen führt CCN1 durch verschiedene Stimuli wie Hypoxie und Zellstress zu Angiogenese wodurch sich eine vereinfachte Invasion von Tumorzellen bei erkrankten Pat ergibt. Außerdem konnte eine Förderung der Proliferation, Invasion und Metastasenbildung von Tumorzellen durch CCN1 gezeigt werden. Diese

Tumorstadium-fördernden Effekte konnten unter anderem bei Tumorerkrankungen des Magens, der Brust und der Prostata nachgewiesen werden³⁶.

Zum anderen führt CCN1 aber auch zu Apoptose und Zellseneszenz, wobei p53 als entscheidender Faktor aktiviert wird. Es kommt zu einer Suppression vor allem der initialen Phase der Tumorgenese, indem verletzte Zellen nicht in Tumorzellen entarten. Diese schützenden Effekte von CCN1 konnten beim NSCLC („non-small-cell lung carcinoma“, nicht-kleinzelliger Lungenkrebs) nachgewiesen werden³⁶.

1.2.4 Pro- & antifibrotische Funktionen von CCN1

Jedoch ist weiterhin nicht klar, ob CCN1 den pro- oder antifibrotischen Proteinen zugehörig ist. CCN1 wirkt über vielzählige Mechanismen, die in der Forschung noch nicht vollständig erkannt worden sind. Es existieren Studien zur Rolle von CCN1 in verschiedenen Organsystemen bzw. unterschiedlichen Krankheitsbildern. Die Expression von CCN1 ist deutlich erhöht im Rahmen von Lungenkrankheiten wie beispielsweise der COPD („chronic obstructive pulmonary disease“, chronisch obstruktive Lungenkrankung), doch konnte man sich nicht einigen, ob dieser Marker zur Entwicklung der übermäßigen Fibroseentwicklung des Gewebes beiträgt oder diese versucht zu stoppen und erst durch den Reiz einer gewissen Fibroblast vermehrt ausgeschüttet wird⁸⁹. In einer Studie zu Lungenfibrose konnte festgestellt werden, dass CCN1 zu einer Erhöhung von TGF- β 1 führt und somit eine pro-fibrotische Rolle erfüllen würde³⁴. Auf der anderen Seite geht man davon aus, dass durch eine Induktion der Seneszenz von Myofibroblasten, die den dominierenden Zelltyp einer Fibrose darstellen, CCN1 via verschiedener Rezeptoren eine überschießende Fibrose bzw. Narbenbildung verhindert²⁵.

CCN1 dient als Marker von Fibrose³⁶. Man weiß, dass sich bei VHF Fibrosesubstrat bildet, welches hinsichtlich Progress und Rezidivwahrscheinlichkeit einen entscheidenden Faktor ausmacht⁷². Feng et al. konnten zeigen, dass CCN1 in geschädigten Kardiomyozyten vermehrt exprimiert wird. Es kam zu einer verstärkten Proliferation von Fibroblasten, wobei Kardiomyozyten zunächst verringert proliferierten¹³.

2 Eigene Fragestellung zum Zusammenhang zwischen Vorhofflimmern und CCN1

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Frage nach der Pathogenese von VHF und dem möglichen Zusammenhang zum Biomarker CCN1.

Die Idee der Untersuchung einer Bindung zwischen CCN1 und VHF entsteht aus der Tatsache, dass CCN1 als Fibrosemarker bekannt ist und atriale Fibrose einen wichtigen Teil der pathophysiologischen Kaskade bei VHF ausmacht.

Es sollen folgende drei Hypothesen überprüft werden:

- 1) Es besteht eine Abhängigkeit von CCN1-Serumspiegeln von der VHF-Last.
- 2) Es zeigt sich eine Veränderung von CCN1-Serumspiegeln durch eine PVI (künstlich erzeugte Fibrose). Anhand der Veränderung von CCN1 lässt sich die Erfolgswahrscheinlichkeit der Ablation (Outcome) vorhersagen.
- 3) Es besteht eine Geschlechtervarianz von CCN1-Serumspiegeln.

3 Material & Methoden

3.1 Charakteristika der Patient:innen zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses

Die vorliegende prospektive Registerstudie umfasste 155 Pat mit EKG-dokumentiertem VHF, was entweder paroxysmal oder persistierend vorlag. Die Pat erhielten im Zeitraum von August 2014 bis Dezember 2016 eine PVI in der kardiologischen Abteilung der Kerckhoff-Klinik in Bad Nauheim bei bestehender klinischer Indikation. Alle Pat wurden vor Einschluss in die Beobachtungsstudie schriftlich sowie im persönlichen Gespräch aufgeklärt und alle Studienteilnehmer:innen gaben eine schriftliche Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie.

Die bei klinischer Indikation durchgeführte PVI entsprach den zum Zeitpunkt der Durchführung bestehenden Empfehlungen der entsprechenden Fachgesellschaft.

Die Beobachtungsstudie wurde unter Einhaltung der Deklaration von Helsinki durchgeführt und von der Ethikkommission des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität im Rahmen des Biomarkerregisters BioReg beraten (s. Anhang 1).

Einschlusskriterium war zum einen die klinische Indikation für eine PVI bei vorliegendem VHF sowie ausreichend verfügbares Biomarkermaterial zur Messung von CCN1-Serumspiegeln. Weiterhin mussten die Pat zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses mindestens 18 Jahre alt sein.

Als Ausschlusskriterien für die vorliegende Arbeit galten ein Abbruch oder eine doch nicht durchgeführte Katheterablation aufgrund von intraprozeduralen Komplikationen ($N=2$) sowie eine alleinige Ablation des cavotrikuspidalen Isthmus bei Vorhofflattern ($N=3$; keine PVI) ($N=16$, bei ursprünglich 171 aufgeklärten Studienteilnehmer:innen). Eine bereits stattgehabte Katheterablation war kein Ausschlussgrund für die vorliegende Studie.

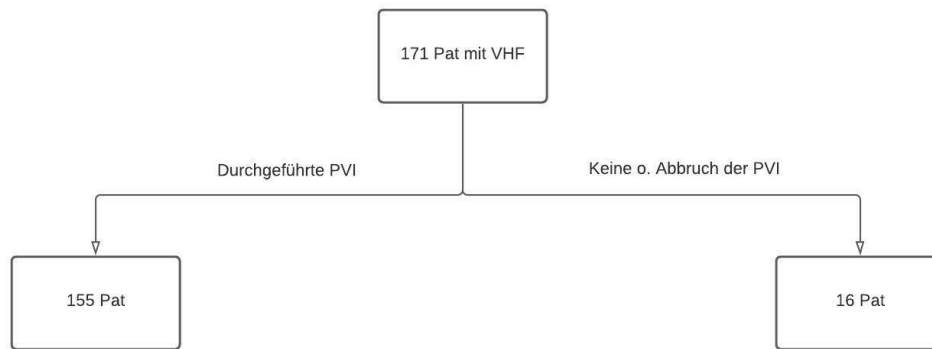


Abbildung 6: Erste Auswahl des Patient:innenkollektivs unter Berücksichtigung, dass eine Pulmonalvenenisolation durchgeführt wurde

3.2 EKG-Definition von Vorhofflimmern

Bei allen Studienteilnehmer:innen erfolgte vor Studieneinschluss die Ableitung eines EKGs nach klinisch gängiger Art entweder im Rahmen der ambulanten Behandlung innerhalb der Kerckhoff-Klinik oder bei Zuweisung im Rahmen der externen ambulanten Betreuung. Auf Basis der im Rahmen der Routinebehandlung erhobenen EKGs sowie klinischen Daten erfolgte sowohl die klinische Diagnosestellung als auch die Indikationsstellung zur invasiven Rhythmuskontrolle.

EKG-Kriterien zur Diagnosestellung beinhalteten ein unregelmäßiges R-Zacken-Intervall und fehlende P-Wellen, Flimmerwellen konnten in manchen EKGs beobachtet werden, waren jedoch nicht obligatorisch für die Diagnosestellung. Außerdem sollte die Erregungszeit im Vorhof weniger als 200ms betragen, falls diese im EKG sichtbar wurde. Eine VHF-Episode musste mindestens 30 Sekunden am Stück betragen, um als solche gewertet zu werden. Auch in der Auswertung eines möglichen VHF-Rezidivs wurde diese Zeit als Maß gewählt.

Die Kohorte konnte in zwei Gruppen mit entweder paroxysmalem oder persistierendem VHF aufgeteilt werden. Bei Pat mit paroxysmalem VHF musste zum Baseline-Zeitpunkt (BL) kurz vor der Katheterablation nicht zwingend ein VHF detektiert werden. Die Betrachtung der BL-EKGs, also jener kurz vor der PVI, stellte trotzdem einen wichtigen Anhaltspunkt für die spätere Datenanalyse dar.

3.3 Klinischer Ablauf der Studie

Für die PVI wurde entweder das Verfahren der Kryoablation ($N=112$; 72,26%) oder eine HF-Ablation ($N=43$; 27,74%) durchgeführt. Beide Methoden wurden nach üblichen klinischen Standards (Leitlinien-gerecht) in der Kerckhoff-Klinik in Bad Nauheim durchgeführt. Bei Vorliegen von Vorhofflattern wurde zusätzlich zur PVI eine Ablation des cavotrikuspidalen Isthmus vorgenommen ($N=20$; 12,90%). Der Studienablauf ist schematisch in Abbildung 7 dargestellt.

Von den genannten 155 Pat wurde 95 kurz vor der Ablation (BL-Serumlevel von CCN1) und einen Tag nach der Ablation (Follow-up Tag eins (FU1d)) aus einer peripheren Armvene Blut abgenommen. Bei den übrigen 60 Teilnehmer:innen wurde lediglich vor der Ablation ein BL-Serumwert von CCN1 bestimmt.

Informationen hinsichtlich Vorerkrankungen, Dauermedikation, Symptomen betreffend das VHF und allgemeine Daten der Pat wurden mittels Anamnesegespräch und/oder aus alten Arztbriefen erhoben. Außerdem wurden alle Studienteilnehmer:innen vor Ablation (BL), drei (Follow-up zwei bis vier Monate) und zwölf Monate (Follow-up zehn bis 14 Monate) später klinisch durch erfahrene praktizierende Ärzt:innen untersucht und im selben Aufenthalt ein 12-Kanal-Ruhe-EKG geschrieben. Beobachtetes Vorhofflattern im Ruhe-EKG wurde mit in die Gruppe der Pat mit VHF eingespeist (andere Gruppe mit Sinusrhythmus) aufgrund der Zugehörigkeit zu supraventrikulären Herzrhythmusstörungen. Des Weiteren erhielten 46 Pat im FU-Zeitraum (drei bis zwölf Monate) zusätzlich ein Langzeit-EKG.

Der Zeitpunkt von zwei bis vier Monaten als erster Zeitpunkt der VHF-Rezidivkontrolle wurde gewählt, da diese Zeitspanne der sogenannten Blanking Periode entspricht und das Ergebnis der Rhythmusauswertung sonst hätte verfälschen können. „Gemeinhin wird davon ausgegangen, dass solche Frührezidive – anders als Spätrezidive – auf vorübergehende lokale Entzündungsreaktionen im Vorhof infolge des Eingriffs zurückzuführen sind und im Zuge einer „Abheilung“ von selbst wieder verschwinden“⁵⁸.

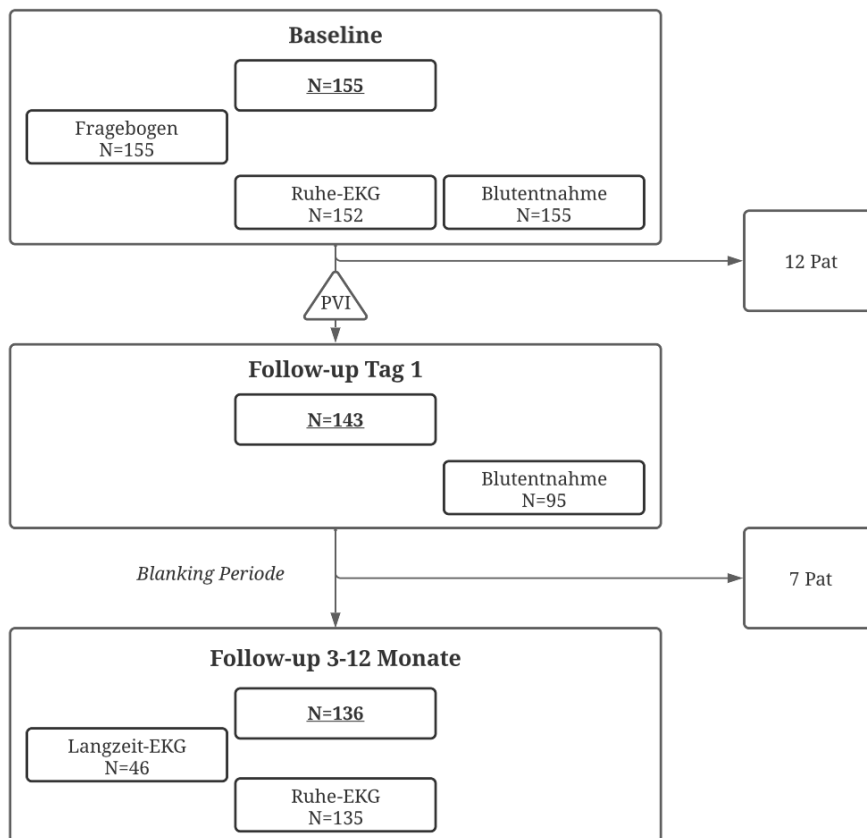


Abbildung 7: Studiendesign

Studieneinschluss (Baseline), Nachuntersuchung einen Tag und drei bis zwölf Monate nach Pulmonal-
venenisolation

N= Anzahl der Patient:innen zum jeweiligen Zeitpunkt

3.4 Beschreibung ausgewählter Variablen

Kardiovaskuläre Risikofaktoren wurden mittels Anamnese und vorliegender Arztbriefe dokumentiert, wobei Vorerkrankungen wie arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie und familiäre Vorgeschichte (u.a. ein stattgehabter Myokardinfarkt) mit einbezogen wurden.

Die Diagnose einer Herzinsuffizienz wurde aufgrund vergangener echokardiographischer Untersuchungen bzw. bereits bekannter Diagnose gestellt. Eine chronische Lungenerkrankung umfasste vorwiegend die Erkrankung COPD, es zählten insgesamt jedoch alle Erkrankungen mit pulmonalem Umbau dazu. Adipositas wurde definiert als Überschreiten des Body Mass Index (BMI) über 30 kg/m^2 , wie es auch von der Deutschen Adipositas Gesellschaft getan wird. Pat mit Raucheranamnese wurden dann als

Nichtraucher:innen eingeordnet, wenn diese mindestens ein halbes Jahr seit Studienbeginn nicht mehr geraucht haben, das heißt auch ehemalige Raucher:innen wurden in die Kategorie Nichtraucher:innen eingeordnet.

Die Variablen Krebserkrankungen in den letzten fünf Jahren und vor über fünf Jahren wurden zu einer allgemeinen Variablen mit Krebserkrankungen jemals zusammengefasst. Basierend auf einer ausführlichen Literaturrecherche wurden die folgenden Erkrankungen bzw. Lebensstile zum Vergleich mit CCN1-Serumleveln gewählt: Krebserkrankung³⁶, chronische Lungenerkrankung⁸⁹, Gewicht bzw. Adipositas⁵, Nikotinkonsum⁵³. Die genannten Faktoren konnten in anderen Studien bereits in Assoziation zu CCN1 gesetzt werden.

Der CHA₂DS₂VASc-Score wurde anhand der Indikation für eine orale Antikoagulation, welche bei beiden Geschlechtern ab einem Wert von mindestens 2 erwogen wird, gewählt und in der BL-Tabelle gezeigt. Zur besseren Analyse wurde der CHA₂DS₂VASc-Score mit dem Cut-Off-Wert von zwei und weniger als zwei Punkten verglichen.

Beim Vergleich der CCN1-Werte mit den jeweiligen CHA₂DS₂VASc-Score-Werten erfolgte eine Gruppierung von Score-Werten 0 und 1 miteinander, da bei diesem Score eine Antikoagulation bei Frauen nicht indiziert ist. Des Weiteren wurden die Werte 4 und 5 summiert, da sich das jährliche Schlaganfallrisiko auf ähnlich hohe Prozentwerte beläuft. Ein Pat mit dem Score-Wert von 6 wurde aus der Rechnung herausgenommen, da das Bild sonst stark verzerrt würde. Unter Annahme des CHA₂DS₂VASc-Scores als eine metrische Variable wurde eine Spearman-Korrelation zwischen dem Score und CCN1 BL-Serumwerten berechnet.

Die in der BL-Tabelle aufgeführte orale Antikoagulation umfasst die Einnahme von VKA oder NOAK.

Die Variable zu einer stattgehabten Cardioversion umfasst jene im letzten Jahr vor Studieneinschluss.

Es wurden neben CCN1 die Laborparameter Hämoglobin (Hb) (g/dl), C-reaktives Peptid (CRP) (mg/dl) und die glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) (ml/min) im Geschlechtervergleich betrachtet, da diese Parameter Standardlaborwerte sind und für eine Vergleichbarkeit der Kohorte mit der Allgemeinbevölkerung sorgen. CRP ist im akuten Entzündungsgeschehen im Serum erhöht und kann somit als orientierender Laborparameter im Sinne der Inflammation betrachtet werden.

3.4.1 Ablauf der Pulmonalvenenisolation

Zunächst erhielt der/die Pat eine Sedierung um anschließend im Katheterlabor der Kerckhoff-Klinik vorbereitet zu werden. Es folgte eine Punktion der Leistenvene, wobei ein Katheter über den rechten Vorhof geführt wurde. Durch eine Punktion des Vorhofseptums wurde die Katheterspitze in den linken Vorhof eingebracht. Für eine genauere Beurteilung der Lageverhältnisse der PV wurde mittels Röntgenkontrastmittel oder 3D-Mapping der linke Vorhof beurteilt. „Um die elektrische Leitfähigkeit zu überprüfen, w[u]rden sogenannte Spiral- oder Lasso-Katheter am Mündungsbereich der Lungenvenen platziert“³⁵. Die Wahl der Ablationsart (Kryo- oder HF-Technik) wurde individuell bei jedem/jeder Pat aus klinischer Sicht entschieden. Allgemein gilt die Kryo-Ablation jedoch als First-Line-Therapie, wohingegen die HF-Technik bei kränkeren Pat. angewandt wird⁶⁹. „Die[...] Ablation w[u]rd[e] an allen vier Lungenvenen durchgeführt (Triggerelimination), wobei meist eine sog. ipsilaterale Blockablation der linken und rechten Lungenvenen erfolgt[e]. Bei Pat. mit persistierendem VHF [waren] darüber hinaus mitunter zusätzliche Ablationen im linken Vorhof mit Anlage von Ablationslinien und fokalen Ablationen notwendig (sog. Substratmodifikation)“³⁵.

