

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

**Η επίδραση μονονουκλεοτιδικών
πολυμορφισμών στα γονίδια των I_{ks}
καναλιών καλίου στην εκδήλωση
κολπικής μαρμαρυγής μετά από
επέμβαση ανοιχτής καρδιάς**

Κωνσταντίνος Β. Βούδρης
Ιατρός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ηράκλειο 2015

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

**Η επίδραση μονονουκλεοτιδικών
πολυμορφισμών στα γονίδια των I_{ks}
καναλιών καλίου στην εκδήλωση
κολπικής μαρμαρυγής μετά από
επέμβαση ανοιχτής καρδιάς**

Κωνσταντίνος Β. Βούδρης
Ιατρός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ηράκλειο 2015

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανθρώπινη πρωτεΐνη *KCNE1* σχηματίζει την β -υποομάδα των διαύλων I_{Ks} καλίου και παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της διάρκειας του κολπικού δυναμικού ενέργειας. Στην μελέτη αυτή εκτιμήσαμε την σχέση μεταξύ της μη συνώνυμης μετάλλαξης 112G>A του γονιδίου *KCNE1* και της εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής μετά από επεμβάσεις ανοικτής καρδιάς.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μελετήσαμε σε προοπτική βάση 509 διαδοχικούς ασθενείς με καρδιοπάθεια που υποβλήθηκαν σε εγχείρηση ανοικτής καρδιάς. Σε 203 ασθενείς εμφανίστηκε κολπική μαρμαρυγή μετά την καρδιοχειρουργική επέμβαση. Ο γονότυπος 112G>A του πολυμορφισμού προσδιορίστηκε με τη χρησιμοποίηση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) / ανάλυσης πολυμορφισμού μεγέθους περιοριστικών θραυσμάτων (RFLP) και επιβεβαιώθηκε με χαρτογράφηση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (sequencing) του προϊόντος της PCR. Το αλληλόμορφο G παρατηρήθηκε σε αυξημένη συχνότητα στους ασθενείς που εμφάνισαν κολπική μαρμαρυγή μετά την καρδιοχειρουργική επέμβαση σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή (0.628 έναντι 0.552, αντίστοιχα, $p=0.016$). Ο ατομικός σχετικός κίνδυνος εμφάνισης μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής αυξήθηκε καθώς αυξανόταν ο αριθμός των αλληλόμορφων G από 1.36 (95% διαστήματα αξιοπιστίας [CI] 0.89-2.08) για ετεροζυγώτες του αλληλόμορφου G σε 1.62 (95% CI 1.08-2.43) για ομοζυγώτες του αλληλόμορφου G ($p=0.04$). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση το μειωμένο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας (αναλογία πιθανοτήτων, Odds Ratio [OR] 1.585, 95% CI 1.076-2.331, $p=0.020$), η ηλικία

(OR 1.043, 95%CI 1.022-1.064, $p < 0.001$), ο τύπος της χειρουργικής παρέμβασης (αντικατάσταση της αορτικής βαλβίδας) (OR 1.869, 95%CI 1.094-3.194, $p = 0.022$) και ο γονότυπος 112G>A (OR 1.401 [σε αθροιστικό μοντέλο], 95%CI 1.052-1.865, $p = 0.021$) ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για την εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής μετά επεμβάσεις ανοικτής καρδιάς.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μελέτη αυτή επιβεβαίωσε την συσχέτιση του πολυμορφισμού 112G>A και της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής σε ασθενείς που υποβάλλονται σε επέμβαση ανοικτής καρδιάς.

Dissertation Summary

Konstantinos V. Voudris

Title: «*The effect of Iks potassium channel single nucleotide polymorphisms in the occurrence of atrial fibrillation after Open Heart Surgery*»

Background

Atrial Fibrillation (AF) is one of the most common heart arrhythmias affecting over 1% of the general population and is responsible for 3% of the hospitalizations. It's incidence increases with age, affecting 12.9% of male over the age of 70. The reported incidence of post cardiac surgery AF ranges from 5% to 60%.

Multiple factors have been shown to confer susceptibility to post operative atrial fibrillation, including changes in the sympathetic tone, electrolyte abnormalities, β -blocker interruption and oxidative stress. It is believed that patients prone to develop AF exhibit a specific electrophysiologic profile. Nevertheless, in 10-20% of the cases the predisposing factor cannot be identified.

Recent studies introduce the idea of genetic predisposition for AF, derived from the increased incidence of AF in populations with polymorphisms on ion channel forming genes. In fact, the majority of the associations between AF and gene polymorphisms, involve genes coding potassium channels and more specifically, the Iks channels.

Cardiac Iks channels are formed by α -subunits, and their properties can be regulated through the binding of a β -subunit. The KCNQ1 gene codes for the α -subunit of the Iks channel and it was the first to be related to familial AF.

Mutations in the KCNQ1 gene have led to further studies on KCNE1 gene, as a possible target for genetic predisposition to AF.

The KCNE1 gene forms the β -subunit of the potassium channel carrying the cardiac I_{Ks} current. Cardiac I_{Ks} channels contribute to atrial repolarization in the late phase of the action potential. Cardiac I_{Ks} channels are capable of modulating the action potential duration and restitution properties of the atrial tissue as part of their contribution in the slowly activating delayed rectifier potassium current.

A nonsynonymous, single-nucleotide polymorphism (SNP) in the KCNE1 gene (A to G substitution at position 112, rs1805127), leading to a glycine substitution for serine at amino-acid position 38 (S38G), was previously associated with increased AF incidence. Of note, the S38G variant in the KCNE1 gene reduces I_{Ks} current density and prolongs the atrial action potential duration, whereas familial AF-causing

mutations in I_{Ks} channel genes have all had gain-of function effects.

In the present study, we assessed the impact of the KCNE1 S38G polymorphism on the incidence of postoperative AF in a prospectively recruited cohort of patients subjected to cardiac surgery. To the best of our knowledge, no data are available on the effect of the KCNE1 polymorphisms to postoperative AF.

Methods and results

A cohort of patients scheduled to undergo open heart surgery was prospectively recruited. Blood samples were drawn and patient were followed for development of AF post operatively until discharge. Genetic analysis was

performed using PCR, Sequencing and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). In total 509 patients were recruited of whom 203 (39.9%) had at least one qualifying episode of post operative AF.

Figure 1. Study model

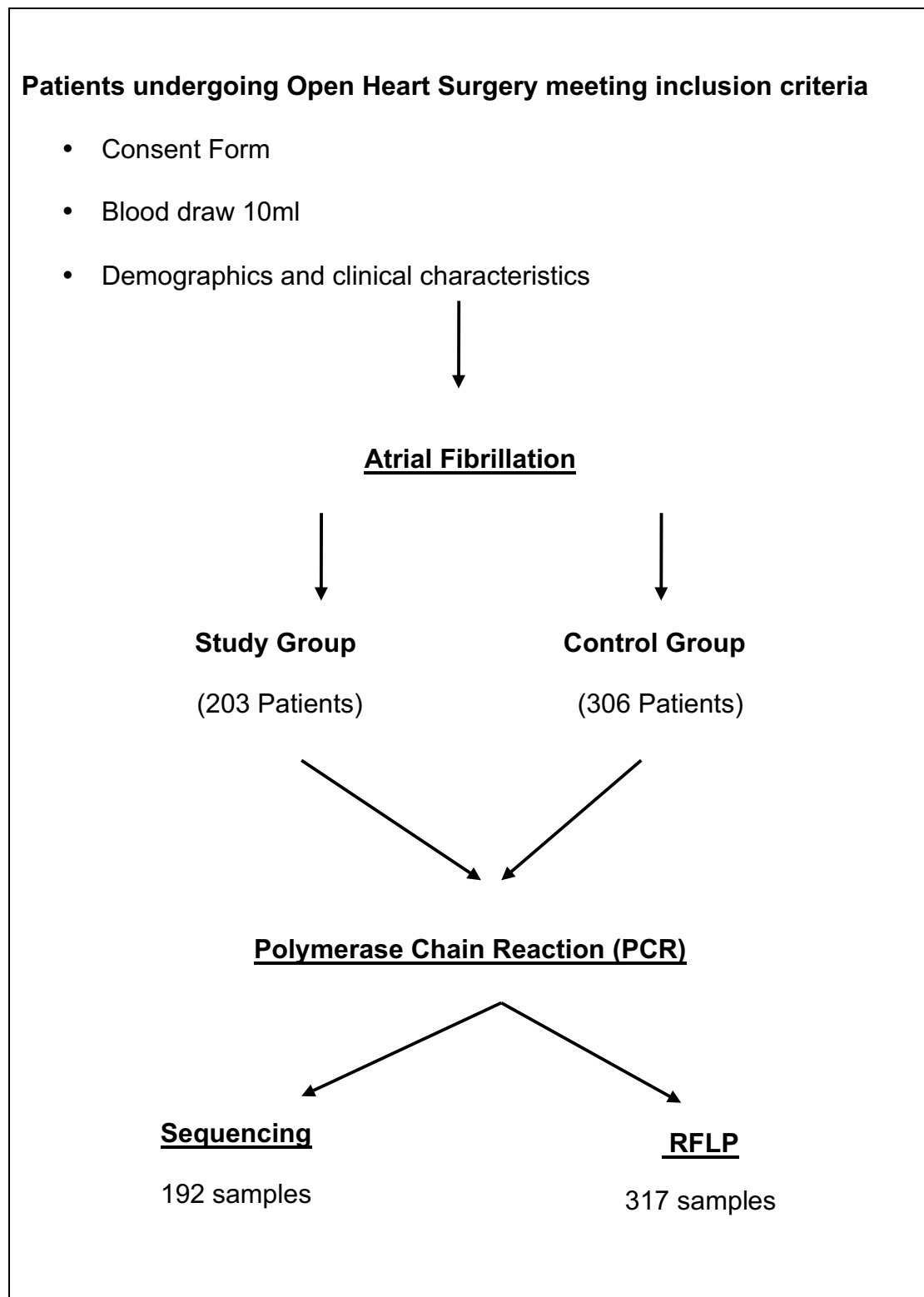


Table 1. Demographic and clinical characteristics of the population studied.

		No Atrial Fibrillation	Atrial Fibrillation	
Age (mean±SD)		64 (9)	68 (10)	<0.0001
Age	<65	153 (50)	68 (33.5)	<0.0001
	65-75	103 (33.7)	82 (40.4)	0.133
	>75	50 (16.3)	53 (26.1)	0.009
Female Gender		42 (13.7)	34 (16.7)	0.375
Risk Factors				
Hypertension		180 (88.7)	259 (84.6)	0.237
Diabetes		99 (32.4)	79 (38.9)	0.130
Hyperlipidemia		267 (87.3)	172 (84.7)	0.433
Current Smoker		88 (43.3)	165 (46.1)	0.585
Family history of CAD		131 (42.8)	79 (38.9)	0.409
Myocardial Infarction (history)		107 (35)	73 (36)	0.850
Chronic renal failure		9 (2.9)	9 (4.4)	0.463
Ejection fraction (mean±SD)		52.4 (7.8)	51.5 (8)	0.228
Ejection fraction	<35	2 (0.7)	2 (1)	0.653
	35-44	44 (14.4)	33 (16.3)	0.614
	45-54	84 (27.5)	69 (34)	0.139
	>55	176 (57.5)	99 (48.8)	0.06
Procedure Characteristics				
CABG (isolated)		255 (83.3)	159 (78.3)	0.165
CABG plus valve/aorta intervention		23 (7.5)	20 (9.8)	0.416
Valve/aorta intervention (isolated)		28 (9.2)	24 (11.8)	0.371
Off pump CPB		20 (6.5)	8 (3.9)	0.238
Number of grafts	1	32 (10.5)	18 (8.9)	0.649
	2	104 (34)	66 (32.5)	0.774
	>2	142 (46.4)	95 (46.8)	1.000
Number of arterial grafts	0	37 (12.1)	31 (15.3)	0.184
	1	177 (57.8)	130 (64)	0.167
	>1	92 (30.1)	42 (20.7)	0.024
Concurrent valve repair		36 (11.8)	41 (20.2)	0.011
Aortic valve replacement		32 (10.5)	40 (19.7)	0.004

Mitral valve replacement/repair	6 (2)	3 (1.5)	1.000
Ascending aortic aneurysm	24 (7.8)	15 (7.4)	1.000
Pump duration (mean±SD)	103 (44)	108 (37)	0.263
Aortic clamp duration (mean±SD)	74 (38)	76 (33)	0.247
Perioperative Medication			
Beta blockers preoperative	230 (75.2)	154 (75.9)	0.916
Statins preoperative	257 (84)	156 (76.8)	0.049
ACE inhibitors preoperative	205 (67)	144 (70.9)	0.381
Amiodarone preoperative	-	-	-
Beta blockers postoperative	270 (88.2)	169 (83.3)	0.116
Statins postoperative	224 (73.2)	143 (70.4)	0.545
ACE inhibitors postoperative	104 (34)	59 (29.1)	0.286
Amiodarone postoperative[§]	25 (8.2)	166 (81.8)	<0.001
Beta blocker interruption	18 (5.9)	19 (9.4)	0.163
Statin interruption	49 (16)	28 (13.8)	0.529
ACE inhibitors interruption	128 (41.8)	98 (48.3)	0.172
POAF risk index²² (mean±SD)	17 (11)	21 (12)	<0.001

Values represent number or patients (percentages) unless otherwise indicated. Statistical significances are derived by the Chi-square/ Fisher's exact test analysis for categorical /dichotomous variables or independent sample t-test for continuous variables. [§] Amiodarone postoperatively was given to patients after AF as anti-arrhythmic treatment. CABG, coronary artery bypass grafting; CAD, coronary artery disease; SD, standard deviation; CPB, cardiopulmonary bypass; POAF, post-operative atrial fibrillation.

Higher frequency of the G allele was observed in the post operative AF group compared to the control group (0.628 vs 0.552, respectively, P = .016).

According to the study findings the individual's relative risk for postoperative AF increased as the number of G allele increased from 1.36 (95% confidence interval [CI] 0.89-2.08) for G allele heterozygotes to 1.62 (95% confidence interval [CI] 1.08-2.43) for G allele homozygotes (P = .04).

Multivariate stepwise binary regression revealed the abnormal ejection fraction (odds ratio [OR] 1.585, 95% CI 1.076-2.331, P = .020), age (OR 1.043, 95% CI

1.022-1.064, P = .001), type of surgery (aortic valve replacement) (OR 1.869, 95% CI 1.094-3.194, P = .022), and the 112GNA genotype (OR 1.401 [in additive model], 95% CI 1.052-1.865, P = .021) to be independent predictors of postoperative AF.

Discussion

This is the first study to evaluate the effect of KCNE1 gene polymorphism in the development of post operative atrial fibrillation. Our study results showed an association between the number of G allele and the risk of postoperative AF. Patients with two copies of G allele exhibited 60% higher risk of developing post operative AF when compared to patients with AA genotype. Furthermore, multivariate stepwise binary regression showed this effect to be independent of patient or procedure related factors, including perioperative medications (β -blockers, ACE inhibitors, Statins) and the type of procedure. Our findings are in accordance with previous epidemiological observations, showing an association between 112G>A polymorphism and AF in general population and functional studies demonstrating an important impact of 112G>A polymorphism on the regulation of I_{Ks} current.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπον μέλος ΔΕΠ

Καθηγητής Δ. Α. Σπαντίδος
Καθηγητής Ιολογίας
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Κρήτης

Κοχιαδάκης Γ.
Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Κρήτης

Ζαφειρόπουλος Α.
Επίκουρος Καθηγητής Μορφολογίας
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Κρήτης

ΑΦΙΕΡΩΣΗ

Στην οικογένειά μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής χρωστώ αμέριστη ευγνωμοσύνη στους καθηγητές μου για την απεριόριστη υποστήριξη τους.