Die Dauer einer PVI lag meist zwischen zwei und vier Stunden, je nach Ablationstechnik und Komplexität der linksatrialen anatomischen Verhältnisse.

3.4.2 Nachbeobachtung und Definition eines Vorhofflimmerrezidivs

Zur Evaluation einer erfolgreichen Ablation erhielten die Studienteilnehmer:innen eine Nachbeobachtung, indem sie nach drei (zwei bis vier) und nach zwölf (zehn bis 14) Monaten nochmals einbestellt wurden. Mittels 12-Kanal-EKG wurden VHF-Rezidive erkannt und detektiert. VHF-Episoden, welche länger als 30 Sekunden am Stück anhielten, wurden als VHF-Rezidiv klassifiziert.

Bei 136 Pat (87,74%) konnte ein Follow-Up bis einschließlich ein Jahr nach Studieneinschluss durchgeführt werden. Hierbei erhielten die Studienteilnehmer:innen ein Ruhe-EKG sowie teils auch ein 48-Stunden-Langzeit-EKG zur Rezidivkontrolle.

Erst nach der sogenannten Blanking-Periode von ca. drei Monaten nach Ablation konnte der Erfolg des Eingriffs bezüglich VHF-Rezidivs beurteilt werden. Es wurde entweder ein einwöchiges-Langzeit-EKG aufgezeichnet oder die Pat erhielten einen Eventrekorder.

Falls keine der beiden Methoden verfügbar waren, bezog man sich auf ein 12-Kanal-Ruhe-EKG zur Rezidivbeurteilung.

3.5 Labortechnischer Ablauf

3.5.1 Serumproben

Nach erfolgter peripherer Blutentnahme im Zeitraum August 2014 bis Dezember 2016 wurde das Blut für fünf Minuten bei 18°C mit einer Geschwindigkeit von 3000g zentrifugiert, wobei eine zeitnahe Zentrifugation nach der Blutentnahme gewünscht war. Zur Lagerung der gewonnenen Serumproben wurden diese im Franz-Groedel-Institut in Bad Nauheim innerhalb von 120 Minuten nach Blutentnahme in Gefrierschränken bei -80°C verwahrt.

Routine-Laborparameter wie CRP und Hb wurden direkt im Rahmen der klinischen Routine im Anschluss an die Blutentnahme standardisiert im Zentrallabor der Kerckhoff-Klinik in Bad Nauheim bestimmt. Zur Bestimmung von CCN1-Serumleveln wurden die gelagerten Blutproben blockweise aufgetaut und im September 2019 analysiert.

3.5.2 Proteinbiochemische Methoden für CCN1-Serumlevel

Mittels semi-automatisiertem Enzym-gekoppelten Festphasen-Immunsorptionsassay (EIA-5108, DRG Instruments GmbH, Marburg) wurde der zu interessierende Serummarker CCN1 analysiert. Das Messprinzip beruht auf der Sandwichtechnik, wobei „[d]ie Wells der Mikrotiterplatten [...] mit einem monoklonalen Antikörper [...], der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des C[CN]1 -Moleküls gerichtet ist [, beschichtet sind]. Die Proben werden in die beschichteten Wells gegeben und mit einem Assaypuffer und Enzymkonjugat inkubiert. Das Konjugat enthält einen polyklonalen Kaninchen anti-C[CN]1 Antikörper. Das nicht gebundene Enzymkonjugat wird durch Waschen der Wells entfernt. Danach wird der Enzymkomplex in die Vertiefungen gegeben. Es handelt sich hierbei um einen Ziege anti- Kaninchen Antikörper, der an Meerrettich Peroxidase gebunden ist. Nicht gebundene Enzymkomplexe werden durch Waschen der Wells entfernt. Anschließend wird die Substratlösung zugegeben, und die Farbentwicklung

nach einer definierten Zeit gestoppt. Die Intensität der gebildeten Farbe ist proportional zu der C[CN]1-Konzentration in der Probe. Die Extinktion wird bei 450 nm mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät gemessen¹⁰. Vor jeder Messung musste die Serumprobe auf Raumtemperatur gebracht werden. Die vom Hersteller angegebenen Serummediane lagen bei 251,9 pg/ml bei Männern und 212,3 pg/ml bei Frauen.

3.5.2.1 Verbrauchsmaterialien

Im Folgenden eine Auflistung des Kitinhalts:

1. Microtiterwells, 96 Wells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar); Mit anti-CCN1 Antikörper (monoklonal) beschichtet.
2. Standard (Standard 0-5), 6 Fläschchen, lyophilisiert, je 1,0 mL; Konzentrationen: 0; 40; 100; 250; 500; 1000 pg/mL. Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
3. Control Low & High (Kontrollen), 2 Fläschchen, lyophilisiert, 1,0 mL; Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
4. Assay Buffer (Assaypuffer), 1 Fläschchen, 7 mL, gebrauchsfertig; Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
5. Enzyme Conjugate (Enzymkonjugat), 1 Fläschchen, 3 mL, gebrauchsfertig; Kaninchen Anti-CCN1 Antikörper. Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
6. Enzyme Complex (Enzymkomplex), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig; Ziege anti-Kaninchen Antikörper, mit Meerrettichperoxidase konjugiert, Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
7. Substrate Solution (Substratlösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig; Substratlösung TMB.
8. Stop Solution (Stopplösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig; enthält 0,5 M H₂SO₄
9. Wash Solution (Waschlösung), 1 Fläschchen, 30 mL, 40X konzentriert

3.5.2.2 Laborgeräte und weitere Materialien

Im Folgenden die Auflistung der erforderlichen Gerätschaften (nicht im Kit enthalten):

1. Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät mit 450 ± 10 nm Filter
2. Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
3. Saugfähiges Papier
4. Aqua dest.

3.6 Statistische Methodik

Die Daten der Patient:innenkohorte wurden in der institutsgekoppelten Datenbank REDcap abgespeichert, um dann in eine Tabelle des Computerprogramms Microsoft Excel (Version 16.85) formatiert zu werden. Die vorhandenen Daten wurden anschließend eigens in die Statistik-Software R-Studio Version 4.1.2 (Rstudio, Boston, MA, USA) übertragen und ausgewertet. Die erstellten Grafiken wurden mit genannter Statistik-Software und Microsoft Excel erstellt. Weiterhin wurden Skizzen mittels des Zeichenprogramms Krita (Version 5.0.2) ausgearbeitet und Diagramme mithilfe des Programms Lucidchart erstellt.

Die deskriptiven Daten wurden mittels absoluter und relativer Häufigkeiten sowie Mittelwert und Standardabweichung oder Median und Interquartilsabstand (*IQR*) dargestellt. Nominale Variablen wurden mithilfe von Kreuztabellen als absolute und relative (in Prozent) Häufigkeiten dargestellt. Mittels Chi-Quadrat- (alle Zelloberhäufigkeiten >5) oder Fisher-Test (Zelloberhäufigkeit <5) wurden die dichotomen Variablen auf statistische Unabhängigkeit untereinander geprüft. Die Effektstärke wurde mittels Phi-Koeffizient (ϕ) angegeben: Ein Koeffizient von 0,1 zeigte einen kleinen, von 0,3 einen mittleren und von 0,5 einen großen Effekt an. Φ konnte Werte zwischen -1 und 1 annehmen.

Die erhobenen Daten wurden mittels Shapiro-Wilk-Test (Annahme der Normalverteilung bei einem p -Wert $>0,05$) und grafischer Darstellung eines Histogramms bzw. Bildung Gauß'scher Kurven auf Normalverteilung geprüft.

Bei Vorliegen einer Normalverteilung wurden der Mittelwert (*M*) mit dazugehörigem 95%-Konfidenzintervall (*KI*) und die Standardabweichung (*SD*) angegeben.

Zur Überprüfung eines Zusammenhangs normalverteilter Variablen mit einer kategorialen Variablen wurde der Welch-t-Test (bei Vorliegen ungleicher Varianzen)

angewandt. Dabei wurde Cohen's d als Effektstärke angegeben: Werte zwischen 0,5 und 0,8 galten als mittelgradiger Effekt, darunter als kleiner, ab über 0,8 als großer Effekt.

Zur genaueren Beschreibung der nicht normalverteilten Merkmale wurden der Median (Mdn) (mit Minimum und Maximum) und der IQR angegeben. Dazu zählte unter anderem der untersuchte Fibrosemarker CCN1.

Der Mann-Whitney-U-Test (auch Wilcoxon-Rangsummentest) diente zum Vergleich zweier unabhängiger Gruppen (dichotome unabhängige Variable) zu einem metrischen Merkmal (abhängige Variable). Mittels Kolmogorov-Smirnov-Test wurden zunächst die Verteilungsformen beider Gruppen verglichen, wobei ein p -Wert $> 0,05$ eine gleiche Form bedeutete. Es wurden dementsprechend die Mediane (bei gleicher Form) oder die mittleren Ränge der Gruppen verglichen. Die Effektstärke wurde mit dem Pearson-Korrelationskoeffizienten r angegeben: Werte ab 0,3 beschrieben einen schwachen, ab 0,5 einen moderaten und ab 0,7 einen starken Effekt der Gruppe auf die Verteilung der abhängigen Variable. Relevant war hierbei lediglich der numerische Wert, wobei das Vorzeichen nur die Richtung des Unterschiedes angegeben hat.

Um einen Zusammenhang der Höhe des Serummarkers CCN1 zu beschreiben, wurden die Datenverteilungen einzelner Gruppen mittels Mann-Whitney-U-Tests verglichen.

Auch zum Vergleich weiterer nicht normalverteilter metrischer Variablen in Bezug auf das Geschlecht wurde ein Mann-Whitney-U-Test angewandt.

Zum Vergleich der verbundenen CCN1-Serumwerte zwischen BL- und FU1d-Zeitpunkt wurde ein Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test angewandt, da gepaarte Werte verglichen wurden.

Der Zusammenhang zwischen zwei mindestens ordinalskalierten Variablen wurde mittels Pearson- oder Spearman-Korrelation berechnet. Der Spearman-Korrelationskoeffizient ρ konnte Werte zwischen -1 und +1 annehmen, wobei negative Werte einen inversen und positive Werte einen positiven Zusammenhang darstellten. 0 bedeutete, dass kein monotoner (gemeinsame Veränderung beider Variablen bei Änderung) Zusammenhang bestand. Der Betrag des berechneten ρ wurde genommen, um die Korrelation zu quantifizieren: 0,3 bedeutete eine schwache, 0,5 eine moderate und 0,7 eine starke Korrelation beider Variablen. Aussage über die Richtung des Einflusses der Variablen aufeinander (Benennen der abhängigen und der unabhängigen Variablen) war mithilfe dieses Tests nicht möglich.

Die Stärke des Zusammenhangs zwischen metrischen Variablen und dem Marker CCN1 wurde mithilfe der Spearman Rangkorrelation geschätzt.

Mit der logistischen Regressionsanalyse wurde der Zusammenhang zwischen der Erfolgsquote der PVI (abhängige, nominal-dichotome Variable) und dessen Einflussfaktoren, maßgeblich CCN1 (unabhängige, metrische Variable), ermittelt.

Generell wurden logistische Regressionsmodelle zur Klassifizierung bei einer vorliegenden unabhängigen Variablen in eine der beiden Gruppen (meist „ja“ und „nein“) der abhängigen Variable genutzt.

Dabei wurden mithilfe des Statistikprogramms Receiver Operating Characteristic (ROC) Kurven erstellt, anhand derer eine graphische Darstellung des Zusammenhangs zweier Variablen festgestellt werden konnte. Das Programm errechnete eine Area under the curve (AUC), welche Werte zwischen 0 und 1 annehmen konnte. Ab einem AUC-Wert von 0,6 wurde von einer leichten, ab 0,75 von einer moderaten und ab 0,9 von einer starken prognostischen Fähigkeit der unabhängigen Variablen ausgegangen. Je näher der Graph an der Diagonalen lag, desto eher lag eine Zufallswahrscheinlichkeit vor. An den beiden Achsen konnten Sensitivität und Spezifität abgelesen werden. „Die [...] Sensitivität beschreibt den Anteil der durch den Test richtig erkannten Personen mit der fraglichen Erkrankung [...] zu allen Kranken [...]. Die Spezifität gibt den Anteil der durch den Test richtig negativ erkannten Personen an den Nicht-Erkrankten [...] wieder [...]“⁶¹. In dieser Arbeit wird mit Erkrankung die Erfolgsvariable (bzw. der EKG-Rhythmus) nach einem Jahr gemeint. Mittels ROC-Analyse kann dann ein Cut-Off-Wert bei hinreichend großer AUC bestimmt werden.

Optimal wäre ein zunächst senkrechter Anstieg der Kurve ab der x-Achse und ein anschließender horizontaler Verlauf gewesen. Nach Prüfung einer vorliegenden statistischen Signifikanz des Regressionsmodells wurde anschließend die Effektstärke berechnet, welche mittels AUC und Odds-Ratio beschrieben wurde.

Die angegebene Odds-Ratio zeigte bei Werten <1 eine negative und bei Werten >1 eine positive Assoziation der verglichenen Variablen an. Generell geben die Odds die Wahrscheinlichkeit für das Eintreten eines Ereignisses (hier „0“ oder „1“) an.

Das Signifikanzniveau wurde bei p-Werten unterhalb von 0,05 ($p \leq 0,05^*$) festgelegt, wobei $p \leq 0,001^{**}$ als hochsignifikant bewertet wurde.

Zur besseren Veranschaulichung der Daten wurden grafisch Box-Plots, Streudiagramme, Balkendiagramme, ROC-Kurven und eine Korrelationsmatrix genutzt. Die Box der Box-Plot-Diagramme zeigte die mittleren 50% der vorliegenden Daten einer metrischen Variablen, also den *IQR*. Der Median wurde als Balken innerhalb der Box gekennzeichnet. Die Whisker eines solchen Diagramms zeigten Minimum und Maximum

der Variable an. Ausreißer, welche sich über- bzw. unterhalb der 1,5-fachen Länge der Box befanden, wurden nicht dargestellt.

Die Daten zum BL-Zeitpunkt wurden in einer Tabelle dargestellt, der sogenannten BL-Tabelle, welche nach Geschlechtern aufgeteilt wurde.

4 Ergebnisse

4.1 Charakteristika der Patient:innenkohorte zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses

4.1.1 Demografische Daten der Patient:innenkohorte

Das Patient:innenkollektiv der Studie umfasste insgesamt 155 Pat mit der Diagnose VHF. Die Verteilung der Geschlechter lag zugunsten des männlichen Geschlechts bei ungefähr 2,23 zu 1. Das Durchschnittsalter der Kohorte lag bei knapp 62 Jahren (*IQR*=15,41). Insgesamt wiesen 65,16% eine arterielle Hypertonie als Vorerkrankung auf. Weiterhin wurden Antihypertensiva wie Betablocker (86,29%) und AT1-Rezeptorantagonisten (27,42%) abgefragt. Weitere kardiale Vorerkrankungen waren eine KHK bei 14,19% und eine Kardiomyopathie verschiedenen Ursprungs bei 3,87% der Kohorte. Einen stattgehabten Schlaganfall oder eine TIA (Transitorische ischämische Attacke) in der Vergangenheit hatten 3,87% der Studienteilnehmer:innen.

Außerdem bestanden weitere nicht-kardiale Begleiterkrankungen wie Diabetes mellitus, eine chronische Lungenerkrankung und Krebserkrankungen. Die genauen Zahlen mit Prozentwerten zur Studienkohorte können Tabelle 4 entnommen werden.

Tabelle 4 – Baseline-Tabelle mit Charakteristika der Studienkohorte

Darstellung demografischer Daten sowie Vordiagnosen; Aufteilung nach Geschlecht

Datenverfügbarkeit	Gesamt N=155	männlich N=107	weiblich N=48	p-Wert	
Allgemeines					
Alter; Median (IQR), [Jahre]	155/155	61,69 (55,53-70,94)	59,43 (54,83-69,72)	66,75 (61,42-73,57)	0,002
Adipositas; n(%), [n]	131/155	45 (34,35)	33 (34,74)	12 (33,33)	0,567
Raucher; n(%), [n]	155/155	6 (3,87)	3 (2,8)	3 (6,25)	0,374
Fam. kardiovask. Vorbelastung; n(%), [n]	155/155	20 (12,9)	12 (11,21)	8 (16,67)	0,437
Diabetes mellitus; n(%), [n]	155/155	15 (9,68)	8 (7,48)	7 (14,58)	0,238
Arterielle Hypertonie; n(%), [n]	155/155	101 (65,16)	69 (64,49)	32 (66,67)	0,857
Dyslipidämie; n(%), [n]	155/155	39 (25,16)	27 (25,23)	12 (25)	1
KHK; n(%), [n]	155/155	22 (14,19)	15 (14,02)	7 (14,58)	1
Herzinsuffizienz; n(%), [n]	155/155	1 (0,65)	1 (0,93)	0 (0)	1
Kardiomyopathie; n(%), [n]	155/155	6 (3,87)	3 (2,8)	3 (6,25)	0,374
Chron. Nierenerkrankung; n(%), [n]	155/155	10 (6,45)	8 (7,48)	2 (4,17)	0,725
Chron. Lungenerkrankung; n(%), [n]	155/155	12 (7,74)	6 (5,61)	6 (12,5)	0,192
Krebserkrankung; n(%), [n]	155/155	5 (3,31)	3 (2,88)	2 (4,26)	0,645
Z.n. Schlaganfall; n(%), [n]	155/155	6 (3,87)	3 (2,8)	3 (6,25)	0,374

IQR: interquartile range (Interquartilsabstand), KHK: Koronare Herzkrankheit

4.1.2 Vorhofflimmer-spezifische Charakteristika der Patient:innenkohorte

Der Median der Dauer des VHF vor Studieneinschluss lag bei 4,69 Jahren ($IQR=8,53$), wobei bereits 21,94% ($N=34$) der Studienteilnehmer:innen mindestens eine PVI in der Vergangenheit erhalten haben. 99 der Pat (63,87%) litten an paroxysmalem VHF, wobei bei den restlichen 56 Studienteilnehmer:innen die persistierende Form diagnostiziert wurde. 23,23% der Pat ($N=36$) gaben außerdem die Diagnose Vorhofflattern an. Bei Berechnung des CHA_2DS_2VASc -Scores zeigte sich eine schiefe Verteilung mit großer Anzahl Pat mit niedrigem Score (siehe Abbildung 8).

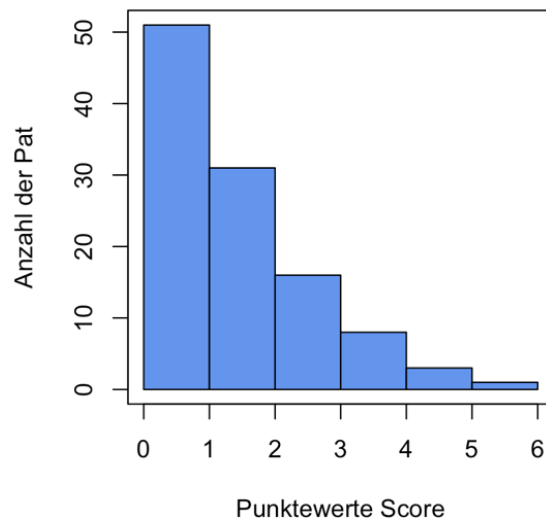


Abbildung 8 – Verteilung des CHA₂DS₂VASc-Scores (0-6 P.) bei der Studienkohorte

x-Achse: CHA₂DS₂VASc-Score-Werte, y-Achse: Patient:innenzahl

Es zeigte sich eine mit der Punktezahl absteigende Häufigkeit der berechneten CHA₂DS₂VASc-Scorewerte.

Oral antikoaguliert waren insgesamt 121 Pat, wovon 23,97% VKA und der Rest NOAK erhielten. Insgesamt haben 51 der Pat eine elektrische Kardioversion in der Vergangenheit zur Behandlung einer VHF-Episode erhalten. Eine medikamentöse Vortherapie bestand bei 89 Pat (61,38%). Hierbei wurden als mögliche Antiarrhythmika Amiodaron, Dronedaron und unter anderem Flecainid eingesetzt. Bei der Abfrage typischer Symptome bei VHF (incl. Sichtung von Vorbriefen der Pat) bejahten 39,86% (N=55) der Studienteilnehmer:innen auftretende Palpitationen. VHF-spezifische Informationen der Kohorte sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5 – Baseline-Tabelle mit Vorhofflimmer-spezifischen Charakteristika der Studienkohorte
Aufteilung nach Geschlecht

Datenverfügbarkeit	Gesamt N=155	männlich N=107	weiblich N=48	p-Wert	
Spez. zum VHF					
Dauer des VHF; Median (IQR), [Jahre]	75/155	4,69 (1,62-10,15)	4,69 (1,19-10,13)	4,94 (2,73-10,42)	0,446
Z.n. PVI; n(%), [n]	155/155	34 (21,94)	22 (20,56)	12 (25)	0,536
Z.n. elektrischer Cardioversion; n(%), [n]	147/155	51 (34,69)	37 (36,27)	14 (31,11)	0,5475
CHA ₂ DS ₂ VASc-Score > 1; n(%), [n]	110/155	59 (53,64)	29 (39,73)	30 (81,08)	≤ 0,001
Medikamente					
Orale Antikoagulation; n(%), [n]	124/155	121 (97,58)	87 (97,75)	34 (97,14)	0,149
Betablocker; n(%), [n]	124/155	107 (86,29)	77 (86,52)	30 (85,71)	0,263
Antiarrhythmikum; n(%), [n]	124/155	31 (25)	24 (26,97)	7 (20)	0,287

IQR: interquartile range (Interquartilsabstand), PVI: Pulmonalvenenisolation, VHF: Vorhofflimmern

4.1.3 Serumspiegel von CCN1 bei Studieneinschluss

Der Median der BL-Serumwerte von CCN1 aller Studienteilnehmer:innen (N=155) betrug 267,23 pg/ml (IQR=81,56 pg/ml) und lag nicht normalverteilt. Der minimale CCN1-Serumspiegel betrug 128,36 pg/ml und der maximale Wert lag bei 711,28 pg/ml. Die Verteilung der CCN1-Konzentrationen ist in Abbildung 9 graphisch dargestellt.

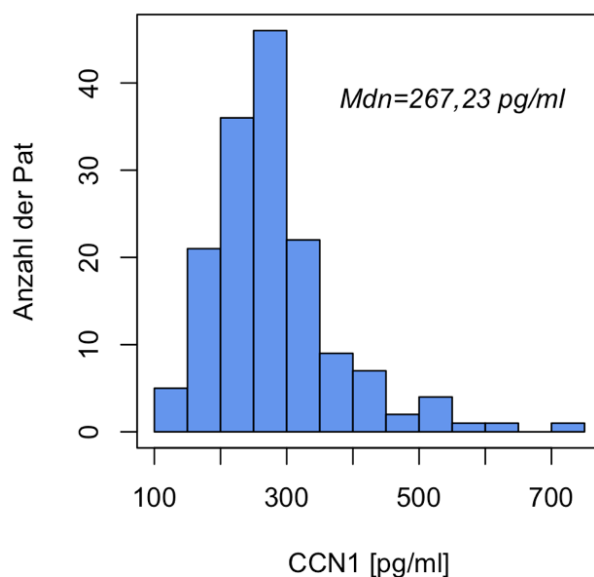


Abbildung 9 – Verteilung von CCN1-Serumspiegeln bei Studieneinschluss

x-Achse: CCN1-Serumspiegel bei Studieneinschluss, y-Achse: Patient:innenanzahl

Das Alter der Pat und die gemessenen CCN1-Serumwerte korrelierten moderat positiv miteinander, Spearmans $\rho = 0,41$; $p \leq 0,001^{**}$ (Abbildung 10).

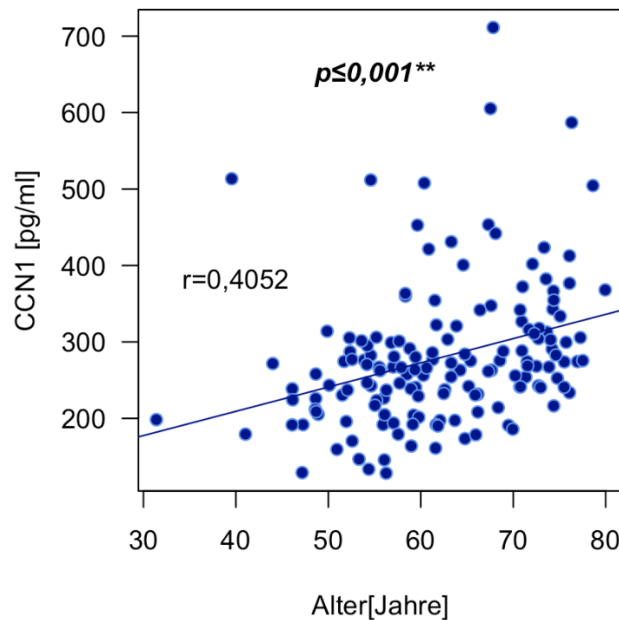


Abbildung 10 - Positive Korrelation zwischen Alter der Patient:innen und CCN1-Serumspiegeln

x-Achse: Patient:innenalter, y-Achse: CCN1-Serumspiegel bei Studieneinschluss; r:

Korrelationskoeffizient

Jeder Punkt stellt eine:n Patient:in dar.

Es wurden diverse ausgewählte Merkmale und Erkrankungen auf einen möglichen Zusammenhang mit CCN1-Serumwerten überprüft.

CCN1-Serumspiegel lagen bei Pat mit Krebserkrankung nahezu signifikant höher ($Mdn=354,37$ pg/ml, $N=5$ Krebserkrankung vs. $Mdn=267,11$ pg/ml ohne Krebserkrankung; $p=0,094$).

Adipöse Pat hatten geringere CCN1-Serumspiegel ($Mdn=243,36$ pg/ml, $N=45$ vs. $Mdn=274,35$ pg/ml, $N=86$; $p=0,004$), mit einer geringen Effektstärke von $r = -0,21$.

Der BMI und CCN1-Serumwerte korrelierten sehr schwach negativ miteinander, Spearmans $\rho = -0,17$, $p=0,054$.

Beide Ergebnisse zeigten einen möglichen inversen Zusammenhang zwischen Gewicht und der Höhe von CCN1-Serumleveln.

Es zeigte sich in der Studienkohorte kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer bestehenden chronischen Lungenerkrankung und dem CCN1-Serumspiegel ($Mdn(erkrankt)=293,93$ pg/ml vs. $Mdn(gesund)=265,99$ pg/ml; $p=0,146$).

Auch im Vergleich von Raucher:innen und Nichtraucher:innen zeigte sich kein signifikanter Unterschied der CCN1-Serumspiegel ($Mdn=270,32$ pg/ml vs. $Mdn=266,62$ pg/ml; $p=0,282$).

In der Studienkohorte hatten lediglich 12 Pat eine chronische Lungenerkrankung und nur 6 Pat gaben an zu rauchen.

Die beiden Parameter CHA_2DS_2VASc -Score und CCN1-Serumwerte korrelierten schwach positiv miteinander, Spearman's $\rho=0,28$, $p=0,003$.

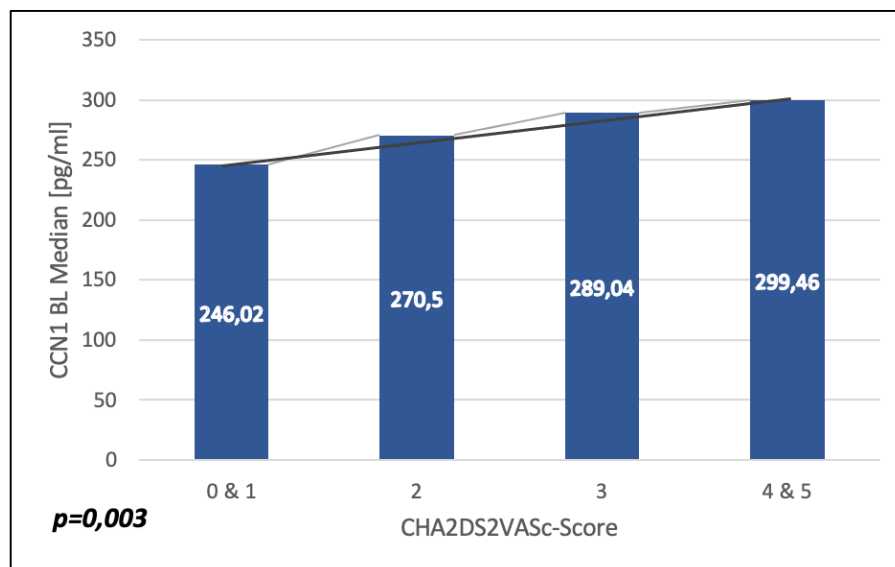


Abbildung 11 – Einfluss von CHA_2DS_2VASc -Scorewerten auf CCN1-Serumlevel

x-Achse: CHA_2DS_2VASc -Score aufsteigend mit Gruppierung von jeweils 0 mit 1 und 4 mit 5 Punkten,

y-Achse: CCN1-Serumspiegel bei Studieneinschluss

BL: Baseline

4.2 Charakteristika der Studienkohorte im Geschlechtervergleich

4.2.1 Alter und CHA₂DS₂VASc-Score im Geschlechtervergleich

Die Altersverteilung war nicht normalverteilt und hatte einen Median von knapp 62 Jahren ($IQR=15,41$). Es wurde berechnet, ob sich das Alter nach Geschlechtern unterschied. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Altersverteilungen ($Mdn=59,43$; $IQR=14,89$ bei Männern vs. $Mdn=66,75$; $IQR=12,16$ bei Frauen; $p=0,002$).

Bei 76,71% ($N=56$) der Männer lag ein CHA₂DS₂VASc-Score von mindestens eins vor; eine orale Antikoagulation war vorteilhaft bezüglich Schlaganfallrisiko. Zum Vergleich: 87 (davon 20,69% VKA, 79,31% NOAK) männliche Probanden erhielten laut Fragebogen eine orale Antikoagulation.

81,08% ($N=30$) der Frauen hatten einen CHA₂DS₂VASc-Score von mindestens zwei (Möglichkeit einer oralen Antikoagulation). 34 (davon 32,35% VKA, 67,65% NOAK) der weiblichen Studienteilnehmer:innen erhielten eine orale Antikoagulation.

Weiterhin konnte ein signifikanter Unterschied des CHA₂DS₂VASc-Scores ($p\leq 0,001^{**}$) im Geschlechtervergleich gesehen werden, wobei bei Frauen prozentual häufiger ein Score von mindestens zwei Punkten berechnet wurde.

4.2.2 Laborparameter bei Studieneinschluss im Geschlechtervergleich

Es wurden die Serumkonzentrationen von Hb, CRP, eGFR und CCN1 in Bezug auf das Geschlecht angeschaut.

Die Hb-Werte lagen normalverteilt. Wie erwartet hatten Männer signifikant höhere Hb-Werte als Frauen ($M=15,01$ g/dl; $SD=1,03$ männlich vs. $M=13,76$ g/dl; $SD=1,01$ weiblich; $p\leq 0,001^{**}$).

Es gab einen signifikanten Unterschied des CRP-Wertes zwischen Männern und Frauen ($Mdn=0,1$ mg/dl; $IQR=0,1$ männlich vs. $Mdn=0,2$ mg/dl; $IQR=0,2$ weiblich; $p=0,008$).

Die eGFR lag normalverteilt, wobei sich kein signifikanter Unterschied der Mittelwerte im Geschlechtervergleich zeigte ($p=0,863$).

Weiterhin zeigten sich CCN1-Serumspiegel bei Frauen ($Mdn=301,13$ pg/ml; $IQR=115,96$) signifikant ($p \leq 0,001^{**}$) höher als bei Männern ($Mdn=256,34$ pg/ml; $IQR=75,04$). Die Effektstärke lag bei $r = -0,29$ und entsprach einem eher schwachen Effekt.

Auch bei Bildung von Subgruppen anhand des Geschlechts zeigte sich ein signifikanter Abfall der CCN1-Serumspiegel durch die PVI. Bei den männlichen Studienteilnehmer:innen zeigte sich ein starker Effekt mit $r = -0,79$; bei der weiblichen Kohorte mit $r = -1,08$. Tabelle 6 zeigt eine Übersicht der wichtigsten Laborparameter der Studie.

Tabelle 6 – Baseline-Tabelle mit Laborparametern
Aufteilung nach Geschlecht

	Datenverfügbarkeit	Gesamt N=155	männlich N=107	weiblich N=48	p-Wert
Laborwerte					
Hb; Mittelwert (SD), [g/dl]	155/155	14,62 (1,17)	15,01 (1,03)	13,76 (1,01)	$\leq 0,001$
CRP; Median (IQR), [mg/dl]	152/155	0,1 (0,1-0,3)	0,1 (0,1-0,2)	0,2 (0,1-0,3)	0,008
eGFR; Mittelwert (SD), [ml/min/1,73m ²]	153/155	89,26 (23,42)	89,03 (22,65)	89,76 (25,28)	0,863
CCN1; Median (IQR), [pg/ml]	155/155	267,23 [226,19-307,75]	256,34 [213,07-288,11]	301,13 [254,25-370,20]	$\leq 0,001$

CRP: C-reaktives Peptid, eGFR: estimated glomerular filtration rate (geschätzte glomeruläre Filtrationsrate), Hb: Hämoglobin, IQR: interquartile range (Interquartilsabstand), SD: standard deviation (Standardabweichung)

4.3 Zusammenhang zwischen CCN1 und weiteren Laborparametern bei Studieneinschluss

Es konnte eine signifikant schwache negative Korrelation zwischen Hb-Werten und CCN1-Serumspiegeln beobachtet werden ($p=0,001$).

Die eGFR korrelierte auch signifikant schwach negativ mit CCN1-Serumspiegeln ($p=0,022$).

Zwischen CRP-Werten und CCN1-Spiegeln ließ sich kein Zusammenhang zeigen ($p=0,246$). In Abbildung 12 finden sich die jeweiligen Spearman-Koeffizienten zu den Korrelationsanalysen der Laborparameter.

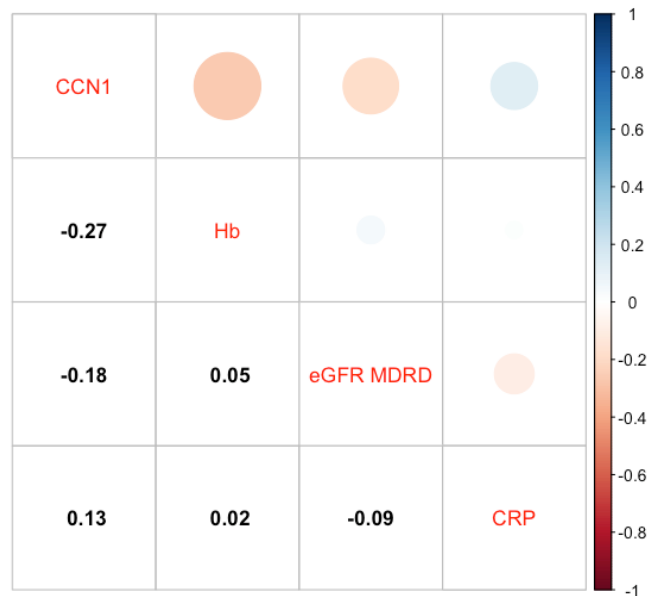


Abbildung 12 - Korrelationsmatrix ausgewählter Laborparameter

Blutentnahme zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses (Baseline)

Achse: Korrelationskoeffizient ρ bei durchgeführter Spearman-Korrelation, >0 : positive Korrelation (blau markiert), <0 : negative Korrelation (rot markiert)

CRP: C-reaktives Peptid, eGFR: estimated glomerular filtration rate (geschätzte glomeruläre Filtrationsrate), Hb: Hämoglobin

4.4 Zusammenhang zwischen Vorhofflimmern und CCN1

Es wurden CCN1-BL-Werte hinsichtlich Rhythmus im Ruhe-EKG zum BL-Zeitpunkt und VHF-Art überprüft. Es gab keinen signifikanten jedoch numerischen Unterschied zwischen den CCN1-BL-Medianen hinsichtlich Rhythmus ($Mdn=264,52$ pg/ml, $N=114$ Sinusrhythmus vs. $Mdn=274,83$ pg/ml, $N=38$ VHF; $p=0,700$).

Es zeigte sich auch kein signifikanter jedoch numerischer Unterschied zwischen den Medianen beim VHF-Art-Vergleich, wobei etwas höhere Serumspiegel von CCN1 bei paroxysmalem VHF nachweisbar waren ($Mdn=273,87$ pg/ml, $N=99$ paroxysmal vs. $Mdn=260,56$ pg/ml, $N=56$ persistierend; $p=0,247$).

Die Dauer des VHF und die Höhe des Markers CCN1 korrelierten nicht miteinander, Spearmans $\rho=0,02$, $p=0,871$.

4.5 Zusammenhang zwischen Pulmonalvenenisolation und CCN1

4.5.1 Einfluss stattgehabter Pulmonalvenenisolation auf CCN1

Insgesamt hatten 34 Pat der Kohorte (21,94%) bereits mindestens eine PVI erhalten. Es wurde überprüft, ob sich CCN1-BL-Serumwerte hinsichtlich stattgehabter PVI unterschieden. Es zeigte sich eine Tendenz bei Vergleich der beiden CCN1-Mediane, wobei dieser bei Pat mit PVI in der Vergangenheit höher lag als bei jenen ohne vorherige Ablation der PV ($Mdn=275,33$ pg/ml nach PVI vs. $Mdn=263,63$ pg/ml ohne PVI; $p=0,104$).

Abbildung 13 zeigt als Diagramm die Mediane der CCN1-Konzentration nach Anzahl der PVIs vor Studieneinschluss zum BL-Zeitpunkt.