Καταρχάς θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Δημήτριο Α. Σπαντίδο για την ενθάρρυνση του και τις υποδείξεις και συμβουλές που μου έδωσε για την πραγματοποίηση αυτής της διατριβής. Παρά τις υποχρεώσεις του διέθετε πάντα χρόνο για εποικοδομητική συζήτηση και εύστοχες παρατηρήσεις.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή Καρδιολογίας Γεώργιο Κοχιαδάκη, τον Επίκουρο Καθηγητή Ιστολογίας Αλέξανδρο Ζαφειρόπουλο, τον καρδιολόγο Σταύρο Αποστολάκη και τον βιολόγο Κωνσταντίνο Δούκα για την ουσιαστική τους συμμετοχή στον σχεδιασμό, τις γονιδιακές αναλύσεις, την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και τις συμβουλές τους για την συγγραφή της μελέτης.

Επίσης ευχαριστώ θερμά τις καρδιοχειρουργικές και καρδιολογικές κλινικές του Ωνασείου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου για την συμμετοχή τους στην συλλογή των ασθενών, και την παροχή των ιατρικών πληροφοριών τόσο στο χειρουργείο όσο και κατά την νοσηλεία τους στο νοσοκομείο. Θα ήταν παράληψη να μην ευχαριστήσω τους ασθενείς οι οποίοι δεν δίστασαν να συμμετάσχουν στην μελέτη.

Θεωρώ καθήκον μου να ευχαριστήσω το Κοινωφελές Ίδρυμα Ωνάση για την παροχή υποτροφίας την περίοδο εκπόνησης αυτής της διατριβής.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου για την βοήθεια και την στήριξη τους καθ'όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΚΟΛΠΙΚΗ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗ

- 1.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ
- 1.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ
- 1.3 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ
- 1.4 ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΑΠΟ ΘΡΟΜΒΟΕΜΒΟΛΗ

2. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ

- 2.1 ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ
- 2.2 ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΟΣ
- 2.3 ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΚΑΡΔΙΑΚΟΥ ΡΥΘΜΟΥ

3. ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ

- 3.1 ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΚΑΡΔΙΟΑΝΑΤΑΞΗ
- 3.2 ΚΑΤΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΚΟΛΠΟΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΚΟΛΠΟΥ
- 3.3 ΚΑΤΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ

4. ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΚΟΛΠΙΚΗ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗ

- 4.1 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ
- 4.2 ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΓΙΑ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΚΟΛΠΙΚΗ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗ
- 4.3 ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ, ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
- 4.4 ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ
- 4.5 ΜΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ
- 4.6 ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΚΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ
- 4.7 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

5. ΟΙ ΔΙΑΥΛΟΙ ΚΑΛΙΟΥ I_{ks}

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

7. ΑΣΘΕΝΕΙΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ

- 7.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ
- 7.2 ΚΥΡΙΟΙ ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ
- 7.3 ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΟΡΙΣΜΟΙ
- 7.4 ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ
 - 7.4.1 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ DNA
 - 7.4.2 ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (PCR)

7.4.3 ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ
(Sequencing)

7.4.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΩΝ
ΘΡΑΥΜΑΣΤΩΝ (RFLP)

8. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

9.1 ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

9.2 ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΑ, ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ Η
ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ Hardy- Weinberg

9.3 Ο ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ 112G>A ΚΑΙ Η ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΣΤΗΝ
ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΙΤΙΚΗΣ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ

10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

12. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

13. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΚΟΛΠΙΚΗ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗ

Η κολπική μαρμαρυγή είναι μια υπερκοιλιακή ταχυαρρυθμία που χαρακτηρίζεται από την ασυντόνιστη κολπική δραστηριότητα με επακόλουθο την επιδείνωση της μηχανικής λειτουργίας της καρδιάς και αποτελεί την πιο συχνή αρρυθμία που προσβάλλει τους ασθενείς σήμερα. Η εμφάνιση της νόσου αυξάνει παγκοσμίως σε ανησυχητικά επίπεδα, και συχνά συνοδεύεται από καταστροφικές και δαπανηρές συνέπειες, συμπεριλαμβανομένων της καρδιακής ανεπάρκειας, συγκοπής, άνοιας και εγκεφαλικού επεισοδίου. Σαν μία κλινική αρρυθμία, έχει γίνει η πιο κοινή διαταραχή του ρυθμού για την οποία ζητείται η συμβουλή των ηλεκτροφυσιολόγων και ιδιαίτερα μεταξύ του γρήγορα αυξανόμενου ηλικιωμένου πληθυσμού.

1.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Από τη μελέτη Framingham¹, η διετής επίπτωση της μετάπτωσης σε χρόνια κολπική μαρμαρυγή ήταν περίπου 30-50% υψηλότερη σε άνδρες όλων των ηλικιών που εξετάστηκαν. Ο κίνδυνος εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής αυξάνεται από την παρουσία ρευματικής καρδιακής πάθησης και καρδιακής ανεπάρκειας, ιδιαίτερα στις γυναίκες. Η συνολική επίπτωση της νεοεμφανιζόμενης κολπικής μαρμαρυγής σε 22 έτη παρακολούθησης στη μελέτη Framingham ήταν 21.5 ανά 1000 άνδρες και 17.1 ανά 1000 γυναίκες². Ο κυριότερος παράγοντας κινδύνου για την κολπική μαρμαρυγή είναι η αυξημένη ηλικία και η επίπτωσή της διπλασιάζεται σε κάθε δεκαετία για ασθενείς πάνω από 50 ετών και για κάθε ηλικία είναι υψηλότερη στους άνδρες απ' ό τι στις γυναίκες.

Οι περισσότεροι από τους παράγοντες που ενοχοποιούνται για την εμφάνιση της κολπικής μαρμαρυγής είτε αυξάνουν την ενδοκολπική πίεση ή τροποποιούν την ισορροπία της αυτόνομης νεύρωσης της καρδιάς. Επιπλέον, σε νεώτερους ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή έχουν αναγνωριστεί γενετικές παραλλαγές που σχετίζονται με την κινητική των διαύλων καλίου³. Ιδιαίτερα σε νέους άνδρες, οι αθλοπαιδίες του τύπου των δρόμων αντοχής μεγάλων αποστάσεων αυξάνουν την επίπτωση της κολπικής μαρμαρυγής⁴. Επίσης το αλκοόλ φαίνεται να έχει μια δόσοεξαρτώμενη επίδραση⁵. Πάντως, παρά την πληθώρα κλινικών επιδημιολογικών αναφορών, περίπου οι μισές απ' όλες τις περιπτώσεις κολπικής μαρμαρυγής ακόμα δε μπορούν να αποδοθούν σε κάποιους από τους γνωστούς συσχετιζόμενους με την αρρυθμία παράγοντες κινδύνου.

1.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Τα τελευταία 15 έτη, πολλαπλά διαφορετικά γονίδια έχουν συνδεθεί με την κολπική μαρμαρυγή σε οικογένειες και περιλαμβάνουν μεταλλάξεις των καναλιών Na και K όπως επίσης και πρωτεΐνες του κόμβου³. Επίσης η αύξηση της κολπικής πίεσης είναι ευρέως γνωστό ότι αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης της αρρυθμίας. Η συσχέτισή της με ένα πλαίσιο παθήσεων “πίεσης”, όπως αρτηριακή υπέρταση, ανεπάρκεια και στένωση μιτροειδούς, αποφρακτική άπνοια ύπνου, υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια ενισχύει αυτήν την παρατήρηση. Ιδιαίτερα η διαστολική καρδιακή ανεπάρκεια σχετίζεται με την ανάπτυξη της μη βαλβιδικής κολπικής μαρμαρυγής στους ηλικιωμένους⁶.

Η φλεγμονή είναι γνωστό πως έχει ρόλο στην παθογένεση της κολπικής μαρμαρυγής. Ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου, οξεία μυο-περικαρδίτιδα,

χρόνια ρευματική καρδιακή νόσο, ή έπειτα από καρδιακό χειρουργείο έχουν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής. Πολλαπλοί φλεγμονώδεις δείκτες έχουν συνδεθεί με τάση προς κολπική μαρμαρυγή, συμπεριλαμβανομένων κάποιων από τις ιντερλευκίνες (IL-2, IL-6 και IL-8), όπως επίσης της C- αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), του TNF-α και MCP-1⁷. Η ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων ευνοεί τη θρομβοεμβολή μέσω του καταρράκτη θρόμβωσης, όπως επίσης πιθανά συντηρεί και τη χρονιότητα της κολπικής μαρμαρυγής⁸.

Το 1998 δημοσιεύθηκε πως οι ανατομικές πηγές για την έναρξη της κολπικής μαρμαρυγής ήταν κυρίως τα περιβλήματα από αριστερό κολπικό μυϊκό ιστό που επεκτείνονται στην επικαρδιακή επιφάνεια των τεσσάρων πνευμονικών φλεβών που οδηγούν το οξυγονωμένο αίμα πίσω στον αριστερό κόλπο από τους πνεύμονες⁹.

Ενώ η έναρξη της κολπικής μαρμαρυγής αποτελεί ένα τοπικό συμβάν που ρυθμίζεται από γενετικούς, αυτόνομους, αιμοδυναμικούς, ενδοκρινικούς και εξωγενείς παράγοντες και φλεγμονώδεις μηχανισμούς, η εμμένουσα φύση της κολπικής μαρμαρυγής λόγω της διαρκούς επανεισόδου είναι μια επαναληπτική διεργασία: ένα αξίωμα γνωστό ως “ η κολπική μαρμαρυγή γεννά κολπική μαρμαρυγή”. Μέσα στις πρώτες εβδομάδες έως μήνες ο κόλπος μόνιμα ινιδίζει, εμφανίζεται ηλεκτρική αναδιαμόρφωση που χαρακτηρίζεται από βράχυνση της διάρκειας του κολπικού δυναμικού ενέργειας, επιβράδυνση της αγωγής, και τελικά δομική αναδιαμόρφωση του κόλπου. Η τελευταία είναι μία μορφή της επαγόμενης από κολπική ταχυκαρδία μυοκαρδιοπάθειας αρχικά λόγω υποσυσταλτικότητας εξαιτίας παθολογικής διακίνησης ασβεστίου και τελικά χαρακτηριζόμενη από πιο μόνιμη ενδοκυτταρική ίνωση και ουλοποίηση. Με τα

νέα υποστρώματα της βραχείας ανερεθιστότητας, επιβραδυμένης αγωγής και κολπικής διάτασης σε συνδυασμό με την ίνωση, πληρούνται οι προϋποθέσεις για καταστάσεις ενός κριτικού αριθμού κυματιδίων επανεισόδου και η κολπική μαρμαρυγή μπορεί να γίνει αυτοσυντηρούμενη¹⁰. Η κολπική ίνωση παραμένει ένα τεράστιο άλυτο πρόβλημα. Η ηλικία αποτελεί τον πιο σημαντικό παράγοντα που οδηγεί στην εξάπλωση της κολπικής μαρμαρυγής και την αποτυχία επανάκτησης επί μακρού του φλεβοκομβικού ρυθμού. Ο βαθμός της κολπικής ίνωσης έχει εξετασθεί με MRI και μπορεί να αποδειχθεί ένα σημαντικό εργαλείο στην κρίση της αποτελεσματικότητας των φαρμακευτικών ή επεμβατικών τεχνικών για διατήρηση του φλεβοκομβικού ρυθμού. Η ικανότητα του κόλπου για αναδιαμόρφωση μετά την εγκατάσταση του φλεβοκομβικού ρυθμού αποτελεί πιθανά ένα δείκτη της ικανότητας του κόλπου για μακροχρόνια διατήρηση φλεβοκομβικού ρυθμού.

1.3 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ

Καθώς η κολπική μαρμαρυγή γίνεται μόνιμη, οι πλέον καταστροφικές επιπλοκές αυξάνουν σε συχνότητα και αυτές είναι τα εμβολικά επεισόδια. Οι συστηματικές εμβολές γίνονται πιο συχνές με την αύξηση της ηλικίας και διάφοροι παράγοντες κινδύνου έχουν αναγνωρισθεί σε ασθενείς με παροξυσμικές και μόνιμες μορφές κολπικής μαρμαρυγής. Αυτοί έχουν αναλυθεί μέσα στα συστήματα βαθμολόγησης CHADS₂ και CHA₂DS₂-VASc (Εικόνα 1)^{11,12} τα οποία είναι χρήσιμα ώστε να καθοδηγήσουν αναφορικά με την έναρξη αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας έναντι της από του στόματος χορήγησης αντιπηκτικών με ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ ή των νεώτερων από του στόματος αντιπηκτικών.

Μέγεθος αριστερού κόλπου > 44 mm, παράμετροι από το διοισοφάγειο υπερηχοκαρδιογράφημα, όπως οι βραδείες ταχύτητες στο ωτίο του αριστερού κόλπου, οι πολύ μεγάλες διαστάσεις του ωτίου του αριστερού κόλπου και η αυτόματη αντίθεση (contrast) φαίνεται πως σχετίζονται με αυξημένες συχνότητες εγκεφαλικών επεισοδίων. Τα περισσότερα εκ των επεισοδίων κολπικής μαρμαρυγής είναι ουσιαστικά ασυμπτωματικά. Πρόσφατα, έχει αναφερθεί ότι η υποκλινική κολπική μαρμαρυγή όπως αυτή ανιχνεύεται από εμφυτευμένους βηματοδότες ή απινιδωτές, προβλέπει 2,5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο ή συστηματική εμβολή σε 2,5 έτη παρακολούθησης (4,2% έναντι 1,7%)¹³.

Η κολπική μαρμαρυγή μπορεί να προκαλέσει ταχυμυοκαρδιοπάθεια. Σε αυτήν την κατάσταση, οι ασθενείς δε νιώθουν συμπτώματα από την κολπική μαρμαρυγή και έτσι εμφανίζονται κλινικά μόνο με συστολική καρδιακή ανεπάρκεια λόγω της πτώσης του κλάσματος εξώθησης από τις ανεξέλεγκτα ταχείες καρδιακές συχνότητες που συχνά προϋπάρχουν για εβδομάδες ή μήνες. Ευτυχώς αυτή αναπαριστά μια από τις λίγες αναστρέψιμες αιτίες συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας αν οι αυξημένες καρδιακές συχνότητες ελεγχθούν φαρμακευτικά, με ηλεκτρική ανάταξη, ή με θεραπείες κατάλυσης. Η κολπική μαρμαρυγή επίσης επιδεινώνει τα συμπτώματα συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας σε ασθενείς όπου η αρρυθμία εμφανίζεται δευτεροπαθώς σε άλλες παθήσεις όπως η διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, η ρευματική βαλβιδοπάθεια, η συγγενής καρδιοπάθεια και η σοβαρή στεφανιαία νόσος.

Συγκοπή και πτώσεις είναι αρκετά συχνά στους ηλικιωμένους ασθενείς και μπορεί να επισπεύδονται από το σύνδρομο “ταχυ-βραδυ” που επίσης

ονομάζεται “σύνδρομο νοσούντος φλεβοκόμβου”. Οι ασθενείς αναπτύσσουν κολπική μαρμαρυγή με ταχεία κοιλιακή ανταπόκριση η οποία συνυπάρχει με δυσλειτουργία του φλεβοκόμβου η οποία αποκαλύπτεται όταν ο ασθενής μεταπίπτει από κολπική μαρμαρυγή σε φλεβοκομβικό ρυθμό. Ως επακόλουθο, κατά την αποκατάσταση του φλεβοκομβικού ρυθμού, εμφανίζονται αιμοδυναμικά σημαντικές παύσεις που οδηγούν σε απώλεια των αισθήσεων ή τουλάχιστον προσυγκοπή και πτώση. Καθώς ο πληθυσμός γερνά, το πρόβλημα γίνεται εξαιρετικά συχνό.