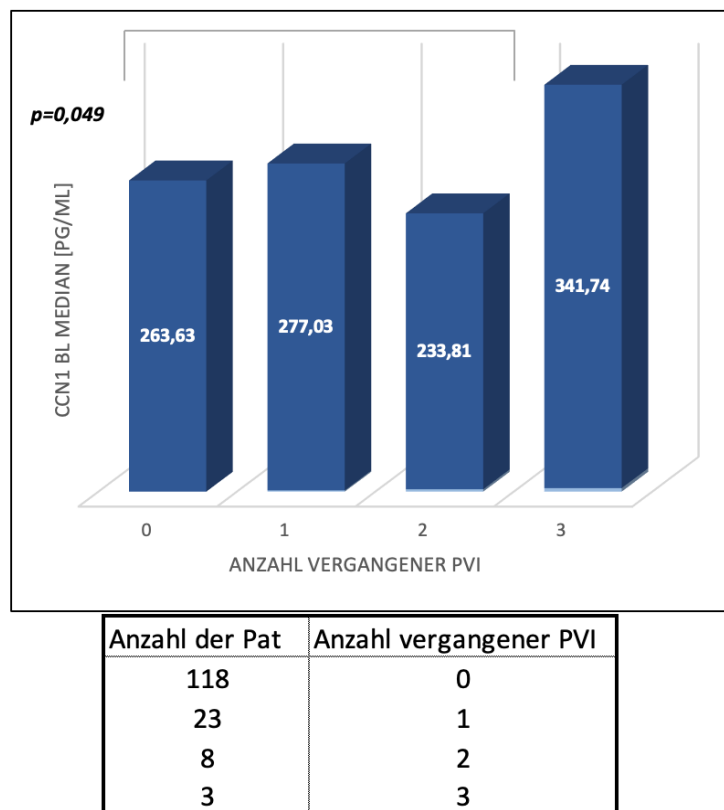


Abbildung 13 - Einfluss vergangener Pulmonalvenenisolationen auf CCN1-Serumspiegel, Gruppierung max. 2 vs. 3 Pulmonalvenenisolationen

x-Achse: Anzahl stattgehabter Pulmonalvenenisolationen, y-Achse: CCN1-Serumspiegel bei Studieneinschluss

BL: Baseline

Bei Gruppierung nach Anzahl stattgehabter PVI in der Vergangenheit mit dem Cut-Off-Wert von zwei (max. zwei vs. drei PVI in der Vergangenheit) zeigten sich signifikant höhere CCN1-Serumspiegel in der Gruppe mit drei PVI ($Mdn= 266,80$ pg/ml max. 2 PVI vs. $Mdn= 341,74$ pg/ml 3 PVI; $p=0,049$). Es ist zu beachten, dass in der Gruppe mit drei PVI lediglich drei Pat enthalten waren.

4.5.2 Einfluss der Pulmonalvenenisolation auf die Studienkohorte

4.5.2.1 Veränderung CCN1-Serumspiegel mit der Pulmonalvenenisolation

CCN1 FU1d-Serumwerte lagen nicht normalverteilt, mit einem minimalen Serumwert von 106,76 pg/ml und einem Maximum bei 601,95 pg/ml ($IQR=97,56$).

CCN1-Serumwerte waren einen Tag nach der PVI signifikant niedriger als zum BL-Zeitpunkt ($Mdn=196,05$ pg/ml FU1d vs. $Mdn=263,63$ pg/ml BL; $p\leq 0,001^{**}$). Die Effektstärke wurde mit $r= -0,82$ berechnet und entsprach einem starken Effekt. Abbildung 14 zeigt die Verteilung der CCN1-Serumlevel vor und nach erfolgter PVI.

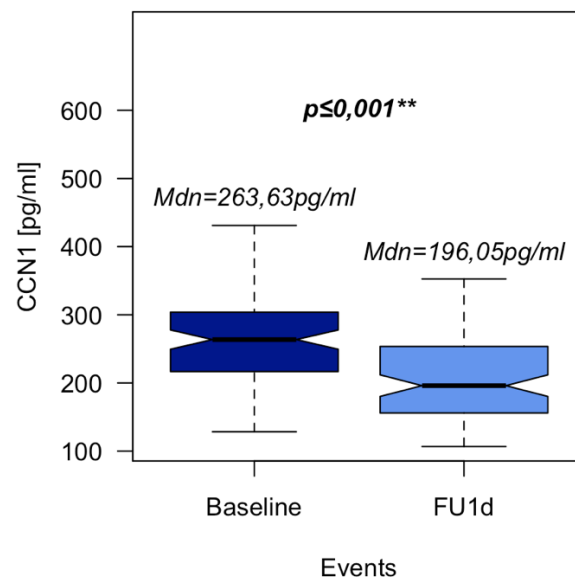


Abbildung 14 - Verteilung der CCN1-Serumspiegel

Vergleich zwischen Serumleveln bei Studieneinschluss (links) und einen Tag nach Pulmonalvenenisolation (rechts)

Mdn: Median, FU1d: Follow-up Tag eins

4.5.2.2 Einfluss der Ablationstechnik auf CCN1-Serumspiegel einen Tag nach Pulmonalvenenisolation

Es wurde überprüft, ob sich das CCN1 FU1d hinsichtlich der Ablationstechniken unterschied. Es gab 73 Studienteilnehmer:innen in der Kryo-Gruppe und 22 in der HF-Gruppe ($N=95$) zum Zeitpunkt FU1d. 12 der Pat erhielten eine zusätzliche Ablation des cavotrikuspidalen Isthmus.

Es präsentierte sich ein numerischer Unterschied ohne Signifikanz nach PVI mit leicht höheren CCN1-Serumspiegeln bei Anwendung der Kryo-Technik ($Mdn= 201,16$ pg/ml Kryo vs. $Mdn= 187,28$ pg/ml HF; $p=0,615$ und $Mdn=195,47$ PVI pg/ml vs. $Mdn=206,32$ pg/ml zusätzliche Isthmusablation; $p=0,724$).

Es erfolgte die Prüfung eines möglichen Zusammenhangs zwischen der absoluten Veränderung der CCN1-Serumspiegel durch die PVI, dem Delta CCN1, und den Ablationstechniken. Das absolute CCN1-Delta lag im Mittelwert nach Kryoablation bei $63,91\pm 42,30$ pg/ml und war somit nur minimal geringer als nach HF-Ablation mit einem Mittelwert von $64,59\pm 46,74$ pg/ml ($p=0,950$).

Es zeigte sich ein numerischer Unterschied zwischen den Mittelwerten des absoluten CCN1 Delta hinsichtlich Betrachtung des Ablationsortes, wobei sich CCN1 ohne zusätzliche Isthmusablation mehr veränderte ($M=66,84\pm 40,94$ pg/ml PVI vs. $M=44,91\pm 54,11$ pg/ml zusätzliche Isthmusablation; $p=0,200$).

4.6 Rezidivfreiheit nach Pulmonalvenenisolation

Der Median der Nachbeobachtungsdauer lag bei 105,5 Tagen. Zu 134 Studienteilnehmer:innen lagen nach einem Jahr Daten hinsichtlich Erfolg (Rezidivfreiheit) der durchgeführten PVI vor. Bei 104 Pat (77,61%) wurde die Ablation als erfolgreich eingestuft.

Bei 135 Pat wurde nach 12 Monaten ein Ruhe-EKG geschrieben, wobei bei 126 (93,33%) ein Sinusrhythmus beobachtet wurde.

4.6.1 Zusammenhang von ausgewählten Variablen und dem Erfolg der Pulmonalvenenisolation

Die Faktoren Ablationsart, stattgehabte PVIs, VHF-Art und -Dauer (unabhängige Variablen) wurden überprüft, ob sie mit dem Erfolg der PVI nach 12 Monaten assoziiert sein könnten (abhängige Variable).

Von den vier Variablen, die mit der abhängigen Variablen in Bezug gesetzt wurden, zeigten die Ablationsart ($\chi^2(1)=9,26$; $p=0,002$; $\phi=0,26$) und die VHF-Art ($\chi^2(1)=10,55$; $p=0,001$; $\phi=0,28$) eine signifikante Assoziation zum Erfolg der PVI nach einem Jahr. Die VHF-Dauer ($p=0,456$) und die Variable bezüglich bereits stattgehabter PVIs in der Vergangenheit ($\chi^2(1)=2,78$; $p=0,096$; $\phi= -0,14$) zeigten keine signifikante Assoziation zur Rezidivfreiheit nach einem Jahr.

Von 134 beobachteten Pat wurde bei 100 (74,63%) eine Kryo-Ablation und bei den restlichen 34 Pat die HF-Technik angewandt.

Die Erfolgswahrscheinlichkeit der PVI war signifikant ($p=0,003$) größer bei Anwendung der Kryo-Technik im Vergleich zur HF-Ablation. Dies entspricht einer Odds Ratio von 3,67 (95%-KI[1,54; 8,75]). Die AUC zeigte mit einem Wert von 0,637 eine leichte prognostische Fähigkeit der Ablationsart auf die Erfolgswahrscheinlichkeit nach 12 Monaten.

Von 134 beobachteten Pat hatten 87 (64,93%) paroxysmales und der Rest persistierendes VHF. Pat mit paroxysmalem VHF zeigten eine Erfolgsquote von 86,21%, wohingegen Pat mit persistierendem VHF eine Quote von 61,70% aufwiesen.

Die Aussicht auf eine erfolgreiche PVI war signifikant ($p=0,002$) größer bei paroxysmalem VHF im Vergleich zur persistierenden Form. Die Odds Ratio betrug 3,88 (95%-KI[1,68; 9,25]). Die AUC zeigte mit einem Wert von 0,661 eine leichte prognostische Fähigkeit der VHF-Art auf die Erfolgswahrscheinlichkeit der PVI nach 12 Monaten.

Bei summierter logistischer Regressionsanalyse zeigte sich die Variable Vorhofflimmerart weiterhin mit signifikantem Einfluss auf die Erfolgsschätzung ($p=0,004$) mit einer Odds Ratio von 3,68 (95%-KI[1,53; 8,83]).

Die VHF-Dauer der beiden Gruppen war in der Studienkohorte nicht signifikant mit der Erfolgswahrscheinlichkeit der PVI assoziiert, wobei sich bei den erfolglosen PVI im Schnitt eine längere VHF-Dauer zeigte ($Mdn=5,88$ Jahre bei erfolgloser PVI vs. $Mdn=3,63$ Jahre bei erfolgreicher PVI; $p=0,456$).

Von 134 beobachteten Pat im beobachteten Modell hatten 26 (19,40%) bereits mindestens eine PVI in der Vergangenheit erhalten. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Einfluss ($p=0,101$) einer bereits durchgeführten PVI auf die Erfolgswahrscheinlichkeit der beobachteten PVI nach einem Jahr.

4.6.2 Abhängigkeit der Erfolgswahrscheinlichkeit der Pulmonalvenenisolation von CCN1-Serumspiegeln

Sowohl CCN1-Serumspiegel vor als auch nach der PVI (BL und FU1d) zeigten keine Assoziation zur Erfolgsbewertung der PVI nach einem Jahr.

Die Änderung der CCN1-Spiegel (absolutes Delta CCN1) zeigte hingegen eine signifikante Assoziation mit der Ein-Jahres-Erfolgswahrscheinlichkeit. Es wurden höhere CCN1-Spiegelveränderungen beobachtet, wenn die PVI nach einem Jahr als erfolgreich bewertet wurde ($M=68,01$ pg/ml Erfolg, $M=45,15$ pg/ml Misserfolg; $p\leq 0,001^{**}$).

Zur Prüfung, ob mittels der Veränderung von CCN1-Serumspiegeln (absolutes Delta CCN1) die Ein-Jahres-Erfolgswahrscheinlichkeit vorhergesagt werden kann, wurde ein logistisches Regressionsmodell erstellt. Darin enthalten waren nach Paarung der CCN1-Serumwerte der Zeitpunkte BL und FU1d insgesamt 87 Beobachtungen. 69 (79,31%) Pat konnten in diesem Modell Rezidivfreiheit vorweisen.

Die Ergebnisse des berechneten Modells waren nahezu signifikant ($p=0,051$). Die AUC zeigte mit einem Wert von 0,645 bei einer Odds-Ratio von 1,01 (95%-KI[1; 1,03]) eine leichte prognostische Fähigkeit der absoluten Veränderung von CCN1-Serumspiegeln auf die Erfolgsbewertung der PVI nach einem Jahr.

Es wurden weiterhin zwei Regressionsmodelle erstellt, um einen möglichen Einfluss von CCN1-Serumwerten vor und nach erfolgter PVI (BL und FU1d) und der Erfolgswahrscheinlichkeit zu untersuchen.

Beide Modelle ergaben nicht signifikante Ergebnisse, $p=0,635$ (BL-Werte) und $p=0,790$ (FU1d-Werte).

Anschließend wurde geprüft, ob die Veränderung von CCN1 (Delta CCN1) Einfluss auf den EKG-Rhythmus nach einem Jahr hat.

Von 84 Pat im Modell hatten 78 (92,86%) einen vorliegenden Sinusrhythmus im abgeleiteten Ruhe-EKG und die restlichen 6 befanden sich im VHF. Die absolute Veränderung von CCN1-Serumspiegeln hatte einen nahezu signifikanten Einfluss auf den EKG-Rhythmus nach einem Jahr ($p=0,055$) mit einer AUC von 0,763 und einer Odds-Ratio von 1,02 (95%-KI[1; 1,04]).

Die relative Veränderung von CCN1-Serumspiegeln zeigte einen signifikanten Einfluss auf den EKG-Rhythmus nach einem Jahr ($p=0,050$). Das relative Delta CCN1 hatte einen moderaten Effekt mit einer AUC von 0,759 auf den EKG-Rhythmus nach 12 Monaten mit einer Odds Ratio von 0,95 (95%-KI[0,9; 1]).

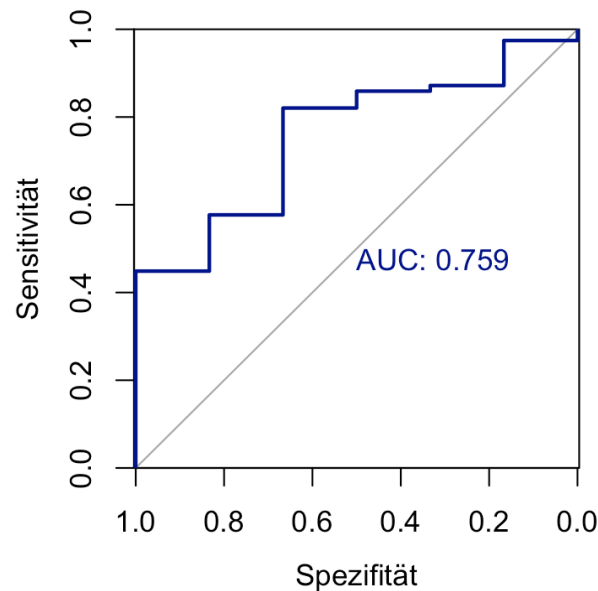


Abbildung 15 - Schätzung des Ruhe-EKG-Rhythmus nach einem Jahr (Erfolgskontrolle der Pulmonalvenenisolation) mittels relativer CCN1-Veränderung (delta CCN1)

x-Achse: Spezifität, y-Achse: Sensitivität

5 Diskussion

VHF ist eine Erkrankung mit einer sehr hohen Prävalenz weltweit und einer der Hauptgründe der Entwicklung eines Schlaganfalls. Diese Herzrhythmusstörung ist deshalb so gefährlich, da sie oft nicht bemerkt wird und somit häufig nicht adäquat therapiert wird. Jedoch ist eine frühzeitige Antikoagulation nach Evaluation mittels CHA₂DS₂VASc-Score so wichtig, um Folgeerscheinungen zu verhindern. Da die Gewinnung von Blutproben eine unaufwändige und vor allem für die ambulante Praxis einfache Möglichkeit der Diagnostik darstellt, wurde CCN1 als bekannter Fibrosemarker aus Blutproben der Patient:innenkohorte bestimmt. Da es pathophysiologisch bei VHF zu einer vermehrten Fibrosebildung in den Atria kommt, wurde sich mit dieser Arbeit erhofft, CCN1 als zukünftigen Marker in der Diagnostik des VHF nutzen zu können.

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 155 Pat mit VHF eingeschlossen, wobei es bei 95 Pat zwei CCN1-Messungen aus Serumproben (vor und nach PVI) gab.

Die aufgeführten CCN1-Messwerte vom Labor (DRG Website Manual) wurden nur bei einer kleinen Kohorte (16 Männer, 8 Frauen) an gesunden Personen bestimmt, weswegen keine guten allgemein gültigen Normwerte für CCN1 vorliegen. Es fällt auf, dass die im Labor erhobenen Serumspiegel von CCN1 deutlich unter denen der in der Kohorte mit VHF-Pat lagen. Dieser Unterschied zeigt sich sowohl beim Vergleich des Medians aller Pat aus der Studie sowie bei geschlechtlicher Unterteilung. Eine Schlussfolgerung hinsichtlich des Zusammenhangs der CCN1-Serumlevel bei VHF-Erkrankten und „gesunden“ Proband:innen, welche vom Labor angegeben wurden, ist bei kleiner Kontrollgruppe jedoch nicht sinnvoll.

In der Studie von Klingenberg et al., in welcher insgesamt nur 44 Pat für eine Messung von CCN1-Serumleveln in Bezug auf das AKS akquiriert wurden, konnten aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden²⁹. Somit sind in der vorliegenden Arbeit mit 155 Pat relevante Effekte zu erwarten.

Die im Rahmen der vorgelegten Arbeit genutzte Messmethodik ist zur Bestimmung von CCN1-Serumleveln mittels ELISA etabliert und wurde bereits in anderen Studien von beispielsweise Zhao et al. und Li et al. genutzt^{86,41}.

5.1 Der Biomarker *CCN1* in Bezug auf das Alter

Das Alter ist ein relevanter Risikofaktor für die Entstehung von VHF, was darin resultiert, dass vermehrt ältere Pat daran erkranken¹¹.

In der vorliegenden Arbeit fand sich eine positive Korrelation zwischen *CCN1*-Serumleveln und dem Alter. Dies könnte mit einer höheren Prävalenz und der gleichzeitig meist längeren Zeitspanne, in der das VHF besteht, zusammenhängen⁴³. Es besteht die Vermutung, dass sich eine höhere Fibroelast mit der Dauer des VHF bildet, was auch den genannten Marker ansteigen lassen würde. So konnten bereits Maesen et al. zeigen, dass mit der Dauer von VHF ein Zuwachs von atrialer Fibrose einhergeht⁴⁷.

5.2 Der Biomarker *CCN1* und Vorerkrankungen

In bereits veröffentlichten Arbeiten wurden höhere *CCN1*-Serumspiegel bei Pat mit vorangegangener oder aktiver Krebserkrankung gemessen. Uneda et al. konnten zeigen, dass es zu einer Tumorbildung (hierbei wurde speziell das Glioblastom untersucht) über die Bildung einer mesenchymalen „Mikro-Umgebung“ über die *CCN1*-gesteuerte Aktivierung von Makrophagen kommt⁷⁸. Auch bei anderen Tumorentitäten wie Leukämie, Pankreastumoren oder dem Ovarialzellkarzinom konnte eine erhöhte Expression von *CCN1* und eine damit einhergehende schlechtere Prognose des Tumorleidens festgestellt werden⁸⁴.