Έχει πιθανολογηθεί συσχέτιση μεταξύ άνοιας του τύπου Alzheimer και της εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής στους ηλικιωμένους και ιδιαίτερα στις πιο νέες από τις ηλικιωμένες γυναίκες¹⁴. Άλλη υπομελέτη συσχέτισε τα σιωπηρά εγκεφαλικά έμφρακτα με τον κίνδυνο άνοιας και την πτώση της διανοητικής λειτουργίας σε γηραιότερους ασθενείς¹⁵. Πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας υποδεικνύει μια συσχέτιση μεταξύ κολπικής μαρμαρυγής και μείωσης της διανοητικής λειτουργίας με το πέρασμα του χρόνου κατά 2-3 φορές¹⁶. Παρατηρήθηκε επίσης υψηλότερη επίπτωση σιωπηρών εγκεφαλικών επεισοδίων και πιο σοβαρή διανοητική διαταραχή σε ασθενείς με εμμένουσα απ’ ότι σε αυτούς με παροξυσμική κολπική μαρμαρυγή.

Εικόνα 1. Συστήματα βαθμολόγησης για τον επακόλουθο ετήσιο κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου επί παρουσίας μη ρευματικής αιτιολογίας κολπικής μαρμαρυγής, βασιζόμενα σε συνυπάρχουσες παθήσεις και δημογραφικά στοιχεία. (CVA: αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, TIA: παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο, CHF: συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, CAD: στεφανιαία νόσος, PAD: περιφερική αρτηριοπάθεια)

CHADS₂ Scoring

	Absent	Present
Prior CVA/TIA	0	2
Recent CHF	0	1
Hypertension	0	1
Age > ≥ 75 Years	0	1
Diabetes	0	1

Total CHADS₂ Score = 0-6

CHADS₂ Score: Future CVA Risk Stratification with AF

Score	Adjusted Stroke Rate per 100 Pt-Yrs (95% CI)
0	1.9 (1.2-3.0)
1	2.8 (2.0-3.8)
2	4.0 (3.1-5.1)
3	5.9 (4.6-7.3)
4	8.5 (6.3-11.1)
5	12.5 (8.2-17.5)
6	18.2 (10.5-27.4)

CHA₂DS₂-VASc Scoring

	Absent	Present
Prior CVA/TIA	0	2
Recent CHF	0	1
Hypertension	0	1
Age > ≥ 75 Years	0	2
Diabetes	0	1
Age 65-74 Years	0	1
CAD/PAD/Aortic	0	1
Sex Female	0	1

Total CHA₂DS₂-VASc Score = 0-9

CHA₂DS₂ Score: Future CVA Risk Stratification with AF

Score	Adjusted Stroke Rate per 100 Pt-Yrs (95% CI)
0	0.0 (0.0-0.0)
1	0.6 (0.0-3.4)
2	1.6 (0.3-4.7)
3	3.9 (1.7-7.6)
4	1.9 (0.5-4.9)
5	3.2 (0.7-9.0)
6	3.6 (0.4-12.3)
7	8.0 (1.0-26.0)
8	11.1 (0.3-48.3)
9	100.0 (2.5-100)

1.4 ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΑΠΟ ΘΡΟΜΒΟΕΜΒΟΛΗ

Εδώ και τουλάχιστον 3 δεκαετίες η μη ρευματικής αιτιολογίας κολπική μαρμαρυγή αναγνωρίζεται ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, ιδιαίτερα στους ηλικιωμένους. Πριν την κυκλοφορία της βαρφαρίνης η φαρμακευτική και ηλεκτρική ανάταξη ενοχοποιούνταν για εμβολικά επεισόδια, αλλά ο κίνδυνος ελαττώθηκε με τη χρήση της. Για το λόγο αυτό, η χρήση της αντιπηκτικής αγωγής πριν την ανάταξη είναι απαραίτητη για ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή διάρκειας μεγαλύτερης των 48 ωρών ή όταν η διάρκειά της είναι απροσδιόριστη¹⁷. Για ασθενείς με δομική καρδιακή νόσο, το όριο των 24-36 ωρών ίσως είναι περισσότερο ενδεδειγμένο.

Για ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε εκλεκτική καρδιοανάταξη, συνιστάται η χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής για τουλάχιστον τρεις εβδομάδες ενωρίτερα. Το λιγότερο 4 εβδομάδες αντιπηκτικής αγωγής πρέπει να χορηγείται μετά την καρδιοανάταξη, με βάση την υπόθεση ότι ένας θρόμβος χρειάζεται περίπου αυτό το διάστημα για να οργανωθεί και να προσκολληθεί στο κολπικό τοίχωμα. Επιπλέον, η κολπική συσταλτικότητα δεν επανέρχεται έως και τέσσερις εβδομάδες μετά την καρδιοανάταξη.

Σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή διάρκειας μεγαλύτερης από 24-48 ώρες, το διοισοφάγειο υπερηχοκαρδιογράφημα έχει τεκμηριώσει την παρουσία θρόμβων στο ωτίο του αριστερού κόλπου σε ποσοστό 15%, με την παρουσία χαμηλών ταχυτήτων να παρατηρείται στο περίπου 40% με το Doppler¹⁸.

Πάντως, ένα αρνητικό διοισοφάγειο υπερηχοκαρδιογράφημα δεν εγγυάται ανάταξη κολπικής μαρμαρυγής χωρίς εμβολή¹⁹. Η βελτίωση της ευαισθησίας για την ανίχνευση θρόμβων στο ωτίο του αριστερού κόλπου επιτυγχάνεται με τη χρήση παραγόντων ηχω-αντίθεσης. Εάν βρεθεί θρόμβος στο ωτίο από το

διοισοφάγειο υπερηχοκαρδιογράφημα, παραμένει αδιευκρίνιστο για πόση χρονική διάρκεια πρέπει να χορηγηθεί αντιπηκτική αγωγή στον ασθενή πριν την καρδιοανάταξη.

2. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ

2.1 ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με τις τρέχουσες Ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες²⁰ η από του στόματος αντιπηκτική αγωγή πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή λόγω ρευματικής βαλβιδοπάθειας ή σε παρουσία προσθετικών βαλβίδων, υπερτροφικής μυοκαρδιοπάθειας, θυρεοτοξίκωσης και σε ασθενείς υψηλού κινδύνου με βάση τη βαθμολογία CHA₂DS₂-VASc για score ≥ 2 (η βαθμολογία 1 για το θήλυ φύλο συμπεριλαμβάνεται μόνο για ασθενή > 65 ετών). Αυτές οι συστάσεις είναι ανεξάρτητα αν η αρρυθμία είναι μόνιμη ή παροξυσμική.

Πολλαπλές μελέτες έχουν καταδείξει την υπεροχή της βαρφαρίνης έναντι της ασπιρίνης στους ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή, καθώς η ασπιρίνη θα ελαττώσει τον κίνδυνο εγκεφαλικού κατά 20% ενώ η βαρφαρίνη κατά 70%. Ενώ ο κίνδυνος εγκεφαλικού επεισοδίου είναι πολύ χαμηλός όταν το INR διατηρείται μεταξύ 2 και 4, ο κίνδυνος αυξάνει απότομα όταν το INR είναι κάτω από 1,8. Σε τιμές INR πάνω από 4 υπάρχει αυξημένος κίνδυνος για εγκεφαλικές αιμορραγικές επιπλοκές.

Παρά την αποτελεσματικότητά της, η χρήση της βαρφαρίνης εξακολουθεί να αποτελεί πρόκληση τόσο για τον ιατρό όσο και τον ασθενή λόγω του στενού θεραπευτικού δείκτη, τις πολλαπλές φαρμακευτικές και διαιτητικές

αλληλεπιδράσεις, τον ποικίλο μεταβολισμό, το μακρό χρόνο ημίσειας ζωής και τη διαρκή ανάγκη για παρακολούθηση του INR.

Την τελευταία δεκαετία, πλήθος νέων προσεγγίσεων για τη διαχείριση του χώρου του ωτίου του αριστερού κόλπου με τα νέας γενιάς από του στόματος αντιπηκτικά (dabigatran, rivaroxaban, apixaban και edoxaban) έχουν χρησιμοποιηθεί και σε πολλές περιπτώσεις η σύγκριση είναι ισάξια ή και καλύτερη της βαρφαρίνης²⁰.

Ως εναλλακτική παρέμβαση της αντιπηκτικής αγωγής έχει εφαρμοστεί η μηχανική απόφραξη ή απομόνωση του ωτίου του αριστερού κόλπου. Η πλήρης απόφραξη του ωτίου του αριστερού κόλπου με ράμμα ή συρραπτικό, όπως αυτή ελέγχεται με μετεγχειρητικό διοισοφάγειο υπερηχοκαρδιογράφημα, σε μία μελέτη ανήλθε μόνο στο 45% και 72% αντίστοιχα²¹. Προς το παρόν, η απομόνωση/απόφραξη του ωτίου του αριστερού κόλπου με συσκευές που τοποθετούνται με καθετήρα δεν έχει ρόλο ως υποκατάστατο της από του στόματος αντιπηκτικής αγωγής. Οι ασθενείς που προορίζονται για απόφραξη/απομόνωση του ωτίου του αριστερού κόλπου θα πρέπει να έχουν πολλαπλούς παράγοντες κινδύνου για εγκεφαλικό επεισόδιο και είτε αντενδείξεις, μείζονες επιπλοκές, ή προηγούμενη αποτυχία της αντιπηκτικής αγωγής.

2.2 ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΟΣ

Οι περισσότεροι ασθενείς, που βρίσκονται σε εμμένουσα κολπική μαρμαρυγή και έχουν ικανοποιητική ρύθμιση της καρδιακής συχνότητας, αισθάνονται εξαιρετικά καλά, ιδιαίτερα οι ηλικιωμένοι που δεν είναι τόσο φυσικά δραστήριοι όσο οι νεώτεροι και τυπικά έχουν βραδύτερη κολποκοιλιακή αγωγή. Ενώ

αρχικά είχε υποστηριχθεί ότι η διατήρηση του φλεβοκομβικού ρυθμού είχε όφελος ως προς την επιβίωση, η μελέτη AFFIRM που συμπεριέλαβε 4000 ασθενείς, απέδειξε ότι δεν υπήρξε κάποιο όφελος ως προς την επιβίωση ή την εμφάνιση εγκεφαλικού επεισοδίου έναντι της εγκατάστασης του φλεβοκομβικού ρυθμού στα 5 χρόνια παρακολούθησης²². Ως εκ τούτου, οι στόχοι του ελέγχου του ρυθμού πρέπει να περιλαμβάνουν την εξάλειψη των συμπτωμάτων, που μπορεί να περιλαμβάνουν την κόπωση και πνευματική νωθρότητα, την πρόληψη της ταχυμοκαρδιοπάθειας, και την πρόληψη των φαρμακευτικών παρενεργειών. Ο έλεγχος της συχνότητας προκειμένου να επιτραπεί ο καρδιακός επανασυγχρονισμός ώστε να μεγιστοποιηθούν τα οφέλη της βηματοδότησης σε ασθενείς με συστολική συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια και ταχεία κολπική μαρμαρυγή αποτελεί ένα επίσης επιθυμητό τελικό σημείο από τον έλεγχο της συχνότητας.

Η διγοξίνη είναι το παλαιότερο φάρμακο από αυτά που δρουν στον κολποκοιλιακό κόμβο και θεωρείται κατώτερο από τους αναστολείς ασβεστίου και τους β-αδρενεργικούς αποκλειστές ως προς τον έλεγχο της κοιλιακής συχνότητας. Δε φαίνεται να διευκολύνει την ανάταξη σε φλεβοκομβικό ρυθμό. Πρέπει να θεωρείται δεύτερης επιλογής φάρμακο για έλεγχο της συχνότητας, εκτός αν ο ασθενής έχει σοβαρή δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας και καρδιακή ανεπάρκεια. Οι β-αδρενεργικοί αποκλειστές όπως η μετοπρολόλη, ατενολόλη, προπανολόλη και καρβεδιλόλη πρέπει να θεωρούνται πρώτης γραμμής θεραπεία για έλεγχο της συχνότητας, ιδιαίτερα σε ασθενείς με δομική καρδιακή νόσο. Οι αναστολείς των διαύλων ασβεστίου όπως η διλτιαζέμη και βεραπαμίλη συχνά χορηγούνται ιδιαίτερα σε επείγουσα βάση για άμεσο φαρμακευτικό έλεγχο της καρδιακής συχνότητας. Η κλονιδίνη, ένας κεντρικός

δρων α-ανταγωνιστής, φαίνεται επίσης να παρουσιάζει ευεργετική επίδραση στην κολποκοιλιακή αγωγή κατά τη διάρκεια κολπικής μαρμαρυγής.

2.3 ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΚΑΡΔΙΑΚΟΥ ΡΥΘΜΟΥ

Γενικά, οι νεώτεροι ασθενείς που είναι πιο δραστήριοι είναι αυτοί που δε μπορούν να αντιμετωπιστούν επαρκώς με έλεγχο συχνότητας και αναζητούν τη διατήρηση του φλεβοκομβικού ρυθμού. Ευτυχώς, αυτοί οι συμπτωματικοί ασθενείς είναι αυτοί που έχουν τις περισσότερες πιθανότητες παραμονής σε φλεβοκομβικό ρυθμό μόλις αυτός επιτευχθεί, είτε αυτόματα, φαρμακευτικά ή με ηλεκτρική ανάταξη.

Για τους περισσότερους ασθενείς με νεοεμφανιζόμενη κολπική μαρμαρυγή ακολουθεί αυτόματη ανάταξη. Στην Ευρώπη, είναι διαθέσιμες οι ενδοφλέβιες μορφές των κλάσης I-C αντιαρρυθμικών φλεκαϊνίδη και προπαφαινόνη, ενώ στις ΗΠΑ η ενδοφλέβια αμιωδαρόνη που προσφέρει έλεγχο της συχνότητας αλλά όχι πραγματική τάση για ανάταξη έως ότου οι ασθενείς παραμείνουν στο φάρμακο για 24 ώρες. Επίσης το αντιαρρυθμικό κλάσης I-A προκαϊναμίδη διατίθεται ενδοφλεβίως στις ΗΠΑ και μπορεί να βοηθήσει σε πρώιμη ανάταξη μέσα σε 2-4 ώρες. Η από του στόματος φλεκαϊνίδη (200-300 mg) ή προπαφαινόνη (450-600 mg) μπορεί να χορηγηθούν σε εξωτερική βάση ή και σε επείγουσα βάση προκειμένου να βοηθήσουν στην πρώιμη ανάταξη σε 3-8 ώρες. Μπορεί επίσης να χορηγηθεί και η ενδοφλέβια ιμπουτιλίδη η οποία βοηθάει στην ανάταξη της κολπικής μαρμαρυγής σε ποσοστό 50% σε ½ - 2 ώρες και σε μεγαλύτερα ποσοστά στον κολπικό πτερυγισμό. Πάντως οι ασθενείς χρειάζονται παρακολούθηση για 6-8 ώρες μετά τη χορήγησή της για

εκσεσημασμένη παράταση του διαστήματος QT και αρρυθμία Torsade's de Pointes (1,7%).

Για διατήρηση του φλεβοκομβικού ρυθμού, στους ασθενείς με δομικά φυσιολογικές καρδιές προτείνεται η λήψη αναστολέων των διαύλων Na όπως τα αντιαρρυθμικά κλάσης I-C φλεκαϊνίδη ή προπαφαινόνη οι αναστολείς των διαύλων καλίου, ή τα αντιαρρυθμικά κλάσης III όπως δρονεδαρόνη ή σοταλόλη. Αυτά τα τέσσερα σκευάσματα μπορούν να ξεκινήσουν σε εξωτερική βάση με ασφάλεια κατά τη διάρκεια ύπαρξης φλεβοκομβικού ρυθμού σε νεώτερους ασθενείς χωρίς δομική νόσο ή διαταραχές στο σύστημα αγωγής. Οι ασθενείς που ξεκινούν τη λήψη ενός αντιαρρυθμικού κλάσης IC πρέπει να υποβάλλονται σε ΗΚΓ έπειτα από 5 ημιζωές του χορηγούμενου σκευάσματος ώστε να επιβεβαιωθεί ότι η διάρκεια του QRS αυξήθηκε κατά 10%-20%, καταδεικνύοντας την ενδεικνυόμενη επιβραδυντική επίδραση στην αγωγή ενός αναστολέα των διαύλων Na. Επίσης, οι ασθενείς που θα λάβουν φάρμακο κλάσης III πρέπει να παρακολουθηθούν με ΗΚΓ ώστε να επιβεβαιωθεί η ύπαρξη κάποιας παράτασης του QTc που δεν υπερβαίνει τα 500 msec που θεωρείται ο ουδός για σημαντική αύξηση κοιλιακής προαρρυθμίας. Για την αμιωδαρόνη το όριο ανέρχεται στα 550 msec. Τα πρόσφατα αντιαρρυθμικά κλάσης III ντοφετιλίδη (που είναι πολύ παρόμοιο με τη σοταλόλη χωρίς όμως τη β-αναστολή) και η δρονεδαρόνη (παρόμοια με την αμιωδαρόνη χωρίς όμως ιώδιο) έχουν παρόμοια δραστηριότητα με τα παλαιότερα και είναι πολύ καλά ανεκτά. Η δρονεδαρόνη δεν εμφανίζει τοξικότητα στους πνεύμονες, δέρμα, μάτια και θυρεοειδή σε σύγκριση με την αμιωδαρόνη, μολονότι μπορεί να επηρεάσει την ηπατική λειτουργία και μπορεί να επιδεινώσει την καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ είναι λιγότερο αποτελεσματική.

3. ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ

3.1 ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΚΑΡΔΙΟΑΝΑΤΑΞΗ

Η επείγουσα ηλεκτρική καρδιοανάταξη είναι απαραίτητη προκειμένου να σταθεροποιηθεί η συχνότητα του ασθενούς αν δεν υπάρχει ανταπόκριση από την ενδοφλέβια χρήση της διλτιαζέμης ή των β-αδρενεργικών αποκλειστών. Αυτό δεν είναι σπάνιο σε ασθενείς με σοβαρή δομικής αρχής καρδιακή νόσο (σοβαρή στεφανιαία νόσο, αορτική στένωση, υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια). Επιπλέον, σε ασθενείς που βρίσκονται σε κίνδυνο αιφνιδίου θανάτου σε έδαφος συνδρόμου Wolff-Parkinson-White και δεν ανταποκρίνονται σε καρδιοανάταξη με ενδοφλέβια αντιαρρυθμικά ή ιμπουτιλίδη πρέπει να θεωρούνται υποψήφιοι για επείγουσα καρδιοανάταξη για έλεγχο της συχνότητας.

3.2 ΚΑΤΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΚΟΛΠΟΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΚΟΜΒΟΥ

Η κατάλυση του κολποκοιλιακού κόμβου είναι μια μέθοδος επιβράδυνσης μιας φαρμακευτικά ανθεκτικής υπερκοιλιακής αρρυθμίας, συμπεριλαμβανομένης της κολπικής μαρμαρυγής. Η πλήρης κατάλυση του συστήματος αγωγής απαιτεί την τοποθέτηση βηματοδότη. Σε απουσία δομικής καρδιακής νόσου, η επιβίωση των ασθενών με κολπική μαρμαρυγή που υποβάλλονται σε κατάλυση του κολποκοιλιακού κόμβου είναι εξαιρετική και προσομοιάζει με αυτήν του γενικού πληθυσμού για την ίδια ηλικία²³. Σε μία πρόσφατη μετα-ανάλυση 5 μελετών σχετικά με την κατάλυση του κολποκοιλιακού κόμβου έναντι φαρμακευτικής θεραπείας²⁴, δεν υπήρχε διαφορά στη θνητότητα μεταξύ των δύο ομάδων. Η ποιότητα της ζωής και τα συμπτώματα παλμών και δύσπνοιας βελτιώθηκαν ξεκάθαρα στην επεμβατική ομάδα όπως επίσης και το κλάσμα

εξώθησης στην πλειονότητα των ασθενών που είχαν προϋπάρχουσα δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας.

3.3 ΚΑΤΑΛΥΣΗ (Ablation) ΤΗΣ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ

Είναι πλέον γνωστό πως τα μυικά περιβλήματα των πνευμονικών φλεβών πυροδοτούν κολπική μαρμαρυγή στο 80%-90% των ασθενών και ιδιαίτερα σε αυτούς με παροξυσμούς. Η απομόνωση των πνευμονικών φλεβών αποτελεί το θεμέλιο λίθο για την κατάλυση της αρρυθμίας. Οι περισσότερες από τις 8 τυχαιοποιημένες μελέτες κατάλυσης συνέκριναν αυτή την τεχνική με τα αντιαρρυθμικά φάρμακα και συμπεριέλαβαν κυρίως ασθενείς με παροξυσμική κολπική μαρμαρυγή και ένα έτος παρακολούθησης. Χωρίς κολπική μαρμαρυγή παρέμεινε το 66%-89% των ασθενών με κατάλυση (ablation) και 9%-58% των ασθενών της ομάδας των αντιαρρυθμικών²⁵. Σε διάφορες υποομάδες ασθενών, συμπεριλαμβανομένων των παχύσαρκων, αυτών με υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια ή καρδιακή ανεπάρκεια, με διαστολική δυσλειτουργία και των πολύ ηλικιωμένων, τα αποτελέσματα και η ασφάλεια αυτής της μεθόδου συνάδουν με άλλες ομάδες ασθενών.

4. ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΚΟΛΠΙΚΗ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗ

Η κολπική μαρμαρυγή αποτελεί την πιο συχνή αρρυθμία μετά από καρδιακό χειρουργείο. Αν και η επίπτωση ποικίλει και εξαρτάται και από το πόσο εντατική είναι η παρακολούθηση του καρδιακού ρυθμού, η καλύτερη εκτίμηση δείχνει πως σχεδόν το 30% των ασθενών που υποβάλλονται σε χειρουργείο αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, το 40% των ασθενών που θα υποβληθούν σε χειρουργείο για βαλβιδική καρδιακή νόσο και περισσότεροι από τους μισούς

από όλους τους ασθενείς που θα υποβληθούν σε συνδυασμένη επέμβαση, θα εμφανίσουν αυτή την αρρυθμία. Το μεγαλύτερο ποσοστό (64%) φαίνεται να παρατηρείται στους ασθενείς που υποβάλλονται σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη σε συνδυασμό με αντικατάσταση της μιτροειδούς βαλβίδας^{26,27}. Παρά την συχνά καλοήγη πορεία της, παραμένει ένα σοβαρό ιατρικό πρόβλημα καθώς μπορεί να εκθέσει τους ασθενείς σε σοβαρούς κινδύνους κατά τη μετεγχειρητική περίοδο και να αυξήσει το χρόνο αλλά και το κόστος της νοσηλείας.

Η μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή μετά από καρδιακό χειρουργείο συνήθως εμφανίζεται τις πρώτες 2-4 μετεγχειρητικές ημέρες με τη μέγιστη επίπτωση να παρατηρείται τη 2^η μετεγχειρητική ημέρα²⁸. Παρά την συχνά καλοήγη πορεία της, παραμένει ένα σοβαρό ιατρικό πρόβλημα γιατί μπορεί να εκθέσει τους ασθενείς σε σοβαρούς κινδύνους κατά τη μετεγχειρητική περίοδο, καθώς επιδεινώνει την αιμοδυναμική τους κατάσταση αυξάνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας και εμβολικών συμβάντων και μπορεί επίσης να αυξήσει το χρόνο αλλά και το κόστος της νοσηλείας. Πέρα από τον υψηλότερο κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου, η μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή συσχετίζεται με υψηλότερη ενδονοσοκομειακή θνητότητα και χειρότερη επιβίωση (74% έναντι 87%) σε μακροχρόνια παρακολούθηση (4-5 έτη).

4.1 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Καθώς η κατανόηση των βιοχημικών και κυτταρικών αλληλεπιδράσεων της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής παραμένει ατελής, η θεωρία επανεισόδου πολλαπλών κυματιδίων έχει αποδειχθεί ως ένα χρήσιμο μοντέλο

και θεωρείται ως η προεξάρχουσα διεργασία^{10,29}. Η συγκεκριμένη θεωρεία υποθέτει πως η κολπική μαρμαρυγή εμμένει μέσω πολλαπλών, ισοδύναμα κυρίαρχων, ταυτόχρονων κυκλωμάτων επανεισόδου, λόγω μιας τροποποίησης ή αλλαγής στο κολπικό υπόστρωμα. Αυτή η αλλαγή στο υπόστρωμα ως επακόλουθο επιβραδύνει την εξάπλωση του προς τα πρόσω κινούμενου δυναμικού ενέργειας μέσω του κολπικού ιστού και καταλήγει σε ένα μονοκατευθυντήριο αποκλεισμό. Αυτό το φαινόμενο προκύπτει σε συνδυασμό με μία βράχυνση της ανερέθιστης περιόδου σε εναλλακτικές κατευθύνσεις οδηγώντας το ερέθισμα να λάβει μια ανάδρομη πορεία. Το μεμονωμένο συμβάν προκύπτει σε αναρίθμητες επαναλήψεις δημιουργώντας πολλαπλές επανεισόδους κυματιδίων. Αυτά με τη σειρά τους προκαλούν ένα ηλεκτρικά ασταθές περιβάλλον μέσα στον κόλπο που είναι πολύ επιρρεπές σε κολπική μαρμαρυγή. Από τη στιγμή που θα υπάρξει αυτό το περιβάλλον, απαιτείται το έναυσμα (π.χ πρώιμη κολπική συστολή) για να βάλει μπροστά τη διεργασία της κολπικής μαρμαρυγής. Για να εμφανιστεί η κολπική μαρμαρυγή απαιτούνται το έναυσμα αλλά και το τροποποιημένο υπόστρωμα που θα διατηρήσει την αρρυθμία. Ειδικά στο καρδιακό χειρουργείο, υπάρχουν διάφορες παράμετροι καθ' όλη τη χειρουργική περίοδο όπου και τα δύο, το έναυσμα και μια τροποποίηση του κολπικού υποστρώματος μπορούν να υπάρξουν, πληρώνοντας τις απαραίτητες προϋποθέσεις για δημιουργία κολπικής μαρμαρυγής.

Πάντως, από κλινική άποψη στο μετεγχειρητικό ασθενή, ανεξαρτήτα τελικά της οδού που ενοχοποιείται, η τροποποίηση στον κολπικό ιστό από τη συνδυασμένη επίδραση των προεγχειρητικών χαρακτηριστικών του ασθενούς και των περιεγχειρητικών κακώσεων θεωρούνται υπεύθυνα για την εμφάνιση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Συγκεκριμένοι βιοχημικοί

μηχανισμοί είτε πυροδοτούν την αρρυθμία, είτε επηρεάζουν το κολπικό υπόστρωμα και τη συντηρούν. Η νευροορμονική ενεργοποίηση, η φόρτιση όγκου και τα σύμπλοκα βιοχημικά υποπροϊόντα φλεγμονής, κάθε ένα κατέχει το δικό του ρόλο σε αυτή τη θεώρηση.

Η νευροορμονική ενεργοποίηση και η αύξηση του συμπαθητικού τόνου συχνά προηγούνται της κολπικής μαρμαρυγής υποδηλώνοντας αυτή τη βιοχημική οδό ως το έναυσμα. Κλινικά, ο πόνος, οι διεγχειρητικοί καρδιακοί χειρισμοί, η υποογκαιμία, ή άλλες διεγχειρητικές καταστάσεις που προκαλούν αύξηση των κατεχολαμινών μπορούν να ενεργοποιήσουν αδρενεργικούς υποδοχείς μέσα στον αριστερό κόλπο και να επιτείνουν την τάση τους για εμπλοκή σε μία ηλεκτρική απάντηση ή να πυροδοτήσουν ένα συμβάν.

Αντιθέτως, η εμμένουσα φόρτιση όγκου πιστεύεται πως διαιωνίζει τη μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή. Ο αυξημένος όγκος τροποποιεί τις κολπικές πιέσεις και την κολπική ενδοτικότητα. Η φόρτιση όγκου έχει αποδειχθεί πως βραχύνει τις κολπικές ανερέθιστες περιόδους στους κόλπους ζώων και ανθρώπων. Κλινικά στοιχεία υποστηρίζουν τη συσχέτιση μεταξύ αυξημένου όγκου και μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Σε προοπτικές σειρές ασθενών που υποβάλλονται σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη, ο όγκος του αριστερού κόλπου προεγχειρητικά όπως εκτιμήθηκε υπερηχοκαρδιογραφικά, βρέθηκε να είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής³⁰.

Υπάρχουν δεδομένα που ενοχοποιούν τη φλεγμονή στην παθογένεση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Μια πρόσφατη μελέτη με 104 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη υπό εξωσωματική κυκλοφορία έδειξε μια σημαντική αύξηση στους διεγχειρητικούς φλεγμονώδεις

βιοδείκτες του πλάσματος πριν την είσοδο στην εξωσωματική κυκλοφορία (CRP και ιντερλευκίνη-6) σε δείγματα που ελήφθησαν από τον κόλπο ασθενών που εμφάνισαν κολπική μαρμαρυγή συγκριτικά με αυτά που ελήφθησαν από ασθενείς που παρέμειναν σε φυσιολογικό φλεβοκομβικό ρυθμό³¹. Η μελέτη υποστηρίζει πως ένα προϋπάρχον ενδοκαρδιακό φλεγμονώδες περιβάλλον προδιαθέτει τον ασθενή σε μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή.

4.2 ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΓΙΑ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΚΟΛΠΙΚΗ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗ

Ενώ οι υποκείμενοι βιοχημικοί και κυτταρικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στη μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή είναι εξαιρετικά πολύπλοκοι και παραμένουν μερικώς κατανοητοί, σε κλινικό επίπεδο υπάρχουν εύκολα αναγνωρίσιμοι παράγοντες κινδύνου που προδιαθέτουν τους ασθενείς σε μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή. Αυτοί οι παράγοντες μπορούν να διαχωριστούν σε 3 ομάδες, τους προεγχειρητικούς, διεγχειρητικούς και μετεγχειρητικούς. Επιπλέον, αυτοί οι παράγοντες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με το αν μπορούν να τροποποιηθούν ή όχι (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Προεγχειρητικοί, διεγχειρητικοί, και μετεγχειρητικοί (τροποποιήσιμοι και μη τροποποιήσιμοι) κλινικοί παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή.