In der vorliegenden Kohorte zeigten sich passend zu Erkenntnissen aus bisherigen Arbeiten bei Pat mit Tumorerkrankung höhere Spiegel des Fibrosemarkers *CCN1*.

Bei Pat mit einer chronischen Lungenerkrankung wurden in Studien erhöhte *CCN1*-Serumspiegel beschrieben. Durch die Verletzung von Lungengewebe kommt es im bronchoalveolären System zu einer vermehrten Ausschüttung von *CCN1* und somit zu einer Fibrosebildung via TGF- β 1-Signalweg⁸⁹.

In der vorliegenden Arbeit konnten zwar keine signifikanten Ergebnisse gesehen werden, jedoch zeigte sich bei Pat mit chronischer Lungenerkrankung eine Tendenz höherer *CCN1*-Serumspiegel.

Bei Raucher:innen zeigten sich in vorliegender Literatur passend dazu erhöhte CCN1-Serumlevel, wobei dies laut Zhu et al. mit einer vermehrten Ausschüttung von CCN1 aus Lungenepithel durch die Aktivierung von reaktiven oxidativen Spezies, was durch Zigarettenrauch ausgelöst wird, zusammenhängen könnte⁸⁹.

In dieser Arbeit konnte eine Tendenz von höheren CCN1-Spiegeln bei positiver Raucheranamnese gesehen werden.

In der Studienkohorte der vorgelegten Arbeit hatten lediglich 12 Pat eine chronische Lungenerkrankung und 6 Pat gaben an zu rauchen. Diese geringe Anzahl muss einschränkend berücksichtigt werden in Bezug auf die Aussagekraft der durchgeführten Analysen, in denen kein signifikanter Einfluss auf CCN1-Serumspiegel bestand.

Übergewicht stellt laut den Guidelines der ESC von 2020 einen Risikofaktor für VHF dar¹¹. Dies hängt unter anderem damit zusammen, dass die Signalweiterleitung der Herzaktion durch die vermehrte Einlagerung von Fettdepots gestört und verlangsamt wird, was eine Aufrechterhaltung von Reentry-Strömen bei VHF begünstigt³³.

Kruszewska et al. konnten in ihrem Review von 2022 zeigen, dass es zu einem Umbau der EZM im Rahmen von Übergewicht kommt. Unter anderem wird dabei vermehrt Fibrose gebildet und Kollagen eingelagert, was auch auf kardialer Ebene passiert und zu einer Hypertrophie des Herzmuskels führt³³. Somit würde man erhöhte CCN1-Serumspiegel bei adipösen Pat (BMI >30) erwarten.

In unserer Kohorte schien das Gewicht negativ mit CCN1-Serumspiegeln zu korrelieren. Bei Betrachtung der Hypothese einer Assoziation von VHF und CCN1-Serumspiegeln ist dieses Ergebnis unerwartet. In aktueller Literatur bietet sich für dieses Ergebnis kein Erklärungsansatz, weswegen weitere Analysen zum Zusammenhang von Adipositas und CCN1 sinnvoll wären.

Der CHA₂DS₂VASc-Score beinhaltet mehrere Faktoren, die für sich gesehen positiv mit CCN1-Serumspiegeln korrelieren. Zhang et al. konnten bereits zeigen, dass kardiale Hypertrophie AT II-gesteuert abläuft. Zu dieser Hypertrophie, also dem kardialen Remodeling, kommt es unter anderem bei Erkrankungen wie Herzinsuffizienz und arterieller Hypertonie, welche im CHA₂DS₂VASc-Score enthalten sind. Zhang et al. konnten beobachten, dass CCN1 bei myokardialer Fibrose durch die Aktivierung eines

Transkriptionsfaktors (ATF3) vermehrt exprimiert wurde. CCN1 schwächte dabei die TGF- β -Signalkaskade ab und hatte somit einen antifibrotischen Effekt⁸⁵.

Die CCN1-Serumwerte der untersuchten Kohorte zeigten sich mit höheren CHA₂DS₂VASc-Scorewerten steigend, was mit Ergebnissen aus aktueller Literatur zusammenpasst.

5.3 Geschlechterspezifische Aspekte zu dem Biomarker CCN1

Die vorliegende Patient:innenkohorte ähnelt der deutschen Allgemeinbevölkerung in Alter und Geschlecht nur wenig. Die Aufteilung der Geschlechter von 107 (männlich) zu 48 (weiblich) entspricht nicht der demografischen Verteilung Deutschlands (2015 lag der Anteil der Männer bei 49,3% der deutschen Bevölkerung)⁷⁴. Beim Vergleich der Geschlechterverteilung bei VHF-Erkrankten kann jedoch eine nahezu ähnliche Geschlechterverteilung beobachtet werden, weswegen eine Vergleichbarkeit der Proband:innen der Studie mit an VHF Erkrankten vorliegt. In einer Populationsstudie von Schnabel et al. betrug der Anteil der männlichen Personen mit VHF 71,4% (hier bei 69,0%)⁶⁴.

Es finden sich in der Kohorte an VHF erkrankte Pat (Selektion), womit junge Menschen weniger vertreten sind (krankheitsspezifische Kohorte).

Die Deutsche Herzstiftung e.V. konnte im Deutschen Herzbericht von 2020 zeigen, dass ein Anstieg der Hospitalisierungsrate aufgrund von VHF im Laufe der Jahre v.a. bei Pat zwischen 75 und 84 Jahren stattfand. Dies ist am ehesten auf den demographischen Wandel mit einer alternden Bevölkerung zurückzuführen⁹.

Bei Betrachtung der Altersverteilung der Kohorte der jeweiligen Geschlechter konnte ein im Median höheres Alter bei den Frauen im Vergleich zu den Männern beobachtet werden. Dies könnte am ehesten mit einer höheren Lebenserwartung von Frauen verglichen mit Männern (75 Jahre vs. 81,6 Jahre in Deutschland im Jahr 2015) zusammenhängen⁷⁵.

Das Geschlecht scheint in der Literatur mit der Höhe von CCN1-Serumleveln zusammenzuhängen. Weibliche Hormone könnten einen Einfluss auf die Ausschüttung von CCN1 ins Blut haben. Yang et al. berichteten über eine erhöhte Expression von CCN1 im

Zusammenhang mit einer Schwangerschaft, u.a. auf Corpus luteum und dem Endometrium nachweisbar⁸³.

Westerman und Wenger stellten die Hypothese, dass Androgene Einfluss auf die ventrikuläre Repolarisationszeit haben und diese bei Männern verkürzt ist, was einen Reentry begünstigen würde. Da die Bildung weiblicher Hormone bei Frauen mit dem Alter abnimmt, überwiegt dann vermutlich der androgene Einfluss auf die Erregungsausbreitung im Herzen. Weiterhin konnten in der Literatur bei Frauen mehr Triggerpunkte außerhalb der PV gefunden werden, was ein Aufrechterhalten von VHF begünstigen und somit die VHF-Last erhöhen würde⁸¹.

Im Geschlechtervergleich zeigten sich in der vorliegenden Kohorte höhere CCN1-Serumspiegel in der weiblichen Untergruppe.

Zu berücksichtigen ist hier jedoch, dass die weiblichen Patientinnen in unserer Kohorte im Schnitt knapp 67 Jahre alt waren und sich in der Postmenopause befanden.

Somit könnten die signifikant höheren CCN1-Serumspiegel bei Frauen entweder mit dem höheren Alter jener im Vergleich zu den Männern in Bezug stehen (s. Abschnitt zum Alter oben). Die andere Hypothese, Bezug nehmend auf Westerman und Wenger hinsichtlich der Zunahme des Androgen-Einflusses, ist auch denkbar⁸¹.

5.4 Der Biomarker *CCN1* und weitere Laborparameter

In der Literatur wurde bislang nicht untersucht, ob der Fibrosemarker CCN1 und der Hb-Wert miteinander assoziiert sind.

In der vorliegenden Arbeit konnte eine schwache negative Korrelation zwischen den beiden Laborparametern beobachtet werden. Dies passt mit den Ergebnissen bzgl. höherer CCN1-Serumlevel bei Frauen zusammen, da Frauen (auch in dieser Arbeit) im Schnitt einen niedrigeren Hb-Wert als Männer haben⁵⁵. Ein möglicher inverser Zusammenhang der Laborparameter könnte demnach mit dem Geschlecht zusammenhängen und eine Assoziation vortäuschen.

Muramatsu et al. konnten eine erhöhte Expression von CCN1 im proximalen Tubulus im Rahmen einer akuten Nierenschädigung feststellen. Dabei wurde CCN1 im Urin gemessen und stand im Zusammenhang mit einem akuten ischämischen Zustand der Nieren⁵⁴.

In der vorliegenden Studie konnte ein inverser Zusammenhang zwischen CCN1-Serumleveln und der eGFR gesehen werden. Studien hinsichtlich eines Zusammenhangs zwischen CCN1-Spiegeln und einer chronischen Nierenerkrankung gibt es bislang nicht. Unter dem Aspekt eines möglichen Zusammenhangs zwischen CCN1 und VHF ist zu erwähnen, dass auch eine chronische Nierenerkrankung als Risikofaktor für VHF gilt¹¹.

CRP gilt als Akute-Phase-Protein und konnte von Turu et al. auch im Rahmen der Angiogenese erhöht im Serum gemessen werden. Dabei induziert es die vermehrte Expression von pro-angiogenen Genen, wozu auch CCN1 gehört⁷⁷.

In der vorliegenden Kohorte ließ sich jedoch kein Zusammenhang zwischen CCN1-Serumspiegeln und CRP-Serumwerten abbilden. Die CRP-Werte wiesen in dieser Studie eine sehr geringe Streuung auf, weswegen der erwartete Effekt eines Zusammenhangs zwischen beiden Laborparametern ausgeblieben sein könnte.

5.5 Der Biomarker CCN1 und Vorhofflimmern

Die Arbeit stellte sich der Frage eines Zusammenhangs zwischen dem Fibrosemarker CCN1 und VHF. Lin et al. konnten bereits erhöhte Serumkonzentrationen von „insulin-like growth factors“, wozu auch CCN1 gehört, bei Pat mit VHF messen. Ein direkter Zusammenhang, dass CCN1 bei VHF vermehrt exprimiert wird, konnte abschließend jedoch nicht klar beschrieben werden⁴².

Bei VHF kommt es in beiden Atria zu myokardialem Remodeling, welches durch einen strukturellen und elektrophysiologischen Umbau gekennzeichnet ist. Zu diesem Remodeling kommt es durch verschiedene Faktoren wie oxidativen Stress, Entzündung und Vorhofdehnung. Durch hohe atriale Frequenzen werden Fibroblasten aktiviert und es resultiert eine erhöhte Kollagen-Expimierung⁵.

In der Arbeit von Klingenberg et al. konnte gezeigt werden, dass der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser, welcher ein Parameter zur Beschreibung der Größe des linken Ventrikels ist, mit CCN1-Serumleveln korrelierte. Je größer und ausgedehnter der linke Ventrikel, desto höher waren auch die CCN1-Spiegel. Dies könnte mit einem Remodeling des Myokards des linken Ventrikels zusammenhängen. Weitergeführt zu der Forschungsfrage in diesem Projekt suggerieren Klingenberg et al., dass auch die Größe des linken Atriums mit der Höhe von CCN1-Serumleveln zusammenhängt²⁹.

In der untersuchten Kohorte zeigten sich nur geringgradig höhere CCN1-Serumspiegel, wenn sich die Pat vor der PVI (BL-Zeitpunkt) im VHF befanden, verglichen mit Sinusrhythmus.

Die Annahme des Zusammenhangs zwischen dem Fibrosemarker CCN1 und das vermehrte Auftreten von VHF durch eine bestehende Fibroselast würde dieses Ergebnis erklären.

Umgekehrt hängt das Auftreten von VHF mit der Fibroselast im linken Vorhof zusammen, weswegen man bei erhöhten CCN1-Serumspiegeln als Fibrosemarker mit einer höheren Wahrscheinlichkeit auch VHF im EKG nachweisen kann.

Es ergeben sich zwei Hypothesen, um eine mögliche Verbindung zwischen VHF und dem Biomarker CCN1 zu beschreiben:

- CCN1 wird bei Reizen wie Scherkräften oder mechanischem Stress transkriptionell aktiviert⁵⁷. Bei bestehendem VHF kommt es über eine verringerte Vorhofkontraktion zu einer Volumenretention im linken Atrium, was eine atriale Dilatation zur Folge hat. Es muss demnach das Gewebe (die EZM) umstrukturiert werden, woran der Biomarker CCN1 maßgeblich beteiligt ist³⁴. Bestehendes VHF würde bei dieser möglichen Erklärung zur vermehrten Ausschüttung von CCN1 aus Myofibroblasten führen.

- Damit VHF entstehen und weiter fortschreiten kann, wird ein atriales Fibrosesubstrat benötigt, welches eine unkontrollierte Reizweiterleitung vereinfacht⁵. CCN1 könnte hierbei als Mediator der Fibroseentstehung im Myokard einen Teil dazu beitragen und somit bei Ausschüttung (auf verschiedene Stimuli wie mechanischen Stress) die VHF-Last erhöhen.

Somit stellt sich bei diesen Hypothesen die Frage, ob CCN1 aufgrund von VHF vermehrt exprimiert wird oder ob CCN1 VHF begünstigt. Die erste Überlegung ist laut Lin et al. die wahrscheinlich plausiblere These⁴².

5.5.1 Der Biomarker CCN1 und die Art des Vorhofflimmerns

Paroxysmales und persistierendes VHF unterscheiden sich in Hinsicht der Dauer voneinander. Hierbei tritt paroxysmales VHF rezidivierend für jeweils maximal sieben Tage auf und konvertiert meist spontan in den Sinusrhythmus. Die persistierende Form dauert hingegen über eine Woche an und wird dann auch oft iatrogen versucht zu konvertieren.

In der vorliegenden Kohorte wurden höhere CCN1-Serumspiegel bei Pat mit der paroxysmalen verglichen mit der persistierenden Form von VHF gemessen. Das Ergebnis war jedoch nicht signifikant. Haissaguerre et al. stellten mittels atrialem Mapping fest, dass die Fibroelast nicht von der Art des VHF abhängig sein muss. Es konnten sowohl eine hohe atriale Fibroelast bei nur kurz auftretendem VHF als auch eine niedrige Fibroelast bei länger bestehendem VHF festgestellt werden¹⁹. Bei der Form des paroxysmalen VHF könnte es durch ein wiederkehrendes Auftreten von VHF-Episoden zu einer im Vergleich zur persistierenden Form erhöhten Bildung von Fibroesubstrat im Atrium kommen. Durch immer wieder neu entstehende Fibroseareale könnte es auch wiederholt zu einer Ausschüttung des Serummarkers CCN1 kommen und somit langfristig zu etwas höheren Spiegeln führen. Chiang et. al konnten mittels micro-RNA-Analysen bereits zeigen, dass es bei paroxysmalem VHF zu einer Dysregulation der TGF- β -Signalkaskade kommt⁶. Da TGF- β bekanntermaßen zu einer Ausschüttung von CCN1 führt³⁷, könnte dies erhöhte Spiegel bei paroxysmalem VHF erklären.

5.5.2 Der Biomarker *CCN1* und die Dauer des Vorhofflimmerns

Anhand der Dauer des VHF erfolgt die Unterteilung in die Unterformen. Sobald das VHF als nicht in den Sinusrhythmus konvertierbar eingestuft wurde, spricht man von permanentem VHF.

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass mit der Dauer des VHF, also die VHF-Last, auch die Fibroelast ansteigt. Diese Überlegung geht hervor aus der Annahme, dass es mit der VHF-Dauer zu einer Umstrukturierung der Vorhöfe kommt⁷⁰. Ma et al. stellten fest, dass atriale Fibrose durch VHF vermehrt gebildet wird und wiederum umgekehrt dadurch VHF aufrechterhalten wird und somit ein *circulus vitiosus* entsteht, der mit der Dauer an VHF- und Fibroelast zunimmt⁴⁶.

In der vorliegenden Kohorte konnte entgegen den Erwartungen kein Zusammenhang zwischen CCN1-Serumwerten und der VHF-Dauer beobachtet werden. Aus den ursprünglichen Überlegungen heraus, dass CCN1 als Marker kardialer Fibrose auch ein möglicher Marker von VHF sein könnte, lässt sich daraus kein wirklicher Schluss ziehen. Da man davon ausgeht, dass sich mit der Zeit vermehrt atriale Fibrose bildet, würde man auch einen Anstieg des Markers im Serum erwarten. Eine mögliche eingeschränkte Beurteilbarkeit dieses Ergebnisses in der Kohorte könnte sein, dass es zu vielen der Pat

keine Daten bezüglich VHF-Dauer gab (nur bei etwa der Hälfte der Pat zum BL-Zeitpunkt lag diese Information vor).

5.6 Der Biomarker *CCN1* im Kontext der Pulmonalvenenisolation

5.6.1 Einfluss stattgehabter Pulmonalvenenisolation vor Studieneinschluss auf den Biomarker *CCN1*

Bei einer PVI wird artifiziell Fibrose im linken Atrium erzeugt. Kottkamp et al. haben beschrieben, dass vor geplanter PVI mittels elektroanatomischem Mapping individuell linksatriales Fibrosesubstrat detektiert werden sollte, um eine höhere Erfolgswahrscheinlichkeit der Intervention zu erzielen. Sie haben beobachtet, dass linksatriales Fibrosesubstrat als Prädiktor für den Erfolg einer PVI gilt³².

In unserer Kohorte hatte ca. jede/r fünfte Pat in der Vergangenheit bereits eine PVI erhalten. Bei Pat mit stattgehabter Ablation konnten tendenziell höhere *CCN1*-Serumspiegel gemessen werden. Pat mit mehreren PVIs in der Vergangenheit, somit auch frustranen Ablationsversuchen, zeigten tendenziell höhere *CCN1*-Serumwerte in der Kohorte. Dies könnte damit zusammenhängen, dass frustrane PVI-Versuche mit einer erhöhten VHF- & Fibroselast einhergehen und somit chronisch erhöhte *CCN1*-Serumlevel vorliegen.

5.6.2 Einfluss der durchgeführten Pulmonalvenenisolation auf den Biomarker *CCN1*

Durch eine erfolgreiche Katheterablation der PV mit Überführung in einen stabilen Sinusrhythmus ist eine verringerte Fibroselast auf Vorhofebene anzunehmen.

In der vorliegenden Kohorte konnte ein signifikantes Absinken der *CCN1*-Serumspiegel einen Tag nach Ablation gemessen werden.

Die Ergebnisse der vorgelegten Analysen zeigen einen möglichen Einfluss der PVI auf *CCN1*-Serumlevel.

Wenn man *CCN1* als Fibrose-widerspiegelnden Serummarker betrachtet, würde dies das Absinken desselben einen Tag nach der PVI in der vorliegenden Kohorte erklären.

Andererseits könnte es auch sein, dass CCN1 auf die künstlich erzeugte Fibrose im Rahmen der PVI reagiert hat. Es besteht die Möglichkeit, dass CCN1 auf den künstlich erzeugten Fibrosereiz der PVI kurzzeitig vermehrt exprimiert wurde, um einer überschießenden Fibrose im Atrium entgegenzuwirken. Da CCN1 ein immediate-early Genprodukt ist⁶⁶, wobei von einer Erhöhung der Expression innerhalb von Minuten gesprochen wird⁷, könnte dies erklären, weshalb die Serumlevel einen Tag nach PVI bereits wieder abgesunken sind.

In MRT-gesteuerten Darstellungen des linken Atriums und der PV konnten Rav Acha et al. zeigen, dass eine zirkumferentielle Fibrosebildung um den jeweiligen Eingang der Pulmonalvene prozentual häufiger zu einer erfolgreichen PVI geführt hat, als wenn lediglich partielle Fibrosebildung in den PV detektiert wurde.

Somit scheint es einen Unterschied zu geben, wo sich Fibrose befindet – atriale Fibrose wird als einer der Triggerfaktoren zur Aufrechterhaltung von VHF angesehen, währenddessen die künstlich erzeugte Fibrose in den PV (an den Ostien) im Rahmen der PVI im besten Fall zur Beendigung der Erkrankung führt⁶⁰.

Lee et al. konnten zeigen, dass CCN5 als weiterer Vertreter aus der CCN-Familie zu einer Verringerung der kardialen Fibroelast an sich führt, somit anti-fibrotisch wirkt. Durch erzeugte Fibrosereize wurde eine Erhöhung von CCN5-Serumleveln beobachtet, welche zur Folge hatte, dass kardiales Remodeling verringert wurde und somit auch die Gefahr der Fibroseentstehung³⁸. Hsu et al. untersuchten die genauen Funktionen von CCN1 in verletztem Myokard. Man kam zu dem Schluss, dass CCN1 zu einer Apoptose von Fibroblasten und Kardiomyozyten führt und dies vornehmlich über einen bestimmten Integrinrezeptor, der in differenzierten Herzmuskelzellen exprimiert wird²³.

Es gibt zwei Erklärungsansätze bezüglich einer vorübergehend erhöhten Genexpression von CCN1 und einem folglich Absinken des Markers einen Tag nach erfolgter PVI.

- Es ist möglich, dass bei der künstlichen erzeugten Narbe bzw. Fibrose durch die Ablation kurzzeitig viel CCN1 verbraucht wird, um die EZM in Narbengewebe umzustrukturieren und einer übermäßigen Fibrosebildung entgegenzuwirken. Dadurch könnte der Marker einen Tag nach Ablation geringer sein als vor der Ablation.
- Die andere Möglichkeit bildet die Überlegung, dass aufgrund der Elimination von VHF durch die Ablation weniger Reiz für die Ausschüttung von

CCN1 besteht und deswegen die CCN1-Serumspiegel einen Tag nach PVI verringert sind.

Ob eine Kausalität zwischen der VHF-Last und gemessenen CCN1-Serumspiegeln besteht, kann mit dieser Arbeit nicht abschließend geklärt und auch der zytopathologische Mechanismus nicht nachvollzogen, sondern nur vermutet werden.

5.6.2.1 Betrachtung der Ablationsarten im Hinblick auf den *Biomarker CCN1*

In der vorliegenden Kohorte erfolgte die PVI entweder mittels Kryoablations- oder HF-Technik. Bei der Variante der Kryoablation erfolgte mittels eines stark gekühlten Ballons eine kreisförmige Verödung im Mündungsbereich der PV. Bei Applikation von Strom erfolgte dies punktförmig.

In der Kohorte zeigten sich kein signifikanter Unterschied der CCN1-Serumspiegel nach Kryoablation im Vergleich zur HF-Applikation einen Tag nach Intervention. Auch die absolute Änderung der CCN1-Serumspiegel (absolutes Delta CCN1) war im Vergleich der Ablationsarten nahezu identisch.

Akoum et al. konnten zeigen, dass die Erzeugung einer künstlichen Narbe während PVI in ihrer Ausprägung unabhängig von Dauer und Stärke der Stromapplikation war. Sie postulierten, dass die Rezidivfreiheit von VHF allein von der nach Ablation verbliebenen Fibrose abhängig sei¹. Dies würde erklären, wieso die Art der Ablationstechnik in der vorliegenden Kohorte keine Auswirkung auf die Veränderung von CCN1 hatte.

Bei Vorhofflattern erfolgt standardmäßig oft eine Ablation des cavotrikuspidalen Isthmus.

Bei zusätzlicher Ablation des cavotrikuspidalen Isthmus zeigten sich in der vorliegenden Kohorte tendenziell höhere CCN1-Serumwerte einen Tag nach Intervention. Das absolute Absinken des Spiegels war jedoch bei alleiniger PVI höher.

Da die zusätzliche Ablation bei dem Auftreten von Vorhofflattern durchgeführt wurde, könnte dies erklären, weshalb das absolute Delta etwas geringer ausfällt.

Guichard et al. haben bereits festgestellt, dass es im Gegensatz zu VHF beim Vorhofflattern nicht zu einem Remodeling des linken Atriums kommt und somit auch nicht zu einer Fibrosebildung¹⁸. Mutmaßlich ist das Absinken des Fibrosemarkers CCN1 somit

höher, wenn von vornherein mehr Fibrosesubstrat vorliegt. Die Arbeit konnte somit keinen klaren Bezug zwischen CCN1 und Vorhofflattern zeigen.

5.7 Outcome der Pulmonalvenenisolation nach einem Jahr

Die durchgeführte PVI wurde als erfolgreich bewertet, wenn die Pat frei von VHF waren. VHF-Episoden, welche länger als 30 Sekunden am Stück anhielten, wurden als VHF-Rezidiv klassifiziert und mittels EKG aufgezeichnet.

Insgesamt wurde bei knapp 78% der Studienteilnehmer:innen die durchgeführte PVI ein Jahr später als erfolgreich bewertet. Es lag somit eine etwas bessere Erfolgsquote der PVI vor, als in der Studie von Jurcevic et al. beschrieben wurde²⁶.

5.7.1 Abhängigkeit der Vorhofflimmerrezidivfreiheit nach einem Jahr von ausgewählten Variablen

5.7.1.1 Assoziation von Ablationstechnik und dem Outcome der Pulmonalvenenisolation

Sowohl die HF-Technik als auch die Kryo-Ablation stellen für die PVI etablierte Techniken dar. Jedoch konnten Kim et al. bessere Outcome-Raten bei Anwendung der Kryoballon-Variante aufzeigen: sowohl die Rate der Wiederherstellung der linksatrialen Kontraktion als auch die linksventrikuläre Pumpfunktion zeigte sich im Vergleich mit der Radiofrequenzablation deutlich höher²⁷. Dies könnte damit zusammenhängen, dass der Ballon die pulmonalen Venenostien komplett umschließt, also eine kontinuierliche Narbenlinie erzeugt, womit keine Möglichkeit der Reizweiterleitung von dort in das linke Atrium mehr bestehen kann. Bei punktförmiger Applikation von HF (Hochfrequenzstrom) wird es zwischen den gesetzten Verödungen kleinste Abstände geben, welche die Möglichkeit einer Reizweiterleitung nicht gänzlich ausschließen.

Die Art der Ablation (HF- oder Kryotechnik) könnte in der vorliegenden Kohorte einen Einfluss auf die Erfolgswahrscheinlichkeit der PVI gehabt haben. In der Kohorte wurde beobachtet, dass die Kryo-Ablation prozentual häufiger zu einer Rezidivfreiheit führte.

Dieses Ergebnis ist jedoch nur eingeschränkt zu bewerten, da HF meist bei kränkeren Pat und jenen mit bereits stattgehabten PVI in der Vergangenheit angewandt wird.⁶⁹ Es lag demnach Selektionsbias vor. In dieser Arbeit konnte der Einfluss der Ablationstechnik auf die Erfolgsquote der Ablation somit nicht hinreichend bewertet werden.

5.7.1.2 Assoziation von Vorhofflimmerart und dem Outcome der Pulmonalvenenisolation

Strisciuglio et al. haben in ihrem Review von 2020 beschrieben, dass bei paroxysmalem VHF noch keine bzw. kaum Umstrukturierung des linken Atriums stattgefunden hat⁷⁶. Wie bereits beschrieben, schreitet die Bildung von Fibrosesubstrat mit der Zeit des Bestehens von VHF fort, was dazu führt, dass sich paroxysmales VHF, welches immer wieder eine kurze Zeit auftritt, in die persistierende, länger anhaltende, Form umwandelt. Über eine atriale Dilatation kann sich vermehrt atriale Fibrose ausbilden, was den Progress der atrialen Fibrose voranbringt. Mikhailov et al. konnten zeigen, dass in Regionen mit vermehrten Reentry-Strömen auch vermehrt Fibrosesubstrat zu finden ist⁵². In der vorliegenden Kohorte zeigte sich bei Pat mit paroxysmalem VHF eine höhere Erfolgsquote als bei jenen mit der persistierenden Form.

5.7.1.3 Assoziation von Vorhofflimmerdauer bis Studienschluss und dem Outcome der Pulmonalvenenisolation

Passend zur Beobachtung höherer Erfolgchancen der PVI bei paroxysmalem VHF sinkt mit der Dauer des VHF die Erfolgswahrscheinlichkeit der PVI³². In dieser Kohorte konnte entgegen den Erwartungen kein signifikanter Zusammenhang zwischen VHF-Dauer und Erfolgsquote beobachtet werden. Tendenziell zeigte sich jedoch bei den nach einem Jahr rezidivfreien Pat eine vor Studieneinschluss geringere VHF-Dauer. Man würde aufgrund bestehender Literatur davon ausgehen, dass die VHF- und Fibroselast mit der Dauer des VHF steigt und einen Erfolg der Ablation unwahrscheinlicher macht. Die Variable „Dauer des VHF“ war eine rein klinische Angabe durch die Pat bzw. aus Akten erhoben und somit unpräzise, was den ausbleibenden Zusammenhang erklären könnte.

5.7.1.4 Assoziation von bereits stattgehabten Ablationen und dem Outcome der aktuellen Pulmonalvenenisolation

Das Risiko eines VHF-Rezidivs bei bereits erfolgten Ablationen in der Vergangenheit ist deutlich höher als bei erstmaliger Prozedur. So haben bereits Verma et al. gezeigt, dass „left atrial scarring“ (linksatriale Narbenbildung), welche im Rahmen der Ablation erzeugt wird, ein wichtiger Prädiktor hinsichtlich des Scheiterns der PVI darstellt⁷⁹.

Ein signifikanter Einfluss bereits stattgehabter PVI in der Vergangenheit auf den Erfolg nach einem Jahr konnte in der vorliegenden Kohorte nicht beobachtet werden. Hierbei hätte man erwartet, dass bei Pat, die bereits mindestens eine erfolglose PVI in der Vergangenheit erhalten haben, von einer erhöhten Fibroselast auszugehen ist, was die Prozedur der Katheterablation erschweren würde und somit ein weiteres Rezidiv begünstigen würde. Mithilfe aktueller Literatur ist das Ergebnis in dieser Kohorte nicht zu erklären, weswegen weitere Studien hinsichtlich Erfolg-beeinflussender Faktoren der PVI für den klinischen Alltag sinnvoll wären.

5.7.2 Zusammenhang zwischen Vorhofflimmerrezidivfreiheit nach einem Jahr und dem Biomarker CCN1

Herczeg et al. konnten zeigen, dass vermehrte linksatriale Fibrose zu einem Fortschreiten von VHF führt und gleichzeitig die Erfolgchancen einer PVI verringert²¹.

Es zeigten sich in der vorliegenden Kohorte signifikant höhere CCN1-Veränderungen bei PVI, welche nach einem Jahr als erfolgreich (rezidivfrei) bewertet wurden.

Dies lässt sich mit der Hypothese erklären, dass atriales Fibrosesubstrat bei Pat ohne VHF-Rezidiv mit der Ablation weitestgehend eliminiert wurde. Somit könnte es sein, dass bei einem starken Absinken von CCN1-Serumspiegeln auch mehr Fibrosesubstrat entfernt wurde und die absolute Veränderung des Spiegels die Substratlast widerspiegelt.

5.7.2.1 Schätzung der Wahrscheinlichkeit der Vorhofflimmerrezidivfreiheit nach einem Jahr mithilfe des *Biomarkers CCN1*

In der vorliegenden Kohorte trug die Veränderung von CCN1 nicht zur besseren Prognosefähigkeit hinsichtlich Erfolgswahrscheinlichkeit der PVI nach einem Jahr bei. Es zeigte sich zwar ein signifikantes Ergebnis des Modells, jedoch lag die Odds Ratio bei ca. 1, weswegen der Einfluss der CCN1-Veränderung auf die Erfolgsbewertung nach einem Jahr klinisch eher nicht von Bedeutung scheint.

Die Veränderung von CCN1 konnte den EKG-Rhythmus nach einem Jahr, welcher den Erfolg der PVI widerspiegelt, etwas besser prognostizieren, jedoch nicht hinreichend genug für eine relevante Outcome-Schätzung. Die klinische Relevanz der Vorhersagekraft der Erfolgchancen der PVI mittels CCN1-Veränderung ist somit nicht sicher.

5.8 Limitationen der Studie

Der Serummarker CCN1 wurde einen Tag nach der Ablation gemessen. Da der Marker ein early response Gen ist, somit innerhalb von Minuten auf Reize reagiert, könnte die Messung dementsprechend nicht den Einfluss der Ablation widerspiegeln sondern „zu spät“ gemessen worden sein. Somit kann man aus diesem Studienaufbau nicht sicher schlussfolgern, dass das Absinken von CCN1 im Serum aufgrund der Beseitigung oder Reduktion der VHF-Last stattgefunden hat.

Weiterhin wäre zur Quantifizierung der Fibroelast im Atrium eine Messung mittels MRT oder eine Biopsie optimal gewesen, um einen Zusammenhang zwischen Fibroelast, dem Auftreten von VHF und dem Serummarker CCN1 zu stellen. Da dies jedoch eine klinische Registerstudie darstellt, konnten keine solchen Messungen vorgenommen werden.

5.9 Schlussfolgerung und Ausblick

Insgesamt lässt sich aus den Ergebnissen schlussfolgern, dass CCN1 mit der Krankheitsentität VHF in Zusammenhang zu bringen ist. Mutmaßlich fungiert CCN1 als kardialer Fibrosemarker, welcher die Fibrose- und somit auch VHF-Last anzeigt. Dies zeigt sich in einer vermehrten Expression und damit messbaren höheren Serumleveln des Markers.

In dieser Kohorte konnte eine Geschlechtervarianz des CCN1-Biomarkers beobachtet werden, wobei bei Frauen höhere Serumspiegel gemessen wurden.

Des Weiteren kann man sagen, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit der durchgeführten PVI von der Größe der VHF-Last abhängt. Je länger VHF besteht, desto unwahrscheinlicher scheint die Ablation später als erfolgreich bewertet zu werden. Außerdem machen PVIs in der Vergangenheit, welche frustan waren, den Erfolg auch tendenziell etwas unwahrscheinlicher.

Um die spannenden Ergebnisse dieser Registerstudie weiter zu analysieren, wären Nachfolgestudien sinnvoll. Für eine bessere Beurteilung des Zusammenhangs zwischen VHF und CCN1 empfiehlt es sich, auch aus den Blutproben zu den Follow-Up-Zeitpunkten (drei und zwölf Monate) die CCN1-Serumlevel zu messen, um den Verlauf des Markers zu verfolgen.

Weiterhin wäre es in einem nächsten Schritt sinnvoll, mittels MRT-Mapping des linken Atriums eine genaue Messung des Fibrosesubstrats durchzuführen, um eine mögliche Kausalität zwischen bestehendem VHF und CCN1-Serumleveln zu beschreiben.

Bislang gibt es keine etablierten nicht-invasiven Methoden im Rahmen von Routineuntersuchungen bei niedergelassenen Fachärzt:innen, was die Suche nach einem aussagekräftigen Serummarker notwendig macht. Aus der randomisiert kontrollierten Studie von Lubitz et al. von 2022 ging bereits hervor, dass prophylaktisches VHF-Screening mittels „Handheld“-EKG-Aufnahmen keinen Benefit für das Outcome der Pat gebracht hat⁴⁵. Möglicherweise eignet sich der hier untersuchte Serummarker CCN1 besser für eine frühzeitige Diagnosestellung von VHF.

Vorhofflimmern (VHF) ist die häufigste Herzrhythmusstörung in Deutschland mit einer Prävalenz von 2%. Aufgrund der demografischen Entwicklung einer alternden Bevölkerung wird eine Zunahme der Prävalenz in den nächsten Jahren erwartet.

Da VHF oft asymptomatisch bleibt und ein erhöhtes Schlaganfallrisiko für Patient:innen besteht, ist für eine Verbesserung von Prognose der Erkrankung und Lebensqualität eine frühzeitige Diagnostik sinnvoll. Bislang erfolgt diese mittels EKG, wobei es noch keine ausgereiften Screening-Verfahren zur Detektion von VHF gibt.

Mit dieser Arbeit wurde untersucht, ob der Fibrosemarker cellular communication network factor 1 (CCN1) mit VHF assoziiert ist und ggf. als Biomarker zur einfachen Diagnostik von VHF genutzt werden kann.

Pathophysiologisch spielt ein atriales Fibrosesubstrat bei VHF eine große Rolle, weswegen die Hypothese eines möglichen Zusammenhangs zu genanntem Fibrosemarker CCN1 aufgestellt wurde.

In der Kohorte befanden sich insgesamt 155 Pat mit VHF, welche eine Pulmonalvenenisolation (PVI) erhalten haben. Einen Tag vor und einen Tag nach der PVI wurde CCN1 aus Serumproben der Pat mittels ELISA-Technik bestimmt.

Es zeigte sich ein signifikanter Abfall von CCN1-Serumspiegeln einen Tag nach der PVI. Die Hypothese einer vermehrten CCN1-Expression bei VHF wurde durch das Ergebnis des Spiegelabfalls somit unterstützt. Weiterhin wurde die PVI nach einem Jahr (Follow-up) eher als erfolgreich bewertet, wenn der Abfall der CCN1-Spiegel größer war. Jedoch konnte man schlussendlich nicht die Erfolgswahrscheinlichkeit der PVI nach einem Jahr anhand der Veränderung von CCN1 schätzen.

Es bot sich eine Geschlechtervarianz des CCN1-Biomarkers, wobei Serumspiegel bei Frauen signifikant höher lagen.

Aus den Ergebnissen zeigt sich eine Assoziation von VHF und CCN1. Der genaue zytopathologische Mechanismus der Beeinflussung konnte mit dieser Arbeit hingegen nicht geklärt werden.