Προεγχειρητικοί παράγοντες

Διεγχειρητικοί παράγοντες

Μετεγχειρητικοί παράγοντες

Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Μεγάλη ηλικία	Ενδοτραχειακή διασωλήνωση	Επιστροφή στη ΜΕΘ
Άνδρες	Τοποθέτηση ενδοαορτικής αντλίας	Μηχανικός αερισμός > 24 ώρες
Προηγούμενο καρδ. Χειρουργείο	Εξαερισμός αριστερής κοιλίας	Τροποποιήσιμοι παράγοντες
Βαλβιδική καρδιακή νόσος	Χρόνος αποκλεισμού της αορτής	Φόρτιση όγκου
Χρόνια αναπνευστική νόσος	Εξωσωματική κυκλοφορία	Πνευμονία
Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια	Μυοκαρδιακή ισχαιμία	Ηλεκτρολυτικές διαταραχές
Διάταση αριστερού κόλπου	Φλεβική διασωλήνωση	Διαταραχή αυτόνομου νευρικού
Υπερτροφία αριστερής κοιλίας	Τροποποιήσιμοι παράγοντες	Έκτακτες κολπικές συστολές
Τροποποιήσιμοι παράγοντες	Βλάβη στον κόλπο	Αυξημένη αδρενεργική κατάσταση
Διακοπή β-αποκλειστών	Εξεζητημένη ινότροπη υποστήριξη	Αυξημένο μεταφόρτιο
Ιστορικό κολπικής μαρμαρυγής	Οξεία μεταβολή όγκου	Φλεγμονή
Υπέρταση		Υπόταση
Παχυσαρκία		
Διαβήτης		
Μεταβολικό σύνδρομο		

Παρόλο που υπάρχουν αντιφάσεις στη βιβλιογραφία ως προς ορισμένους από τους παράγοντες κινδύνου, η προχωρημένη ηλικία αποτελεί σταθερά αποδεδειγμένα τον πιο σημαντικό παράγοντα που αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της αρρυθμίας³². Σε μία πολυκεντρική μελέτη με 4600 ασθενείς, η ηλικία αύξανε τον κίνδυνο μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής κατά 75% για κάθε ηλικιακή δεκαετία ξεκινώντας από την ηλικία των 40 ετών³³.

Οι διάφοροι διεγχειρητικοί και μετεγχειρητικοί παράγοντες κινδύνου για μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή ασκούν τις επιδράσεις τους μέσω κάποιου από τους ακόλουθους μηχανισμούς: με αυξημένη ρύθμιση της συμπαθητικής απάντησης του οργανισμού, με επιβράδυνση της ταχύτητας αγωγής, ή προξενώντας ένα φλεγμονώδη καταρράκτη.

4.3 ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ, ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Γενικά, η μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή θεωρείται ένα παροδικό, αυτοπεριοριζόμενο συμβάν, που είναι καλά ανεκτό χωρίς ευδιάκριτες επιδράσεις κατά τη μετεγχειρητική πορεία. Πάντως, δεν είναι πάντα έτσι, καθώς η παρουσία της αρρυθμίας μπορεί να έχει αρνητικές επιδράσεις στην ανάνηψη των ασθενών και να επηρεάσει τη φροντίδα τους με ποικίλους τρόπους. Οι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν καταβολή, αίσθημα παλμών ή εφίδρωση που τους προκαλούν σημαντική δυσανεξία. Στο άλλο άκρο, οξεία υπόταση και αιμοδυναμική αστάθεια μπορεί να αποτελούν την κλινική εικόνα και απαιτείται άμεση καρδιομετατροπή. Πολύ σημαντικό είναι και το γεγονός ότι η μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή αυξάνει το θρομβοεμβολικό φορτίο του ασθενούς το οποίο σχετίζεται με κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου και αυξημένη πρώιμη και όψιμη θνητότητα. Η επίπτωση του εγκεφαλικού επεισοδίου σε

ασθενείς που θα εμφανίσουν την αρρυθμία μετά το καρδιακό χειρουργείο είναι 3 φορές μεγαλύτερη από αυτήν των ασθενών που παραμένουν σε φλεβοκομικό ρυθμό³⁴. Σε μία μελέτη με >16000 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη, η μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή βρέθηκε να σχετίζεται με 21% αύξηση του σχετικού κινδύνου όψιμης θνητότητας (μέση διάρκεια παρακολούθησης 6 έτη)³⁵.

Ο ακρογωνιαίος λίθος της θεραπείας της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής είναι η προληπτική στρατηγική που θα αυξήσει την πιθανότητα διατήρησης του φυσιολογικού φλεβοκομβικού ρυθμού για όσο διαρκέσει η μετεγχειρητική πορεία. Για τους ασθενείς όπου αποτυγχάνει η προληπτική θεραπεία, η καθιερωμένη αντιμετώπιση με έλεγχο της συχνότητας και η αντιπηκτική αγωγή πρέπει να συνιστώνται για ελαχιστοποίηση των επιπλοκών. Γενικά, η θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών με μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή είναι παρόμοια με αυτήν των μη χειρουργημένων ασθενών που εμφανίζουν κολπική μαρμαρυγή. Πάντως, καμία από τις μελέτες βάσει των οποίων εφαρμόζουμε τη θεραπευτική αντιμετώπιση της κολπικής μαρμαρυγής, και ιδιαίτερα για τα νεώτερα αντιπηκτικά, δε συμπεριέλαβε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε καρδιακό χειρουργείο. Για το λόγο αυτό, ούτε τα αποτελέσματα αυτών των μελετών μπορούν να γενικευτούν για την αντιμετώπιση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής, ούτε αυτά τα νέα αντιπηκτικά έχουν εγκριθεί για τέτοια ένδειξη. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα αυτών των μελετών ανοίγουν το δρόμο για μελλοντικές μελέτες που θα διερευνήσουν τη σχέση κινδύνου-οφέλους με τα νέα σκευάσματα για τους μετεγχειρητικούς ασθενείς. Καθώς ο χρόνος που απαιτείται για τα κουμαρινικά αντιπηκτικά προκειμένου να επιτευχθούν θεραπευτικά επίπεδα είναι γνωστό

πως παρατείνει το χρόνο νοσηλείας, θα μπορούσε κάποιος να υποθέσει πως η χρήση των νεώτερων αντιπηκτικών με την άμεση έναρξη δράσης θα μπορούσε να ελαττώσει σημαντικά την παραμονή στο νοσοκομείο και επομένως να μειώσει το νοσοκομειακό κόστος.

4.4 ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ

Η φαρμακοθεραπεία αποτελεί την κύρια προληπτική μέθοδο για μείωση της επίπτωσης της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Αρκετά διαφορετικά φάρμακα έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορους συνδυασμούς και έχουν μελετηθεί σε διάφορα στάδια κατά τη διεγχειρητική περίοδο με διαφορετικές δόσεις και οδούς χορήγησης. Οι διάφοροι συνδυασμοί έχουν κάνει δύσκολη την ανεύρεση της βέλτιστης προσέγγισης για πρόληψη της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Προς το παρόν, οι β- αδρενεργικοί αποκλειστές, η αμιωδαρόνη και η σοταλόλη είναι τα τρία περισσότερο χρησιμοποιούμενα φάρμακα για πρόληψη αυτής της αρρυθμίας.

Άλλες θεραπείες που περιλαμβάνουν στατίνες, μαγνήσιο και κορτικοστεροειδή είναι λιγότερο διαδεδομένες αλλά υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν τη χρήση τους. Διάφορα διεγχειρητικά μέτρα προφύλαξης έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για μείωση της επίπτωσης της αρρυθμίας, συμπεριλαμβανομένων της κολπικής βηματοδότησης και της οπίσθιας περικαρδιοτομής.

4.5 ΜΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ

Οπίσθια περικαρδιοτομή. Η οπίσθια περικαρδιοτομή είναι μία διεγχειρητική παρέμβαση όπου γενικά πραγματοποιείται μια επιμήκης τομή 4 cm οπίσθιας

στο περικάρδιο και παραλλήλως του φρενικού νεύρου. Η συλλογή αίματος στο περικάρδιο μπορεί να προκαλέσει καρδιακό ερεθισμό που αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Η λογική αυτής της τεχνικής έγκειται στο γεγονός ότι επιτρέπει τη μετεγχειρητική απορροή υγρού, εμποδίζοντας έτσι την περικαρδιακή συλλογή³⁶. Μια μετα-ανάλυση 6 μελετών με 763 ασθενείς έδειξε σημαντική ελάττωση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής με απόλυτη μείωση του κινδύνου κατά 19% στην ομάδα που υποβλήθηκε σε οπίσθια περικαρδιοτομή, χωρίς όμως μείωση στη μετεγχειρητική θνητότητα ή το χρόνο νοσηλείας³⁷.

Μια κύρια επιπλοκή αυτής της χειρουργικής τεχνικής είναι ο πιθανός κίνδυνος καρδιακής κήλης. Τα μοσχεύματα, μετά από επέμβαση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, μπορεί να συμπιεστούν από τα χείλη της οπίσθιας περικαρδιοτομής. Υπάρχει επίσης και ο κίνδυνος τραυματισμού του φρενικού νεύρου που μπορεί να περιοριστεί με την άμεση οπτική επαφή.

Με τα τρέχοντα δεδομένα, φαίνεται πως αυτή η μέθοδος είναι αποτελεσματική, μολονότι τα δεδομένα δεν είναι ισχυρά. Επίσης στερείται άλλων στοιχείων νοσηρότητας όπως το εγκεφαλικό επεισόδιο, την επανεγχείρηση, τη μετεγχειρητική αιμοδυναμική αστάθεια και την περικαρδιακή συλλογή. Γι' αυτό και παραμένει ακόμα αδιευκρίνιστο το κατά πόσο αυτή η τεχνική πρέπει να χρησιμοποιείται σαν μία καθιερωμένη προφυλακτική παρέμβαση.

Κολπική βηματοδότηση. Η κολπική βηματοδότηση ελέγχει την καρδιακή συχνότητα μέσω ηλεκτρικής διέγερσης. Η πρόληψη της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής θα μπορούσε να επιτευχθεί μέσω της καταστολής των πρώιμων κολπικών συστολών. Αντίθετα από τη φαρμακολογική προφύλαξη, η βηματοδοτική προφύλαξη δε συνοδεύεται από τον κίνδυνο ανάπτυξης

βραδυκαρδίας ή υπότασης. Επιπλέον, η βηματοδοτική θεραπεία έχει το πλεονέκτημα ότι δεν απαιτείται να ξεκινήσει πριν από το καρδιακό χειρουργείο, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει για την πλειονότητα της φαρμακολογικής προφύλαξης.

Πολλαπλές στρατηγικές βηματοδότησης έχουν χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Αυτές περιλαμβάνουν την αριστερή κολπική βηματοδότηση, τη δεξιά κολπική βηματοδότηση, την αμφικολπική βηματοδότηση και τη βηματοδότηση του σκέλους του Bachmann. Μια μετα-ανάλυση 14 μελετών με 1846 ασθενείς ανέλυσε τη σχέση μεταξύ κολπικής βηματοδότησης και πρόληψης της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Μόνο η αμφικολπική βηματοδότηση έδειξε σημαντικά αποτελέσματα ως προς το βραχύτερο χρόνο παραμονής και ως προς τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης της αρρυθμίας³⁸.

Και με αυτήν τη μέθοδο δεν παρατηρήθηκε ελάττωση του κινδύνου για εγκεφαλικά επεισόδια, καρδιαγγειακή θνητότητα, ή μείωση στο νοσοκομειακό κόστος. Μια κύρια ανεπιθύμητη ενέργεια της βηματοδοτικής θεραπείας είναι ο κίνδυνος δυσλειτουργίας των κολπικών ηλεκτροδίων ή η ακατάλληλη αίσθηση, που θα μπορούσε να προκαλέσει προαρρυθμική κολπική προδιέγερση, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα αρρυθμίας.

Η κολπική βηματοδοτική θεραπεία και ιδιαίτερα η αμφικολπική, φαίνεται πως είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για την πρόληψη της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής και γι' αυτό θα πρέπει να θεωρείται ως επιλογή για την πρόληψη της αρρυθμίας εάν οι ασθενείς έχουν αντένδειξη για φαρμακολογική προφύλαξη, ιδιαίτερα σε β-αποκλειστές ή αμιωδαρόνη.

4.6 ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΚΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ

Η θεραπεία με β-αδρενεργικούς αποκλειστές θεωρείται ως η πιο αποτελεσματική προφυλακτική θεραπεία για την πρόληψη της μετεγχειρητικής κοιλιακής μαρμαρυγής. Παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση της αρρυθμίας αποτελεί άλλωστε και η διακοπή των β- αποκλειστών. Σε μετα-ανάλυση 33 μελετών με 4698 ασθενείς που υποβλήθηκαν είτε σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη ή σε χειρουργείο για βαλβιδική νόσο, διαπιστώθηκε πως η θεραπεία με β-αποκλειστές ελάττωσε την επίπτωση της μετεγχειρητικής κοιλιακής μαρμαρυγής κατά 15.4%, χωρίς όμως ελάττωση του κινδύνου για εγκεφαλικό επεισόδιο, μετεγχειρητική θνητότητα ή χρόνο νοσηλείας³⁷. Η προφυλακτική επίδραση της θεραπείας με β-αποκλειστές είναι μέγιστη όταν χορηγείται και πριν και μετά το χειρουργείο συγκριτικά με τη χορήγηση μόνο πριν ή μόνο μετά.

Αναφορικά με την αμιωδαρόνη, η χρήση της έδειξε μείωση του κινδύνου εμφάνισης της αρρυθμίας κατά 14%, όπως επίσης και βραχύτερο χρόνο νοσηλείας, χωρίς όμως κάποια επίδραση στα εγκεφαλικά επεισόδια, τη μετεγχειρητική θνητότητα και την καρδιαγγειακή θνητότητα³⁷. Η επίδραση της αμιωδαρόνης ήταν ανεξάρτητη της οδού και του χρόνου χορήγησης, όταν χορηγήθηκαν τουλάχιστον 300 mg ενδοφλεβίως ακολουθούμενα από χορήγηση συνολικά 1 gr³⁹. Από την άλλη πλευρά, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος μετεγχειρητικών ανεπιθύμητων ενεργειών, όπως βραδυκαρδία και υπόταση (16%), αύξηση της κρεατινίνης (93%), φλεβίτιδα στο σημείο έγχυσης, κοιλιακές αρρυθμίες (2%-5%) και ηπατοτοξικότητα (3%-20%)³⁷.

Ως προς τη σοταλόλη, μια μετα-ανάλυση έδειξε πως η θεραπεία με αυτήν είναι περισσότερο αποτελεσματική για την πρόληψη της μετεγχειρητικής κοιλιακής

μαρμαρυγής συγκριτικά με εικονική θεραπεία ή θεραπεία με β-αποκλειστές. Η προεγχειρητική χορήγηση σοταλόλης συνοδεύτηκε από περισσότερες περιπτώσεις διακοπής λόγω των παρενεργειών και επιπλέον δε διαπιστώθηκε πλεονέκτημα συγκριτικά με τη μετεγχειρητική χορήγηση σοταλόλης⁴⁰. Ανεπιθύμητες ενέργειες που έχουν αναφερθεί περιλαμβάνουν υπόταση (6%), δύσπνοια (21%), βραδυκαρδία (16%) και υπερκοιλιακές αρρυθμίες³⁷. Λόγω της κυριότερης επιπλοκής εμφάνισης αρρυθμίας Torsade de pointes, η προφυλακτική χορήγηση σοταλόλης πρέπει να γίνεται με προσοχή, ιδιαίτερα σε ασθενείς με ηλεκτρολυτικές διαταραχές, παράταση του διαστήματος Q-T και υπερκοιλιακές αρρυθμίες.

4.7 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Ως εναλλακτική θεραπεία θεωρείται η χρήση μη αντιαρρυθμικής αγωγής που θα μπορούσε να τροποποιήσει το κολπικό υπόστρωμα ή κάποιον άλλο επιπρόσθετο μηχανισμό της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής συμπεριλαμβανόμενης και της ελάττωσης της φλεγμονής. Αυτό είναι επιθυμητό για ασθενείς με βραδυκαρδία και καρδιακή ανεπάρκεια στους οποίους αντενδείκνυται η θεραπεία με β- αδρενεργικούς αποκλειστές.

Η αντιφλεγμονώδης δράση των στατινών μπορεί να ελαττώσει την επίπτωση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Διάφορες μετα-αναλύσεις κατέδειξαν την ευεργετική δράση των στατινών ως προς την πρόληψη αυτής της αρρυθμίας⁴¹⁻⁴³. Θεωρείται έτσι αποτελεσματική η προφυλακτική χορήγηση στατινών σε όλους τους ασθενείς που θα υποβληθούν σε καρδιακό χειρουργείο τουλάχιστον μία εβδομάδα πριν από αυτό.

Οι ασθενείς με υπομαγνησισαιμία βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής μετά από καρδιακό χειρουργείο. Η χορήγηση προφυλακτικά μαγνησίου κατά το καρδιακό χειρουργείο θα μπορούσε να διορθώσει την έλλειψή του και να εμποδίσει την εμφάνιση της αρρυθμίας. Γενικά η ενδοφλέβια χορήγηση μαγνησίου δεν έχει ιδιαίτερες ανεπιθύμητες ενέργειες επί φυσιολογικής νεφρικής λειτουργίας. Μολονότι οι κατευθυντήριες οδηγίες δε συνιστούν το μαγνήσιο ως μία καθιερωμένη προφυλακτική επιλογή για την πρόληψη της κολπικής μαρμαρυγής μετά από καρδιακό χειρουργείο, φαίνεται πως η χρήση του θα μπορούσε να θεωρηθεί ως μία εναλλακτική επιλογή για πρόληψη της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής.

Λόγω των αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων των κορτικοστεροειδών, διάφορες μελέτες διερεύνησαν το κατά πόσο αυτά θα μπορούσαν να ελαττώσουν τον κίνδυνο της κολπικής μαρμαρυγής μετά από καρδιακό χειρουργείο. Μια μετα-ανάλυση 18 μελετών με 1509 ασθενείς έδειξε σημαντική μείωση του κινδύνου εμφάνισης της αρρυθμίας μετά από καρδιακό χειρουργείο, χωρίς διαφορές μεταξύ των διαφορετικών δόσεων χορήγησης. Πάντως στην ομάδα των κορτικοστεροειδών παρατηρήθηκε αυξημένος κίνδυνος υπεργλυκαιμίας με ανάγκη για ινσουλίνη όταν χορηγήθηκε μεγάλη δόση (> 10000 mg υδροκορτιζόνης)⁴⁴. Αντιθέτως, μια πρόσφατη τυχαιοποιημένη πολυκεντρική μελέτη με 4482 ασθενείς που έλαβαν διεγχειρητικά είτε υψηλές δόσεις δεξαμεθαζόνης είτε εικονική θεραπεία δεν έδειξε κάποιο όφελος ως προς τη μείωση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Παρόλο που διαπιστώθηκε μείωση του κινδύνου λοιμώξεων, παραμονής στην εντατική ή το νοσοκομείο, δεν παρατηρήθηκε ελάττωση του κινδύνου εγκεφαλικού επεισοδίου ή μετεγχειρητικής θνητότητας⁴⁵. Λόγω των ανεπιθύμητων ενεργειών που

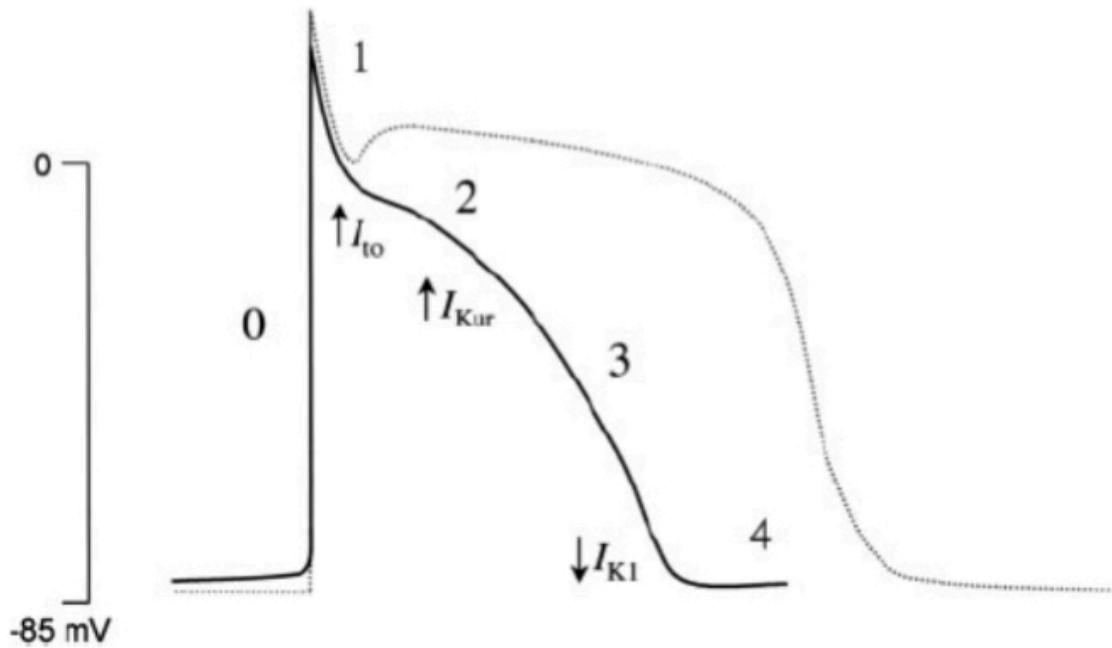
συνοδεύουν τη χρήση των κορτικοστεροειδών, προς το παρόν δε θεωρείται καθιερωμένη θεραπεία η χρήση τους για την πρόληψη της αρρυθμίας αυτής.

Τα Ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι μέρος της βιολογικής μεμβράνης έχοντας μια σταθεροποιητική επίδραση. Επιπλέον, έχουν θετική επίδραση σε διάφορους διαύλους ιόντων και είναι γνωστό πως μειώνουν τη φλεγμονή, το οξειδωτικό stress, την κολπική ηλεκτρική αναδιαμόρφωση και αραιώνουν τις κολπικές δομικές αλλαγές. Παρ' όλα αυτά, η περιεγχειρητική χορήγησή τους απέτυχε να αποδείξει μείωση του κινδύνου εμφάνισης μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής.

5. ΟΙ ΔΙΑΥΛΟΙ ΚΑΛΙΟΥ I_{ks}

Οι καρδιακοί ιοντικοί δίαυλοι I_{ks} είναι βραδείς ανορθωτικοί δίαυλοι που σχηματίζονται από α-υπομονάδες και συμμετέχουν στην φάση 3 του δυναμικού ενέργειας του καρδιακού μυϊκού κυττάρου. Μαζί με τους ταχύς ανορθωτικούς διαύλους K^+ (I_{kr}), αποτελούν τον βασικό μηχανισμό επαναπόλωσης του καρδιακού κυττάρου (εικόνα 2).

Εικόνα 2: Κολπικό δυναμικό ενέργειας. Σύγκριση με το κοιλιακό δυναμικό ενέργειας (διακεκομμένη γραμμή). Απεικονίζονται οι 4 φάσεις του καρδιακού δυναμικού



Οι ιδιότητες της α-υπομονάδας μπορούν να τροποποιηθούν με την σύνδεση μίας βοηθητικής β-υπομονάδας. Έχουν αναγνωρισθεί διαφορετικές β-υπομονάδες οι οποίες μπορούν να συνδεθούν σε μία ή περισσότερες α-υπομονάδες εξειδικευμένα (Πίνακας 2)⁴⁶.

Πίνακας 2. Η σχέση μεταξύ α- και β- υπομονάδων στα κολπικά κύτταρα

Current	Channel Components		Phase‡	Current Characteristics
	α-Subunits*	β-Subunits†		
Baseline atrial action potential				
I_{Na}	Nav1.5 , Nav1.3, Nav1.6	Navβ1, Navβ2	0	Voltage-gated Na ⁺ current; responsible for cell depolarization and initial upstroke of action potential
I_{to}	Kv4.3 , Kv1.4, Kv1.7, Kv3.3, Kv3.4, Kv4.1	KChIP2, KCNE1-4, Kvβ1-3, Navβ1	1, 2	Voltage-gated rapidly activating and inactivating (transient) outward K ⁺ current; major determinant of early repolarization
I_{CaL}	Cav1.2 , Cav1.3	Cavβ2, Cavα _{2δ}	2, 3, 4	Voltage-gated L-type Ca ²⁺ current; contributes to plateau phase of repolarization and diastolic depolarization in pacemaker cells; current activity determined by feedback mechanisms linked to changes in intracellular [Ca ²⁺]
I_{NCX}	NCX1	None	2, 3, 4	Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger (3:1); net inward current during terminal repolarization and diastolic depolarization
I_{Kur}	Kv1.5 , Kv1.2, Kv2.1, Kv3.1	Kvβ1, Kvβ2	1, 2	Ultraslow delayed rectifier K ⁺ current; contributes to repolarization
I_{Kr}	HERG	KCNE1, KCNE2	2, 3	Rapidly activating delayed rectifier K ⁺ current; contributes to repolarization
I_{Ks}	KCNQ1	KCNE1-5	3	Slowly activating delayed rectifier K ⁺ current; contributes to repolarization in ventricle, but role in atrial action potential uncertain
I_{KCa}	SK2	None	3	Ca ²⁺ -activated, small-conductance K ⁺ channel, contributes to repolarization
I_{K1}	Kir2.1 , Kir2.2, Kir2.3, Kir2.4	None	3, 4	Inward rectifier K ⁺ current; major determinant of baseline resting potential
Contribute to pacemaker function				
I_h	HCN4 , HCN1, HCN2	KCNE2	4	Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation ("funny") current; generates spontaneous activity in pacemaker cells
I_{CaT}	Cav3.1, Cav3.2	Cavγ6	4	Inward T-type Ca ²⁺ current; contributes to diastolic depolarization in pacemaker cells
I_{KACh}	Kir3.1 , Kir3.4	None	3, 4	Inward rectifier K ⁺ current; minimally active under basal conditions, exerts negative chronotropic effect by slowing diastolic depolarization in response to vagal stimulation
Contribute to resting membrane potential and/or adaptive responses to stress				
I_{KLeak}	TWIK1, TWIK2, TASK1, TASK2, TASK4	None	1-4	K ⁺ "leak" current; contributes to background conductance, activated by changes in pH, membrane stretch
Na ⁺ /K ⁺ ATPase	α1, α2, α3	β1	1-4	Na ⁺ /K ⁺ ATPase (3 Na ⁺ out/2 K ⁺ in); net outward current, active throughout action potential
I_{KATP}	Kir6.2	SUR2	1-4	ATP-sensitive K ⁺ current; inhibited by ATP, activated by ADP in conditions of metabolic stress
I_{SAC}	TRPC1?	None	1-4	Nonselective cation channel; activated by membrane stretch
I_{Cl}	CLIC1-6	None	1-4	Outwardly rectifying Cl ⁻ currents; putative role in background resting potential and repolarization, activated by multiple stimuli including Ca ²⁺ , cAMP, PKA, PKC, and cell swelling

PKA indicates protein kinase A; PKC, protein kinase C.

*α-Subunits identified at the RNA level in the human atrium; where multiple transcripts are present, those that are considered to have the major role in channel function are shown in bold.

†β-Subunits present in vivo that have been shown to interact with α-subunits in vitro.

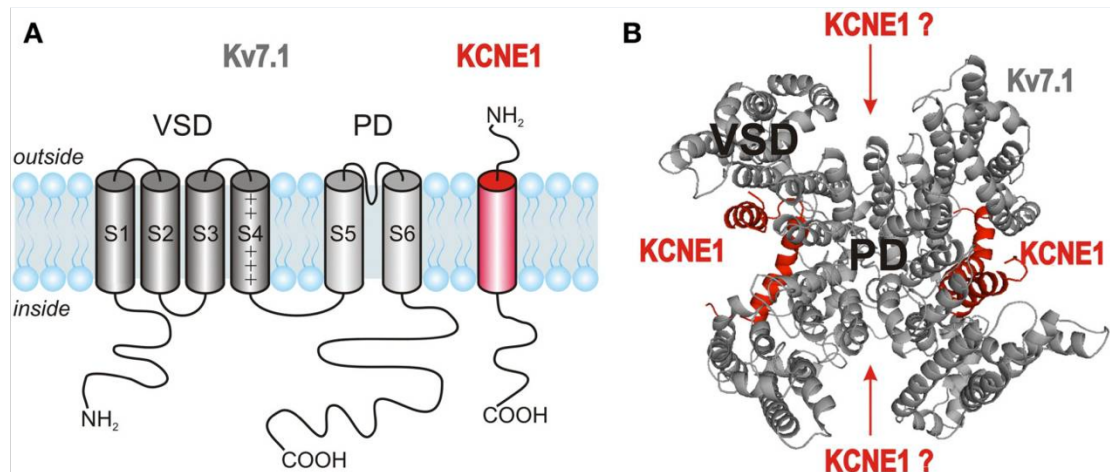
‡Phases of action potential in which channel is active, with period of highest current shown in bold.

Το γονίδιο KCNQ1 κωδικοποιεί την α-υπομονάδα των καρδιακών I_{Ks} διαύλων και είναι το πρώτο που σχετίστηκε με μία μορφή οικογενούς κολπικής μαρμαρυγής. Κάθε α-υπομονάδα αποτελείται από 6 διαμεμβρανικά τμήματα,

S1-S6. Ο κεντρικός πόρος, που περιλαμβάνει την πύλη ενεργοποίησης, διαμέσου της οποίας γίνεται η μεταφορά των ιόντων K^+ , σχηματίζεται από τα τμήματα S5-S6. Ο πόρος περιβάλλεται και ελέγχεται από τα 4 τμήματα S1-S4 το οποία είναι ευαίσθητα στις αλλαγές δυναμικού. Ειδικότερα η υπομονάδα S4 αποτελείται από πολλά θετικά φορτισμένα αμινοξέα και αποτελεί έναν βασικό αισθητήρα ιδιαίτερα ευαίσθητο στις αλλαγές δυναμικού. Οι α-υπομονάδες ενώνονται σε τετραμερή προκειμένου να σχηματίσουν λειτουργικούς διαύλους⁴⁷ [Εικόνα 3].

Η ανακάλυψη των μεταλλάξεων στο γονίδιο KCNQ1 οδήγησε στην μελέτη των γονιδίων KCNE, που κωδικοποιούν τις β-υπομονάδες, ως πιθανούς στόχους προδιάθεσης για κολπική μαρμαρυγή. Όλα τα γονίδια της οικογένειας KCNE εκφράζονται στην καρδιά αλλά σε διαφορετικές ποσότητες⁴⁸. Το γονίδιο KCNE1 αποτελείται από 65.585 ζεύγη βάσεων, οργανωμένα σε 5 εξώνια, και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 21 [Παράρτημα 1]. Παράγει την ανθρώπινη πρωτεΐνη mink που αποτελείται από 129 αμινοξέα, και λειτουργεί ως β-υπομονάδα του διαύλου I_{ks} διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην ηλεκτροφυσιολογία του καρδιακού κυττάρου ρυθμίζοντας την λειτουργικότητα του διαύλου⁴⁶. Ο ακριβής τρόπος αλληλεπίδρασης, όπως και ο αριθμός των μορίων της πρωτεΐνης mink που αλληλεπιδρούν με τα τετραμερή KCNQ1 δεν είναι ακόμη γνωστά. Πιστεύεται ότι το διαμεμβρανικό τμήμα του KCNE1 αλληλεπιδρά με τα τμήματα S5-S6 του KCNQ1 που σχηματίζουν τον πόρο και το τμήμα S4 οδηγώντας σε επιβράδυνση της ενεργοποίησης του διαύλου⁴⁷.