Sinnvoll wären Folgestudien, in welchen zu den Follow-up-Zeitpunkten nach drei Monaten und nach einem Jahr CCN1-Serumspiegel gemessen werden. Weiterhin könnte mittels MRT-Mapping eine Messung des atrialen Fibrosesubstrats erfolgen, um einen genaueren Zusammenhang zwischen VHF-Last und CCN1-Serumleveln darzustellen.

Atrial fibrillation (AF) is the most common cardiac arrhythmia in Germany with a prevalence of 2%. Due to the demographic development of an aging population, an increase in prevalence is expected in the coming years.

Since AF often remains asymptomatic and there is an increased risk of stroke for patients, early diagnosis is useful to improve the prognosis of the disease and quality of life. So far, this has been done using an ECG, although there are still no established screening methods for detecting AF.

This study investigated whether the fibrosis marker cellular communication network factor 1 (CCN1) is associated with AF and can possibly be used as a biomarker for the uncomplicated diagnosis of AF.

Pathophysiologically, an atrial fibrosis substrate plays a major role in AF, which is why the hypothesis of a possible connection to the fibrosis marker CCN1 was put forward.

The cohort included a total of 155 patients with AF who had undergone pulmonary vein isolation (PVI). One day before and one day after PVI, CCN1 was determined from serum samples from the patients using ELISA technology.

There was a significant drop in CCN1 serum levels one day after PVI. The hypothesis of increased CCN1 expression in AF was thus supported by the result of the drop in levels. Furthermore, PVI was more likely to be rated as successful after one year (follow-up) if the drop in CCN1 levels was greater. However, the probability of success of PVI after one year could not ultimately be estimated based on the change in CCN1. There was a gender variance in the CCN1 biomarker, with serum levels being significantly higher in women.

The results showed an association between AF and CCN1. However, the exact cytopathological mechanism of the influence could not be clarified with this study.

Follow-up studies in which CCN1 serum levels are measured at follow-up times after three months and one year would be useful. Furthermore, MRI mapping could be used to measure the atrial fibrosis substrate in order to show a more precise relationship between AF burden and CCN1 serum levels.

AKS.....	<i>Akutes Koronarsyndrom</i>
ANS.....	<i>Autonomes Nervensystem</i>
AT II.....	<i>Angiotensin II</i>
AUC.....	<i>Area under the curve</i>
BL.....	<i>Baseline</i>
BMI.....	<i>Body Mass Index</i>
CCN1.....	<i>cellular communication network factor 1</i>
CRP.....	<i>C-reaktives Peptid</i>
eGFR.....	<i>geschätzte glomeruläre Filtrationsrate</i>
EKG.....	<i>Elektrokardiogramm</i>
ESC.....	<i>European Society of Cardiology</i>
EZM.....	<i>Extrazellulärmatrix</i>
FACM.....	<i>fibrotic atrial cardiomyopathy</i>
FU1d.....	<i>Follow-up Tag eins</i>
Hb.....	<i>Hämoglobin</i>
HF.....	<i>Hochfrequenzstrom</i>
IQR.....	<i>interquartile range (Interquartilsabstand)</i>
KHK.....	<i>Koronare Herzkrankheit</i>
Mdn.....	<i>Median</i>
NOAK.....	<i>Neue orale Antikoagulanzen</i>
Pat.....	<i>Patient:innen</i>
PDGF.....	<i>platelet-derived growth factor</i>
PV.....	<i>Pulmonalvenen</i>
PVI.....	<i>Pulmonalvenenisolation</i>
RAAS.....	<i>Renin-Angiotensin-Aldosteron-System</i>
ROC.....	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
TEE.....	<i>Transösophageale Echokardiographie</i>
TGF- β	<i>Transforming growth factor-beta</i>
VHF.....	<i>Vorhofflimmern</i>
VKA.....	<i>Vitamin-K-Antagonisten</i>

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: EKG eines/r Patient:in aus der Studienkohorte mit Vorhofflimmern 2

Abbildung 2: Linkes Atrium mit Darstellung der Lage der vier Pulmonalvenen 5

Abbildung 3: Workflow diagnostischer Schritte bei Vorhofflimmern 11

Abbildung 4: Vergleich von Hochfrequenzstrom- (links) und Kryoablation (rechts) als interventionelle Therapie bei Vorhofflimmern 14

Abbildung 5: Proteinstruktur von CCNI mit Darstellung seiner vier Untereinheiten ... 19

Abbildung 6: Erste Auswahl des Patient:innenkollektivs unter Berücksichtigung, dass eine Pulmonalvenenisolation durchgeführt wurde 26

Abbildung 7: Studiendesign 28

Abbildung 8 – Verteilung des CHA₂DS₂VASc-Scores (0-6 P.) bei der Studienkohorte.. 39

Abbildung 9 – Verteilung von CCNI-Serumspiegeln bei Studieneinschluss 40

Abbildung 10 - Positive Korrelation zwischen Alter der Patient:innen und CCNI-Serumspiegeln 41

Abbildung 11 – Einfluss von CHA₂DS₂VASc-Scorewerten auf CCNI-Serumlevel..... 42

Abbildung 12 - Korrelationsmatrix ausgewählter Laborparameter 45

Abbildung 13 - Einfluss vergangener Pulmonalvenenisolationen auf CCNI-Serumspiegel, Gruppierung max. 2 vs. 3 Pulmonalvenenisolationen..... 46

Abbildung 14 - Verteilung der CCNI-Serumspiegel..... 47

Abbildung 15 - Schätzung des Ruhe-EKG-Rhythmus nach einem Jahr (Erfolgskontrolle der Pulmonalvenenisolation) mittels relativer CCNI-Veränderung (delta CCNI)..... 51

Tabelle 1: Typen von Vorhofflimmern mit Angabe der jeweiligen Dauer3

Tabelle 2: Vergleich von CHA₂DS₂-VASc Score (linke Spalte) und HAS-BLED Score (rechte Spalte) zur Evaluation der Notwendigkeit einer Antikoagulation bei Vorhofflimmern17

Tabelle 3: Abhängigkeit des jährlichen Schlaganfallrisikos (rechte Spalte) vom CHA₂DS₂-VASc Score (linke Spalte) bei Vorhofflimmern..... 18

Tabelle 4: Baseline-Tabelle mit Charakteristika der Studienkohorte38

Tabelle 5: Baseline-Tabelle mit Vorhofflimmer-spezifischen Charakteristika der Studienkohorte.....40

Tabelle 6: Baseline-Tabelle mit Laborparametern.....44

1. Akoum, N., Morris, A., Perry, D., Cates, J., Burgon, N., Kholmovski, E., MacLeod, R., & Marrouche, N. (2015). Substrate Modification Is a Better Predictor of Catheter Ablation Success in Atrial Fibrillation Than Pulmonary Vein Isolation: An LGE-MRI Study. *Clinical Medicine Insights. Cardiology*, 9, 25–31. <https://doi.org/10.4137/CMC.S22100>
2. Antipolis, S. (2019, 6. Juni). *Atrial fibrillation set to affect more than 14 million over-65s in the EU by 2060*. <https://escardio.org/The-ESC/Press-Office/Press-releases/Atrial-fibrillation-set-to-affect-more-than-14-million-over-65s-in-the-EU-by-2060>
3. Bertaglia, E., Blank, B., Blomström-Lundqvist, C., Brandes, A., Cabanelas, N., Dan, G. A., Dichtl, W., Goette, A., de Groot, J. R., Lubinski, A., Marijon, E., Merkely, B., Mont, L., Piorkowski, C., Sarkozy, A., Sulke, N., Vardas, P., Velchev, V., Wichterle, D., & Kirchhof, P. (2019). Atrial high-rate episodes: prevalence, stroke risk, implications for management, and clinical gaps in evidence. *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 21(10), 1459–1467. <https://doi.org/10.1093/europace/euz172>
4. Brigstock D. R. (2003). The CCN family: a new stimulus package. *The Journal of endocrinology*, 178(2), 169–175. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1780169>
5. Calkins, H., Hindricks, G., Cappato, R., Kim, Y. H., Saad, E. B., Aguinaga, L., Akar, J. G., Badhwar, V., Brugada, J., Camm, J., Chen, P. S., Chen, S. A., Chung, M. K., Cosedis Nielsen, J., Curtis, A. B., Davies, D. W., Day, J. D., d'Avila, A., Natasja de Groot, N. M. S., Di Biase, L., ... Document Reviewers: (2018). 2017 HRS/EHRA/ECAS/APHS/SOLAECE expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial

- fibrillation. *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 20(1), e1–e160. <https://doi.org/10.1093/europace/eux274>
6. Chiang, D. Y., Zhang, M., Voigt, N., Alsina, K. M., Jakob, H., Martin, J. F., Dobrev, D., Wehrens, X., & Li, N. (2015). Identification of microRNA-mRNA dysregulations in paroxysmal atrial fibrillation. *International journal of cardiology*, 184, 190–197. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.01.075>
 7. Cullinan, W. E., Herman, J. P., Battaglia, D. F., Akil, H., & Watson, S. J. (1995). Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience*, 64(2), 477–505. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)00355-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)00355-9)
 8. Denham, N. C., Pearman, C. M., Caldwell, J. L., Madders, G., Eisner, D. A., Trafford, A. W., & Dibb, K. M. (2018). Calcium in the Pathophysiology of Atrial Fibrillation and Heart Failure. *Frontiers in physiology*, 9, 1380. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01380>
 9. Deutsche Herzstiftung e.V. (2021, Juni). *Deutscher Herzbericht 2020*. <https://www.herzstiftung.de/system/files/2021-06/Deutscher-Herzbericht-2020.pdf>
 10. DRG *Cyr61 ELISA*. (2012, Januar). https://www.drg-diagnostics.de/files/eia-5108_ifu--cyr61_2012-01-16_ende.pdf
 11. ESC (2021). 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *European heart journal*, 42(5), 373–498. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa612>

12. ESC, DGK (2016). ESC Pocket Guidelines. Management von Vorhofflimmern. Kommentar zu den 2016 ESC Guidelines for the Management of Atrial Fibrillation. *European heart journal* 2016. https://leitlinien.dgk.org/files/2016_Pocket-Leitlinie_Vorhofflimmern.pdf
13. Feng, T., Meng, J., Kou, S., Jiang, Z., Huang, X., Lu, Z., Zhao, H., Lau, L. F., Zhou, B., & Zhang, H. (2019). CCN1-Induced Cellular Senescence Promotes Heart Regeneration. *Circulation*, 139(21), 2495–2498. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039530>
14. Gažová, A., Leddy, J. J., Rexová, M., Hlivák, P., Hatala, R., & Kyselovič, J. (2019). Predictive value of CHA2DS2-VASc scores regarding the risk of stroke and all-cause mortality in patients with atrial fibrillation (CONSORT compliant). *Medicine*, 98(31), e16560. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016560>
15. Gill J. S. (2004). How to perform pulmonary vein isolation. *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 6(2), 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.eupc.2003.12.003>
16. Greiser, M., Kerfant, B. G., Williams, G. S., Voigt, N., Harks, E., Dibb, K. M., Giese, A., Meszaros, J., Verheule, S., Ravens, U., Allessie, M. A., Gammie, J. S., van der Velden, J., Lederer, W. J., Dobrev, D., & Schotten, U. (2014). Tachycardia-induced silencing of subcellular Ca²⁺ signaling in atrial myocytes. *The Journal of clinical investigation*, 124(11), 4759–4772. <https://doi.org/10.1172/JCI70102>
17. Grosu, A. I., Radulescu, D., Grosu, L. C., & Pop, D. (2019). Remodelling in atrial fibrillation: the impact of amiodarone. *Cardiovascular journal of Africa*, 30(3), 174–180. <https://doi.org/10.5830/CVJA-2019-012>

18. Guichard, J. B., Naud, P., Xiong, F., Qi, X., L'Heureux, N., Hiram, R., Tardif, J. C., Cartier, R., Da Costa, A., & Nattel, S. (2020). Comparison of Atrial Remodeling Caused by Sustained Atrial Flutter Versus Atrial Fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(4), 374–388. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.05.062>
19. Haissaguerre, M., Shah, A. J., Cochet, H., Hocini, M., Dubois, R., Efimov, I., Vigmond, E., Bernus, O., & Trayanova, N. (2016). Intermittent drivers anchoring to structural heterogeneities as a major pathophysiological mechanism of human persistent atrial fibrillation. *The Journal of physiology*, 594(9), 2387–2398. <https://doi.org/10.1113/JP270617>
20. Haverkamp, W. & Breithardt, G. (2003). *Moderne Herzrhythmustherapie*. (1. Aufl.). Thieme. DOI: 10.1055/b-0034-5238
21. Herczeg, S., Keaney, J. J., Keelan, E., Howard, C., Walsh, K., Geller, L., Szeplaki, G., & Galvin, J. (2021). Classification of Left Atrial Diseased Tissue Burden Determined by Automated Voltage Analysis Predicts Outcomes after Ablation for Atrial Fibrillation. *Disease markers*, 2021, 5511267. <https://doi.org/10.1155/2021/5511267>
22. Hirsh, B. J., Copeland-Halperin, R. S., & Halperin, J. L. (2015). Fibrotic atrial cardiomyopathy, atrial fibrillation, and thromboembolism: mechanistic links and clinical inferences. *Journal of the American College of Cardiology*, 65(20), 2239–2251. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.03.557>
23. Hsu, P. L., Su, B. C., Kuok, Q. Y., & Mo, F. E. (2013). Extracellular matrix protein CCN1 regulates cardiomyocyte apoptosis in mice with stress-induced cardiac injury. *Cardiovascular research*, 98(1), 64–72. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvt001>
24. Jay, P., Bergé-Lefranc, J. L., Marsollier, C., Méjean, C., Taviaux, S., & Berta, P. (1997). The human growth factor-inducible immediate early gene,

CYR61, maps to chromosome 1p. *Oncogene*, 14(14), 1753–1757.
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1200986>

25. Jun, J. I., Kim, K. H., & Lau, L. F. (2015). The matricellular protein CCN1 mediates neutrophil efferocytosis in cutaneous wound healing. *Nature communications*, 6, 7386. <https://doi.org/10.1038/ncomms8386>
26. Jurcevic, R., Angelkov, L., Tasic, N., Tomovic, M., Kojic, D., Otasevic, P., & Bojic, M. (2021). Pulmonary Vein Isolation Outcome Degree Is a New Score for Efficacy of Atrial Fibrillation Catheter Ablation. *Journal of clinical medicine*, 10(24), 5827. <https://doi.org/10.3390/jcm10245827>
27. Kim KM, Chung S, Kim SY, Kim DJ, Kim JS, Lim C, Park KH. Comparison of Radiofrequency Ablation and Cryoablation for the Recovery of Atrial Contractility and Survival. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2018 Aug;51(4):266-272. doi: 10.5090/kjtcs.2018.51.4.266. Epub 2018 Aug 5. PMID: 30109205; PMCID: PMC6089620.
28. Klingenberg, R., Aghlmandi, S., Liebetrau, C., Räber, L., Gencer, B., Nanchen, D., Carballo, D., Akhmedov, A., Montecucco, F., Zoller, S., Brokopp, C., Heg, D., Jüni, P., Marti Soler, H., Marques-Vidal, P. M., Vollenweider, P., Dörr, O., Rodondi, N., Mach, F., Windecker, S., ... Lüscher, T. F. (2017). Cysteine-rich angiogenic inducer 61 (Cyr61): a novel soluble biomarker of acute myocardial injury improves risk stratification after acute coronary syndromes. *European heart journal*, 38(47), 3493–3502. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx640>
29. Klingenberg, R., Holtkamp, F., Grün, D., Frey, A., Jahns, V., Jahns, R., Gassenmaier, T., Hamm, C. W., Frantz, S., & Keller, T. (2023). Use of serial changes in biomarkers vs. baseline levels to predict left ventricular remodelling after STEMI. *ESC heart failure*, 10(1), 432–441. <https://doi.org/10.1002/ehf2.14204>

- 30.** Ko, D., Rahman, F., Schnabel, R. B., Yin, X., Benjamin, E. J., & Christophersen, I. E. (2016). Atrial fibrillation in women: epidemiology, pathophysiology, presentation, and prognosis. *Nature reviews. Cardiology*, *13*(6), 321–332. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2016.45>
- 31.** Kornej, J., Börschel, C. S., Benjamin, E. J., & Schnabel, R. B. (2020). Epidemiology of Atrial Fibrillation in the 21st Century: Novel Methods and New Insights. *Circulation research*, *127*(1), 4–20. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.316340>
- 32.** Kottkamp, H., Schreiber, D., Moser, F., & Rieger, A. (2017). Therapeutic Approaches to Atrial Fibrillation Ablation Targeting Atrial Fibrosis. *JACC. Clinical electrophysiology*, *3*(7), 643–653. <https://doi.org/10.1016/j.jacep.2017.05.009>
- 33.** Kruszewska J, Cudnoch-Jedrzejewska A, Czarzasta K. Remodeling and Fibrosis of the Cardiac Muscle in the Course of Obesity-Pathogenesis and Involvement of the Extracellular Matrix. *Int J Mol Sci*. 2022 Apr 11;23(8):4195. doi: 10.3390/ijms23084195. PMID: 35457013; PMCID: PMC9032681.
- 34.** Kulkarni, T., Kurundkar, A. R., Kim, Y. I., de Andrade, J., Luckhardt, T., & Thannickal, V. J. (2020). The senescence-associated matricellular protein CCN1 in plasma of human subjects with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiratory medicine*, *161*, 105821. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2019.105821>
- 35.** Kuniss, M. (2021, August). *Vorhofflimmern*. https://www.kerckhoff-klinik.de/fileadmin/Informationen/Vorhofflimmern_Broschuere_2021_web.pdf
- 36.** Lau L. F. (2011). CCN1/CYR61: the very model of a modern matricellular protein. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, *68*(19), 3149–3163. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0778-3>

37. Leask A. (2020). Connexin junction, what's the function? CCN proteins as targets in fibrosis and cancers. *American journal of physiology. Cell physiology*, 318(6), C1046–C1054.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00028.2020>
38. Lee, M. A., Raad, N., Song, M. H., Yoo, J., Lee, M., Jang, S. P., Kwak, T. H., Kook, H., Choi, E. K., Cha, T. J., Hajjar, R. J., Jeong, D., & Park, W. J. (2020). The matricellular protein CCN5 prevents adverse atrial structural and electrical remodeling. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(20), 11768–11778. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15789>
39. Lee, S., Ahad, A., Luu, M., Moon, S., Caesar, J., Cardoso, W. V., Grant, M. B., & Chaqour, B. (2019). CCN1-Yes-Associated Protein Feedback Loop Regulates Physiological and Pathological Angiogenesis. *Molecular and cellular biology*, 39(18), e00107-19. <https://doi.org/10.1128/MCB.00107-19>
40. Lee, S. H., Tai, C. T., Hsieh, M. H., Tsao, H. M., Lin, Y. J., Chang, S. L., Huang, J. L., Lee, K. T., Chen, Y. J., Cheng, J. J., & Chen, S. A. (2005). Predictors of non-pulmonary vein ectopic beats initiating paroxysmal atrial fibrillation: implication for catheter ablation. *Journal of the American College of Cardiology*, 46(6), 1054–1059.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.06.016>
41. Li, H., Zhang, Y., Qiu, Z., Li, H., Zhuang, W., Huo, R., Lin, J., Ou, Q., Shen, B., Zhai, T., Zhang, J., Yu, J., Sheng, H., & Li, N. (2021). Circulating Cysteine Rich Protein 61 (Cyr61, CCN1) in Chinese Adults: Distribution and Reference Intervals. *Clinical laboratory*, 67(3), 10.7754/Clin.Lab.2020.191210.
<https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2020.191210>
42. Lin, S., Tang, J., Li, X., Wu, G., Lin, Y. F., & Li, Y. F. (2023). Mendelian randomization provides evidence for a causal effect of serum insulin-like growth factor family concentration on risk of atrial fibrillation. *World*