Εικόνα 3. Η δομή του διαύλου καλίου I_{ks}



(A) Οι α -υπομονάδες αποτελούνται από 6 διαμεμβρανικά τμήματα S1–S6 και ενδοκυττάρια N- and C-άκρα. Τα τμήματα S1–S4 σχηματίζουν το τμήμα που είναι ευαίσθητο στην τάση (voltage-sensing domain (VSD)), ενώ ο πόρος αποτελείται από τα τμήματα S5 και S6. Οι β -υπομονάδες του KCNE1 αποτελούνται από ένα διαμεμβρανικό τμήμα που αποτελείται από ένα εξωκυτταρικό N- άκρο και ένα κυτταροπλασματικό C-άκρο. **(B)** 4 α -υπομονάδες ενώνονται για να σχηματίσουν έναν λειτουργικό δίαυλο. Ο ακριβής αριθμός των β -υπομονάδων που σχετίζονται με τα τετραμερή παραμένει άγνωστος.

Πρόσφατες μελέτες καταδεικνύουν την ύπαρξη ενός μη ομόλογου πολυμορφισμού S38G σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή καθώς και αύξηση του *minK* mRNA σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή^{49,50}. Η ανάλυση της λειτουργικότητας της νέα πρωτεΐνης οδήγησε στην ανακάλυψη μειωμένης έντασης ρεύματος I_{ks} και επιμήκυνση της διάρκειας του δυναμικού ενέργειας, μεταβολές που μπορούν να οδηγήσουν σε κολπική μαρμαρυγή⁵¹.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στην παρούσα μελέτη εκτιμήσαμε την επίπτωση του πολυμορφισμού S38G του KNCE1 στην εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής σε μια προοπτική σειρά ασθενών που υποβλήθηκαν σε επέμβαση ανοικτής καρδιάς. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν δεδομένα για την σχέση του πολυμορφισμού KNCE1 και την εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής.

7. ΑΣΘΕΝΕΙΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ

7.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στην προοπτική αυτή μελέτη εκτιμήθηκε η επίπτωση του πολυμορφισμού του γονιδίου KCNE1 στην προδιάθεση εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής μετά από επεμβάσεις ανοικτής καρδιάς. Στη μελέτη συμμετείχαν διαδοχικοί ασθενείς με στεφανιαία νόσο, βαλβιδοπάθεια ή πάθηση της αορτής που υποβλήθηκαν σε εγχείρηση ανοικτής καρδιάς στο Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο από τον Ιανουάριο του 2011 μέχρι και τον Μάιο 2011. Κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη ήταν ηλικία < 18 έτη, ιστορικό κολπικής μαρμαρυγής, και βαλβιδική πάθηση της καρδιάς που προδιαθέτει σε κολπική μαρμαρυγή (διάμετρος αριστερού κόλπου > 50 mm ή πάθηση της μιτροειδούς βαλβίδας). Αποκλείστηκαν επίσης ασθενείς που η χειρουργική ένδειξη ήταν πάθηση της μιτροειδούς βαλβίδας. Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν ασθενείς που απαιτούσαν παρέμβαση στην μιτροειδή βαλβίδα εφ' όσον η ένδειξη της χειρουργικής επέμβασης ήταν στεφανιαία νόσος. Σε κάθε ασθενή έγινε πλήρης κλινική εξέταση και καταγραφή του ιατρικού ιστορικού που περιελάμβανε και την φαρμακευτική αγωγή. Όλοι οι ασθενείς είχαν μετεγχειρητική ιατρική παρακολούθηση που περιελάμβανε παραμονή στην Μονάδα Εντατικής

Θεραπείας για 24 – 72 ώρες και παρακολούθηση με τηλεμετρία του καρδιακού ρυθμού στη συνέχεια μέχρι την έξοδο του ασθενούς από το νοσοκομείο. Όλοι οι ασθενείς έδωσαν έγγραφη συγκατάθεση και η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Ωνασείου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου.

7.2 ΚΥΡΙΟΙ ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Νεοεμφανιζόμενη κολπική μαρμαρυγή που συνέβη μετά το χειρουργείο ανοικτής καρδιάς και πριν την έξοδο του ασθενούς από το νοσοκομείο ήταν ο κύριος στόχος της μελέτης. Αξιολογήθηκαν τα επεισόδια κολπικής μαρμαρυγής με διάρκεια > 60 λεπτά που αντιμετωπίστηκαν με αντιαρρυθμική φαρμακευτική αγωγή ή ηλεκτρική ανάταξη. Η επιβεβαίωση των επεισοδίων που καταγράφηκαν στην τηλεμετρία έγινε με καταγραφή σε ηλεκτροκαρδιογράφημα 12 απαγωγών.

7.3 ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΟΡΙΣΜΟΙ

Αρτηριακή υπέρταση: Συστολική ή/και διαστολική πίεση υψηλότερη από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια των κατευθυντηρίων οδηγιών της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας⁵² ή λήψη αντιυπερτασικών φαρμάκων κατά την συμμετοχή στη μελέτη.

Σακχαρώδης διαβήτης: Τιμές γλυκόζης αίματος νηστείας ≥ 126 mg/dL ή τιμές δύο ώρες μετά φόρτιση με γλυκόζη από το στόμα ≥ 200 mg/dL, ή θεραπεία με αντιδιαβητικά δισκία ή ινσουλίνη.

Υπερχοληστερολαιμία: Τιμές ολικής χοληστερίνης ορού ≥ 200 mg/dL ή λήψη υπολιπιδαιμικών φαρμάκων.

Κλάσμα εξωθήσεως της αριστερής κοιλίας: Εκτιμήθηκε με την υπερηχοτομογραφία δύο διαστάσεων ή την αριστερή κοιλιογραφία κατά την διάρκεια του καρδιακού καθετηριασμού. Φυσιολογικές τιμές θεωρήθηκαν \geq 55%.

Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια: Τιμές κρεατινίνης ορού > 2.0 mg/dL ή θεραπεία με αιμοκάθαρση σε τεχνητό νεφρό.

7.3 ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

7.3.1 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ DNA

Απ' όλους τους ασθενείς της μελέτης ελήφθησαν 10 ml ολικού αίματος, πριν την πραγματοποίηση της επέμβασης. Η απομόνωση του DNA έγινε με την χρήση του Nucleospin Blood Kit της εταιρείας MACHEREY-NAGEL ακολουθώντας τυποποιημένες τεχνικές⁵³. Ποσότητα 200μl ηπαρισμένου αίματος τοποθετήθηκε στον δοκιμαστικό σωλήνα μαζί με 25μl Πρωτεϊνάσης K (Proteinase K) και 200 μl Buffer. Μετά από φυγοκέντρηση, το μείγμα παρέμεινε για επώαση 10-15 λεπτά. Στην συνέχεια 200 μl αιθυλικής αλκοόλης 96-100% προστέθηκαν στο αρχικό διάλυμα και το μείγμα μεταφέρθηκε σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες για νέα φυγοκέντρηση. Το μείγμα φυγοκεντρήθηκε στα 11.000 xg για 1 λεπτό και στην συνέχεια προστέθηκαν 350 μl διαλύματος Buffer BQ2 και πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση στα 11.000 xg για 3 λεπτά. Μετά την προσθήκη 200μl Buffer BQ2 το διάλυμα φυγοκεντρήθηκε στα 11.000 xg για 1 λεπτό. Τέλος 50 μl του διαλύματος Buffer BE προθερμασμένου στους 70°C προστέθηκαν και το διάλυμα επαναφυγοκεντρήθηκε στα 11.000 xg για 1 λεπτό. Η ποσότητα του DNA στο τελικό διάλυμα προσδιορίστηκε με την χρήση UV

φωτομέτρησης και την αξιολόγηση της απορρόφησης του δείγματος στα 260 nm και τον λόγο απορρόφησης 260/280 nm αντίστοιχα.

7.3.2 ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) χρησιμοποιήθηκε για την απομόνωση του κλάσματος μεγέθους 508 ζ.β (ζεύγη βάσεων) του γονιδίου KCNE1 γύρω από τον πολυμορφισμό 112 G>A και άλλους 6 προηγούμενως περιγεγραμμένους πολυμορφισμούς⁵⁴. Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν είχαν τις εξής αλληλουχίες:

KCNE1 F: 5'- CTT TAA GAG GTG TGC CTG GC -3'

KCNE1 R: 5'- AAT GTG ATT AGA AAA TCA GGT TGC -3'

Οι ιδανικές συγκεντρώσεις αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν στην PCR είναι οι εξής :

	Συγκέντρωση
Primer F+R	0.5 μM
Taq Polymerase Aquaprime	0.4 U
Aquaprime Buffer	1 x
DNA	400 ng / 25 μl
H ₂ O	25 QSP

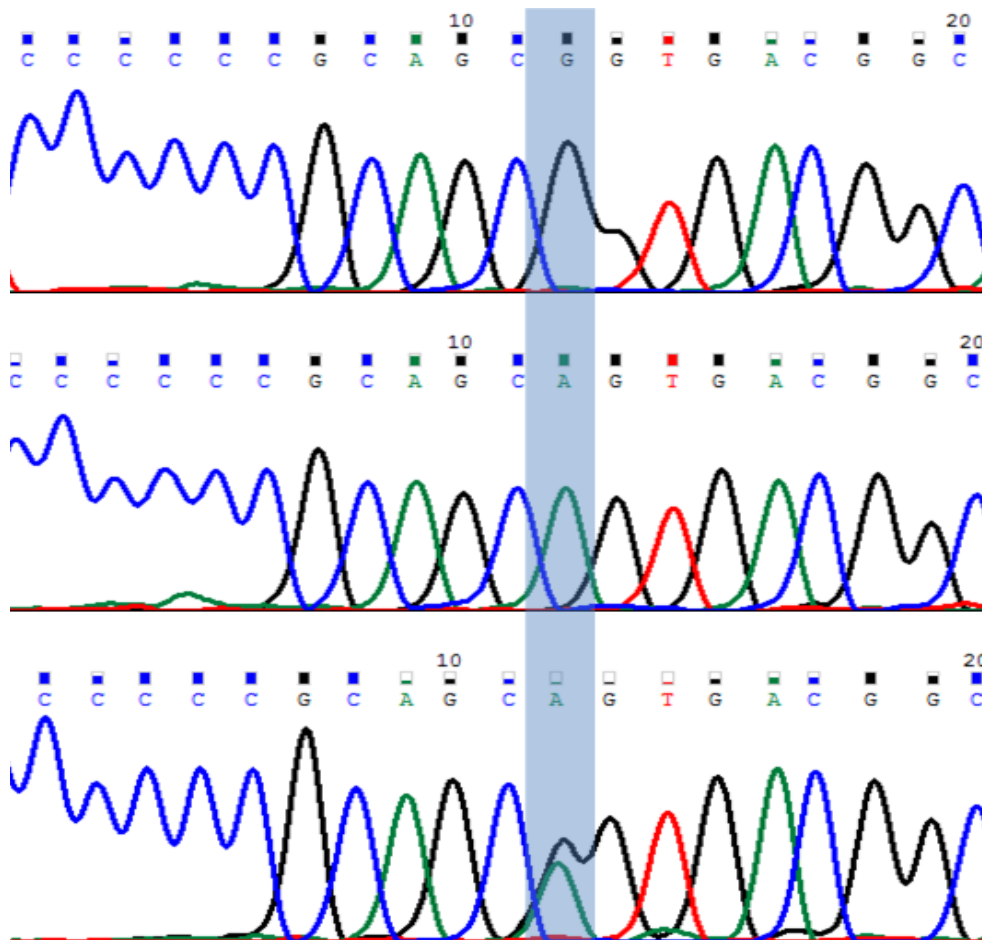
Οι συνθήκες της PCR ήταν οι εξής :

Θερμοκρασία	Διάρκεια
95° C	3 λεπτά
94° C	30 δευτερόλεπτα
53.6° C	20 δευτερόλεπτα
72° C	40 δευτερόλεπτα + 1δευτ /κύκλο
72° C	10 λεπτά
4° C	Απεριόριστα

7.3.3 ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ (Sequencing)

Το 1/3 των δειγμάτων υποβλήθηκε σε χαρτογράφηση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (Sequencing) προκειμένου να ελεγχθεί η ύπαρξη νέων πολυμορφισμών. Τα πρώτα 192 προϊόντα PCR αποστάλθηκαν στα εργαστήρια της GATC Biotech στην Κωνσταντζα της Γερμανίας (GATC Biotech, Konstanz, Germany όπου και υποβλήθηκαν σε Sequencing. Τα παραγόμενα ηλεκτροφορησογραφήματα κατά το Sequencing ανταποκρίνονταν στην επιθυμητή περιοχή πολλαπλασιασμού αποτυπώνοντας τον πολυμορφισμό G112A (Εικόνα 4).

Εικόνα 4. Ηλεκτροφορησογράφημα από το sequencing που αναπαριστά την ακολουθία του πολυμορφισμού G112A (rs1805127) του γονιδίου *KCNE1* (αλλαγή νουκλεοτιδικής βάσης, G112A; αλλαγή αμινοξέως, S38G)



7.3.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΩΝ ΘΡΑΥΜΑΣΤΩΝ (RFLP)

Στους υπόλοιπους 317 ασθενείς η γονιδιακή ανάλυση πραγματοποιήθηκε με την χρήση της ανάλυσης πολυμορφισμού μεγέθους περιοριστικών θραυσμάτων (RFLP). Με βάση τον πολυμορφισμό G112A επιλέχθηκε το ένζυμο BtsI. Κατά την επώαση με το συγκεκριμένο ένζυμο δημιουργούνται 3 τμήματα στην έλικα που έφερε το A αλληλόμορφο, μεγέθους 42 ζ.β., 132 ζ.β. και 334 ζ.β., και 2 τμήματα στην έλικα που έφερε το G αλληλόμορφο, 42 ζ.β. και 466 ζ.β.