- journal of clinical cases*, 11(36), 8475–8485.
<https://doi.org/10.12998/wjcc.v11.i36.8475>
43. Lloyd-Jones, D. M., Wang, T. J., Leip, E. P., Larson, M. G., Levy, D., Vasan, R. S., D'Agostino, R. B., Massaro, J. M., Beiser, A., Wolf, P. A., & Benjamin, E. J. (2004). Lifetime risk for development of atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 110(9), 1042–1046.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000140263.20897.42>
44. Lu, Z., Scherlag, B. J., Lin, J., Niu, G., Fung, K. M., Zhao, L., Ghias, M., Jackman, W. M., Lazzara, R., Jiang, H., & Po, S. S. (2008). Atrial fibrillation begets atrial fibrillation: autonomic mechanism for atrial electrical remodeling induced by short-term rapid atrial pacing. *Circulation. Arrhythmia and electrophysiology*, 1(3), 184–192.
<https://doi.org/10.1161/CIRCEP.108.784272>
45. Lubitz, S. A., Atlas, S. J., Ashburner, J. M., Lipsanopoulos, A., Borowsky, L. H., Guan, W., Khurshid, S., Ellinor, P. T., Chang, Y., McManus, D. D., & Singer, D. E. (2022). Screening for Atrial Fibrillation in Older Adults at Primary Care Visits: VITAL-AF Randomized Controlled Trial. *Circulation*, 145(13), 946–954.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.057014>
46. Ma, J., Chen, Q., & Ma, S. (2021). Left atrial fibrosis in atrial fibrillation: Mechanisms, clinical evaluation and management. *Journal of cellular and molecular medicine*, 25(6), 2764–2775. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16350>
47. Maesen B, Verheule S, Zeemering S, La Meir M, Nijs J, Lumeij S, Lau DH, Granier M, Crijns HJ, Maessen JG, Dhein S, Schotten U. Endomysial fibrosis, rather than overall connective tissue content, is the main determinant of conduction disturbances in human atrial fibrillation. *Europace*. 2022 Jul 15;24(6):1015-1024. doi: 10.1093/europace/euac026. PMID: 35348667; PMCID: PMC9282911.

48. Marrouche, N. F., Wilber, D., Hindricks, G., Jais, P., Akoum, N., Marchlinski, F., Kholmovski, E., Burgon, N., Hu, N., Mont, L., Deneke, T., Duytschaever, M., Neumann, T., Mansour, M., Mahnkopf, C., Herweg, B., Daoud, E., Wissner, E., Bansmann, P., & Brachmann, J. (2014). Association of atrial tissue fibrosis identified by delayed enhancement MRI and atrial fibrillation catheter ablation: the DECAAF study. *JAMA*, *311*(5), 498–506. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.3>
49. Mathew, S., Kuck, K.-H., Tilz, R. (2014). In den Rhythmus bringen. *Dtsch Arztebl*, *111*(15): [24].
50. Mayer, S., Erbes, T., Timme-Bronsert, S., Jaeger, M., Rücker, G., Kuf, F., Stickeler, E., Gitsch, G., & Hirschfeld, M. (2017). Clinical relevance of Cyr61 expression in patients with hormone-dependent breast cancer. *Oncology letters*, *14*(2), 2334–2340. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6406>
51. Mazgalev T. (1985). Filtering role of the atrioventricular node in atrial fibrillations. *Acta physiologica et pharmacologica Bulgarica*, *11*(2), 17–25.
52. Mikhailov AV, Kalyanasundaram A, Li N, Scott SS, Artiga EJ, Subr MM, Zhao J, Hansen BJ, Hummel JD, Fedorov VV. Comprehensive evaluation of electrophysiological and 3D structural features of human atrial myocardium with insights on atrial fibrillation maintenance mechanisms. *J Mol Cell Cardiol*. 2021 Feb;151:56-71. doi: 10.1016/j.yjmcc.2020.10.012. Epub 2020 Oct 29. PMID: 33130148; PMCID: PMC7880876.
53. Moon, H. G., Zheng, Y., An, C. H., Kim, Y. K., & Jin, Y. (2013). CCN1 secretion induced by cigarette smoking extracts augments IL-8 release from bronchial epithelial cells. *PloS one*, *8*(7), e68199. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068199>
54. Muramatsu, Y., Tsujie, M., Kohda, Y., Pham, B., Perantoni, A. O., Zhao, H., Jo, S. K., Yuen, P. S., Craig, L., Hu, X., & Star, R. A. (2002). Early

- detection of cysteine rich protein 61 (CYR61, CCN1) in urine following renal ischemic reperfusion injury. *Kidney international*, 62(5), 1601–1610. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00633.x>
- 55.** Murphy W. G. (2014). The sex difference in haemoglobin levels in adults - mechanisms, causes, and consequences. *Blood reviews*, 28(2), 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2013.12.003>
- 56.** Mujović, N., Marinković, M., Lenarczyk, R., Tilz, R., & Potpara, T. S. (2017). Catheter Ablation of Atrial Fibrillation: An Overview for Clinicians. *Advances in therapy*, 34(8), 1897–1917. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0590-z>
- 57.** Nattel S. (2017). Molecular and Cellular Mechanisms of Atrial Fibrosis in Atrial Fibrillation. *JACC. Clinical electrophysiology*, 3(5), 425–435. <https://doi.org/10.1016/j.jacep.2017.03.002>
- 58.** Overbeck, P. (2021, 18. März). *Vorhofflimmern: Frührezidive nach Ablation – kein Grund zur Sorge?* Herzmedizin. <https://herzmedizin.de/fuer-aerzte-und-fachpersonal/herzerkrankungen/rhythmologie/vorhofflimmern-fruehrezidive-nach-ablation-kein-grund-zur-sorge.html>
- 59.** Perbal B. (2018). The concept of the CCN protein family revisited: a centralized coordination network. *Journal of cell communication and signaling*, 12(1), 3–12. <https://doi.org/10.1007/s12079-018-0455-5>
- 60.** Rav Acha M, Tovia-Brodie O, Michowitz Y, Bayya F, Shaheen FF, Abuhatzera S, Medina A, Glikson M, Wolak A. Cryoballoon-Induced Circumferential Pulmonary Vein Fibrosis, Assessed by Late Gadolinium-Enhancement Cardiac Magnetic Resonance Imaging, and Its Correlation with Clinical Atrial Fibrillation Recurrence. *J Clin Med*. 2023 Mar 22;12(6):2442. doi: 10.3390/jcm12062442. PMID: 36983442; PMCID: PMC10056270.

61. Robert Koch-Institut. (2008). *Leitlinien Diagnostische Validität*. Abgerufen am 06. Juni 2024, von https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/UmweltKommission/Archiv/DiagnostischeValiditaet_BGBL.pdf?__blob=publicationFile#:~:text=Analytische%20Spezifit%C3%A4t%20beschreibt%2C%20inwie%2D%20weit,alle%20Erkrankten%20zu%20er%2D%20fassen.
62. Rottner, L., Heeger, C. H., Lemes, C., Wohlmuth, P., Maurer, T., Reissmann, B., Fink, T., Mathew, S., Ouyang, F., Kuck, K. H., Metzner, A., & Rillig, A. (2021). Quantification of Left Atrial Fibrosis in Patients After Pulmonary Vein Isolation Using the Second-Generation Cryoballoon. *International heart journal*, 62(1), 65–71. <https://doi.org/10.1536/ihj.20-301>
63. Schmitt, C., Zrenner, B., Schömig, A. (2002). Behandlung von Herzrhythmusstörungen: Neue dreidimensionale Mappingverfahren erweitern das therapeutische Spektrum. *Dtsch Arztebl* 2002; 99: A 562–569 [Heft 9]
64. Schnabel, R.B., Wilde, S., Wild, P.S., Munzel, T., Blankenberg, S. (2012). Atrial fibrillation: its prevalence and risk factor profile in the German general population. *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109(16): 293–9. DOI:10.3238/arztebl.2012.0293
65. Schotten, U., Dobrev, D., Kirchhof, P., Paulus, K. S., Lewalter, T., Goette, A. (2006). Vorhofflimmern: Grundlagenforschung liefert neue Therapieansätze. *Dtsch Arztebl*, 103(25): A 1743–8
66. Schütze, N., Rücker, N., Müller, J., Adamski, J., & Jakob, F. (2001). 5' flanking sequence of the human immediate early responsive gene *ccn1* (*cyr61*) and mapping of polymorphic CA repeat sequence motifs in the human *ccn1* (*cyr61*) locus. *Molecular pathology : MP*, 54(3), 170–175. <https://doi.org/10.1136/mp.54.3.170>

67. Schweitzer, P., & Keller, S. (2002). A history of atrial fibrillation. *Vnitřní lékařství*, 48 Suppl 1, 24–26.
68. Seneszenz. (o.D.). Abgerufen am 13. Mai 2024, von <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/seneszenz/61014>
69. Serban, T., Mannhart, D., Abid, Q. U., Höchli, A., Lazar, S., Krisai, P., Bettelini, A. S., Knecht, S., Kühne, M., Sticherling, C., du Fay de Lavallaz, J., & Badertscher, P. (2023). Durability of pulmonary vein isolation for atrial fibrillation: a meta-analysis and systematic review. *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 25(11), euad335. <https://doi.org/10.1093/europace/euad335>
70. Shen, M. J., Arora, R., & Jalife, J. (2019). Atrial Myopathy. *JACC. Basic to translational science*, 4(5), 640–654. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2019.05.005>
71. Siddoway L. A. (2003). Amiodarone: guidelines for use and monitoring. *American family physician*, 68(11), 2189–2196.
72. Sohns, C. & Marrouche, N. F. (2020). Atrial fibrillation and cardiac fibrosis. *European heart journal*, 41(10), 1123–1131. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz786>
73. Staerk, L., Sherer, J. A., Ko, D., Benjamin, E. J., & Helm, R. H. (2017). Atrial Fibrillation: Epidemiology, Pathophysiology, and Clinical Outcomes. *Circulation research*, 120(9), 1501–1517. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.309732>
74. Statistisches Bundesamt (o.D.a). *Bevölkerung nach Nationalität und Geschlecht*. Abgerufen am 13. Mai 2024, von <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft->

75. Statistisches Bundesamt (o.D.b). *Statistik der Sterbefälle*. Abgerufen am 13. Mai 2024, von <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?sequenz=tabelleErgebnis&selectionname=12613-0007#abreadcrumb>
76. Strisciuglio, T., El Haddad, M., Debonnaire, P., De Pooter, J., Demolder, A., Wolf, M., Philips, T., Kyriakopoulou, M., Almorad, A., Knecht, S., Tavernier, R., Vandekerckhove, Y., & Duytschaever, M. (2020). Paroxysmal atrial fibrillation with high vs. low arrhythmia burden: atrial remodelling and ablation outcome. *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 22(8), 1189–1196. <https://doi.org/10.1093/europace/euaa071>
77. Turu, M. M., Slevin, M., Matou, S., West, D., Rodríguez, C., Luque, A., Grau-Olivares, M., Badimon, L., Martinez-Gonzalez, J., & Krupinski, J. (2008). C-reactive protein exerts angiogenic effects on vascular endothelial cells and modulates associated signalling pathways and gene expression. *BMC cell biology*, 9, 47. <https://doi.org/10.1186/1471-2121-9-47>
78. Uneda A, Kurozumi K, Fujimura A, Fujii K, Ishida J, Shimazu Y, Otani Y, Tomita Y, Hattori Y, Matsumoto Y, Tsuboi N, Makino K, Hirano S, Kamiya A, Date I. Differentiated glioblastoma cells accelerate tumor progression by shaping the tumor microenvironment via CCN1-mediated macrophage infiltration. *Acta Neuropathol Commun*. 2021 Feb 22;9(1):29. doi: 10.1186/s40478-021-01124-7. PMID: 33618763; PMCID: PMC7898455.
79. Verma, A., Wazni, O. M., Marrouche, N. F., Martin, D. O., Kilicaslan, F., Minor, S., Schweikert, R. A., Saliba, W., Cummings, J., Burkhardt, J. D., Bhargava, M., Belden, W. A., Abdul-Karim, A., & Natale, A. (2005). Pre-existent left atrial scarring in patients undergoing pulmonary vein antrum

- isolation: an independent predictor of procedural failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 45(2), 285–292.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.10.035>
- 80.** Wen, S. -, Liu, N., Bai, R., Tang, R. B., Yu, R. H., Long, D. Y., Sang, C. H., Jiang, C. X., Li, S. N., Wu, J. H., Ruan, Y. F., Hu, R., Du, X., Liu, X. H., Dong, J. Z., & Ma, C. S. (2017). Right atrial diameter and outcome of catheter ablation of atrial fibrillation. *Journal of interventional cardiac electrophysiology : an international journal of arrhythmias and pacing*, 49(2), 157–164. <https://doi.org/10.1007/s10840-017-0258-2>
- 81.** Westerman, S. & Wenger, N. (2019). Gender Differences in Atrial Fibrillation: A Review of Epidemiology, Management, and Outcomes. *Current cardiology reviews*, 15(2), 136–144.
<https://doi.org/10.2174/1573403X15666181205110624>
- 82.** Yacoub, M. & Sheppard, R. C. (2021). Cryoballoon Pulmonary Vein Catheter Ablation of Atrial Fibrillation. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- 83.** Yang, R., Chen, Y., & Chen, D. (2018). Biological functions and role of CCN1/Cyr61 in embryogenesis and tumorigenesis in the female reproductive system (Review). *Molecular medicine reports*, 17(1), 3–10.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7880>
- 84.** Yeger, H. & Perbal, B. (2021). The CCN axis in cancer development and progression. *Journal of cell communication and signaling*, 15(4), 491–517.
<https://doi.org/10.1007/s12079-021-00618-2>
- 85.** Zhang, Y., Wu, H., Luo, H., Luo, Y., & Huang, C. (2022). Activating transcription factor 3 inhibits angiotensin II-induced cardiomyocyte viability and fibrosis by activating the transcription of cysteine-rich angiogenic protein 61. *Molecular medicine reports*, 26(5), 336.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12852>

- 86.** Zhao, J., Zhang, C., Liu, J., Zhang, L., Cao, Y., Wu, D., Yao, F., Xue, R., Huang, H., Jiang, J., Dong, B., Sun, Y., Bai, Y., Dong, Y., & Liu, C. (2018). Prognostic Significance of Serum Cysteine-Rich Protein 61 in Patients with Acute Heart Failure. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, *48*(3), 1177–1187. <https://doi.org/10.1159/000491984>
- 87.** Zhao, Y., Li, Q., Katzenellenbogen, B. S., Lau, L. F., Taylor, R. N., Bagchi, I. C., & Bagchi, M. K. (2014). Estrogen-induced CCN1 is critical for establishment of endometriosis-like lesions in mice. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, *28*(12), 1934–1947. <https://doi.org/10.1210/me.2014-1080>
- 88.** Zhou, Y., Xie, Y., Li, T., Zhang, P., Chen, T., Fan, Z., & Tan, X. (2021). P21-activated kinase 1 mediates angiotensin II-induced differentiation of human atrial fibroblasts via the JNK/c-Jun pathway. *Molecular medicine reports*, *23*(3), 207. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.11846>
- 89.** Zhu, Y., Almuntashiri, S., Han, Y., Wang, X., Somanath, P. R., & Zhang, D. (2020). The Roles of CCN1/CYR61 in Pulmonary Diseases. *International journal of molecular sciences*, *21*(21), 7810. <https://doi.org/10.3390/ijms21217810>

Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität
Gießen. AZ 199/15

JUSTUS-LIEBIG



UNIVERSITÄT
GIESSEN

FACHBEREICH 11



MEDIZIN

Ethik-Kommission, Klinikstr. 32 (Alte Frauenklinik), D-35385 Gießen

Herrn
PD Dr. Christoph Liebetrau
Kerckhoff-Klinik
Abt. Kardiologie
Benkestr. 2-8
61231 Bad Nauheim

nachrichtlich:
Prof. Dr. Holger Nef
Med. Klinik I
Kardiologie/Angiologie
Klinikstr. 33
35385 Gießen

Email vom 25. Oktober 2016

Einrichtung einer zentralen Biobank für Herzerkrankungen

AZ der Ethikkommission 199/15

Sehr geehrter Herr Dr. Liebetrau,
sehr geehrter Herr Prof. Nef,

gegen die mit Ihrer Email vom 25.10.16 eingereichten Änderungen (Blutentnahme bereits im Notarztwagen bei Verdacht auf akutes Koronarsyndrom) sind in der Notfallsituation klinisch indiziert und bedürfen keines Ethikkommissions-Votums. Die Erfassung der Daten und Ergebnisse dieser Blutentnahme im Rahmen der zentralen Biobank für Herzerkrankungen bedürfen allerdings der Einwilligung der Patienten (u. U. nach Wiedererlangung der Einwilligungsfähigkeit) mit den bereits positiv bewerteten Musterformularen für die Biobank.
Ein solches Vorgehen entspricht den Zielen der Biobank, daher bestehen seitens der Ethikkommission keine Einwände.

Ebenso bestehen für die unter dem Namen „BioSURGERY“ zusammengefasste Biobank für Proben von Patienten, die sich einer herzchirurgischen Operation unterziehen, keine Einwände der Ethikkommission, sofern die Kriterien der Probenaufnahme für die zentrale Biobank für Herzerkrankungen eingehalten werden (unser Schreiben vom 02.11.15).

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. H. Tillmanns
Vorsitzender der Ethik-Kommission

**ETHIK-KOMMISSION
des Fachbereichs Medizin**

Vorsitz: Prof. Dr. H. Tillmanns

Klinikstr. 32 (Alte Frauenklinik)
D-35385 Gießen

Tel.: (0641)99 42470 (AB) /47660
Fax: (0641)99 42479
ethik.kommission@pharma.med.uni-giessen.de

Gießen, 16. November 2016
Dr. Krä./

13 Publikationsverzeichnis

- Posteraushang DGIM Kongress 2022 (Wiesbaden)
- Vortrag DGIM Kongress 2022 (Wiesbaden)

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Freiburg, den 11.06.2024