BTS I

5' ...GCAGTG NN ... 3'

3' ...CGTCAC NN ... 5'

minK38S

PCR Product

ctttaagaggtgtgccttgggaagtttgagctgcag**gcagtggg**acctaatgccaggatgatcctgtctaa
caccacagcgggtgacgcccttctgaccaagctgtggcaggagacagttcagcagggtggcaacatgtcg
ggcctggcccgcaggtcccccgca**gcagtgac**ggcaagctggaggccctctacgtcctcatggtactgg
gattcttcggcttctcaccctgggcatcatgctgagctacatccgctccaagaagctggagcactcgaacga
cccattcaacgtctacatcgagtccgatgcctggcaagagaaggacaaggcctatgtccaggcccgggtc
ctggagagctacaggtcgtgctatgtcgttgaaaaccatctggccatagaacaaccaacacacaccttcc
tgagacgaagcctccccatgaaccccaccactggctaaaactggacacatcctgcctg**gcaacctgatt**
ttctaatacacatt

Three products: 42bp, 132bp and 334bp

minK38G

PCR Product

ctttaagaggtgtgccttgggaagtttgagctgcag**gcagtggg**acctaatgccaggatgatcctgtctaa
caccacagcgggtgacgcccttctgaccaagctgtggcaggagacagttcagcagggtggcaacatgtcg
ggcctggcccgcaggtcccccgca**gcagtgac**ggcaagctggaggccctctacgtcctcatggtactgg
gattcttcggcttctcaccctgggcatcatgctgagctacatccgctccaagaagctggagcactcgaacga
cccattcaacgtctacatcgagtccgatgcctggcaagagaaggacaaggcctatgtccaggcccgggtc
ctggagagctacaggtcgtgctatgtcgttgaaaaccatctggccatagaacaaccaacacacaccttcc
tgagacgaagcctccccatgaaccccaccactggctaaaactggacacatcctgcctg**gcaacctgatt**
ttctaatacacatt

Δύο προϊόντα: 42bp and 466bp

Συμπέρασμα

minK38GG: Δύο προϊόντα 42bp and 466bp

minK38G/S: τέσσερα προϊόντα 42bp, 132bp, 334bp and 466bp

minK38SS: τρία προϊόντα: 42bp, 132bp and 334bp

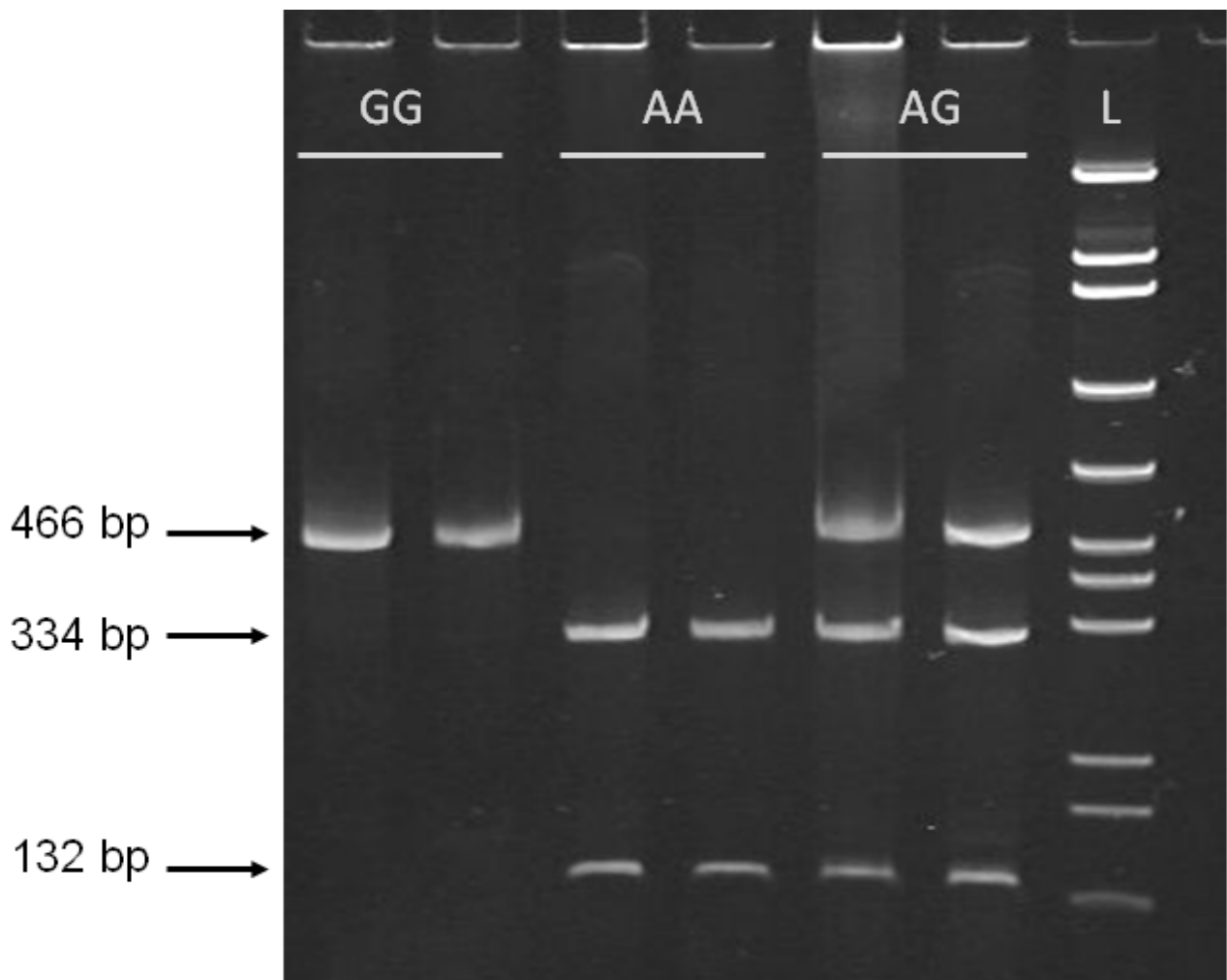
Οι ιδανικές συγκεντρώσεις και συνθήκες που επιλέχθηκαν για την ανάλυση πολυμορφισμού μεγέθους περιοριστικών θραυσμάτων (RFLP) είναι οι εξής:

	Συγκέντρωση
PCR DNA	10 μl
BtsI	10 u
Buffer	10 x
H ₂ O	15 QSP

Θερμοκρασία	Συγκέντρωση
55° C	16 ώρες
4° C	Απεριόριστα

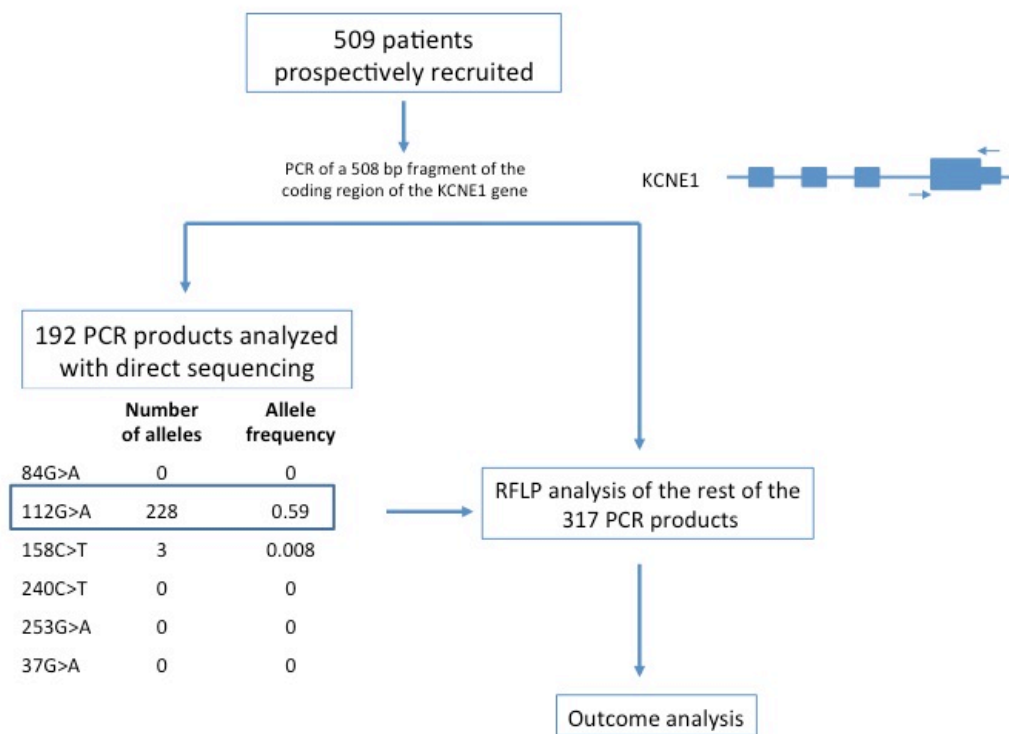
Τα προϊόντα της αντίδρασης ηλεκτροφορήθηκαν σε γέλη (gel) PAGE (8%) και σημάνθηκαν με την χρήση του New Sybr Gold. Ανάλογα με τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης, τα δείγματα DNA κατατάχθηκαν σε ομόζυγα και ετερόζυγα ως προς τον υπό μελέτη πολυμορφισμό (Εικόνα 5).

Εικόνα 5. Ηλεκτροφόρηση προϊόντων ανάλυσης πολυμορφισμού μεγέθους περιοριστικών θραυσμάτων (RFLP)



Από προηγούμενες μελέτες 6 πολυμορφισμοί έχουν ανιχνευθεί στο μήκος 508 ζ.β. κλάσμα του γονιδίου (84G>A, 112G>A, 158C>T, 240C>T, 253G>A, 37G>A).⁵⁴ Δύο από τους πολυμορφισμούς αυτούς προσδιορίστηκαν στην μελέτη μας. Ο συνώνυμος πολυμορφισμός 158C>T εμφάνισε συχνότητα 0.008 στο δείγμα μας. Επομένως, περαιτέρω εκτίμηση με ανάλυση πολυμορφισμού μεγέθους περιοριστικών θραυσμάτων (RFLP) πραγματοποιήθηκε μόνο για τον πολυμορφισμό 112G>A [Εικόνα 6].

Εικόνα 6. Σχεδιασμός της μελέτης και των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση των αποτελεσμάτων. Απεικονίζεται επίσης σχηματικά η δομή του γονιδίου KCNE1. Οι λεπτές γραμμές αντιπροσωπεύουν τα εσώνια, ενώ οι κύβοι απεικονίζουν τα εξώνια.



8. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η μέση τιμή και η σταθερή αποκλίση υπολογίσθηκαν για τις συνεχείς μεταβλητές και η συχνότητα και τα ποσοστά (%) για τις ποιοτικές. Η στατιστική ανάλυση των συνεχών μεταβλητών έγινε με την χρήση της ανάλυση διασποράς μιας κατεύθυνσης ή την χρήση του t-test για ανεξάρτητες μεταβλητές, ενώ για τις ποιοτικές μεταβλητές χρησιμοποιήθηκε το χ^2 test ή το Fisher exact test. Παράλληλα, για τον υπολογισμό της απόκλισης στην συγκέντρωση των γονοτύπων από τις προβλεπόμενες από την ισορροπία Hardy-Weinberg συχνότητες, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία χ^2 . Η κλιμακωτή δυαδική λογιστική παλινδρόμηση (stepwise binary logistic regression) χρησιμοποιήθηκε για να αναγνωρίσει τις ανεξάρτητες μεταβλητές που προδιέθεταν στο τελικό αποτέλεσμα. Για τον υπολογισμό της επίδρασης του πολυμορφισμού 112G>A του γονιδίου KCNE1 στην εμφάνιση μετεγχειρητικής κοιλιακής μαρμαρυγής εφαρμόστηκε η δυαδική λογιστική παλινδρόμηση με την χρήση τριών μοντέλων, επικρατές, υπολειπόμενο και αθροιστικό.

Υποθέτοντας ότι η συχνότητα εμφάνισης επεισοδίων μετεγχειρητικής κοιλιακής μαρμαρυγής στην ομάδα με το υπολειπόμενο αλληλόμορφο είναι 30% και η συχνότητα του υπολειπόμενου αλληλόμορφου, στο συγκεκριμένο πληθυσμιακό δείγμα, είναι 0.45, η παρούσα μελέτη θα μπορέσει να ανιχνεύσει αναλογία πιθανοτήτων (Odds Ratio) για εμφάνιση επεισοδίου 0.52 ή 1.78 στο υπολειπόμενο αλληλόμορφο ως προς το επικρατές, με δύναμη (power) 0.8. Το λάθος τύπου I (Type I error) για την μελέτη αυτή, ότι δηλαδή η αναλογία πιθανοτήτων ισούται με 1, είναι 0.05. Τιμές $p < 0.05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πακέτο

SPSS έκδοση 17.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL) και το στατιστικό πακέτο R (www.r-project.org).

ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η οικονομική υποστήριξη της μελέτης έγινε από ερευνητικά κονδύλια της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης.

9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

9.1 ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Από το σύνολο των 509 ασθενών (85% άνδρες, μέση ηλικία 65 ± 10 έτη) που συμμετείχαν στην μελέτη, 203 (40%) εμφάνισαν τουλάχιστον ένα επεισόδιο κολπικής μαρμαρυγής μετά την επέμβαση ανοικτής καρδιάς. Τα κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών απεικονίζονται στον Πίνακα 3. Από την μονοπαραγοντική ανάλυση οι κλινικοί παράγοντες που συνδυάζονταν με την εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής ήταν η ηλικία και ο τύπος της εγχείρησης (αντικατάσταση αορτικής βαλβίδας και χρησιμοποίηση ενός αρτηριακού μοσχεύματος).

Πίνακας 3. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης

		Χωρίς κοιλιακή μαρμαρυγή (n=306)	Με κοιλιακή μαρμαρυγή (n=203)	Τιμή p
Ηλικία (μέση τιμή ± ΣΑ)		64 (9)	68 (10)	<0.0001
Ηλικία	<65	153 (50)	68 (33.5)	<0.0001
	65-75	103 (33.7)	82 (40.4)	0.133
	>75	50 (16.3)	53 (26.1)	0.009
Γυναίκες		42 (13.7)	34 (16.7)	0.375
Παράγοντες κινδύνου				
Υπέρταση		180 (88.7)	259 (84.6)	0.237
Διαβήτης		99 (32.4)	79 (38.9)	0.130
Υπερλιπιδαιμία		267 (87.3)	172 (84.7)	0.433
Κάπνισμα		88 (43.3)	165 (46.1)	0.585
Ιστορικό στεφανιαίας νόσου		131 (42.8)	79 (38.9)	0.409
Ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου		107 (35)	73 (36)	0.850
Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια		9 (2.9)	9 (4.4)	0.463
Κλάσμα εξωθήσεως (μέση τιμή ± ΣΑ)		52.4 (7.8)	51.5 (8)	0.228
Κλάσμα εξωθήσεως	<35	2 (0.7)	2 (1)	0.653
	35-44	44 (14.4)	33 (16.3)	0.614
	45-54	84 (27.5)	69 (34)	0.139
	>55	176 (57.5)	99 (48.8)	0.06
Τύπος χειρουργικής επέμβασης				
CABG (μονήρης)		255 (83.3)	159 (78.3)	0.165
CABG και αντιμετώπιση βαλβίδας / αορτής		23 (7.5)	20 (9.8)	0.416
Αντιμετώπιση βαλβίδας/ αορτής (μονήρης)		28 (9.2)	24 (11.8)	0.371
Χωρίς εξωσωματική κυκλοφορία		20 (6.5)	8 (3.9)	0.238
Αριθμός μοσχευμάτων	1	32 (10.5)	18 (8.9)	0.649
	2	104 (34)	66 (32.5)	0.774
	>2	142 (46.4)	95 (46.8)	1.000
Αριθμός αρτηριακών μοσχευμάτων	0	37 (12.1)	31 (15.3)	0.184
	1	177 (57.8)	130 (64)	0.167
	>1	92 (30.1)	42 (20.7)	0.024
Επιδιόρθωση βαλβιδοπάθειας		36 (11.8)	41 (20.2)	0.011

Αντικατάσταση αορτικής βαλβίδας	32 (10.5)	40 (19.7)	0.004
Αντικατάσταση/επιδιόρθωση μιτροειδούς βαλβίδας	6 (2)	3 (1.5)	1.000
Ανεύρυσμα ανιούσης αορτής	24 (7.8)	15 (7.4)	1.000
Διάρκεια εξωσωματικής κυκλοφορίας (μέση τιμή ± ΣΑ)	103 (44)	108 (37)	0.263
Διάρκεια σύγκλεισης της αορτής (μέση τιμή ± ΣΑ)	74 (38)	76 (33)	0.247
Περιεγχειρητική φαρμακευτική θεραπεία			
β- Αδρενεργικοί αποκλειστές προεγχειρητικά	230 (75.2)	154 (75.9)	0.916
Στατίνες προεγχειρητικά	257 (84)	156 (76.8)	0.049
ΑΜΕΑ προεγχειρητικά	205 (67)	144 (70.9)	0.381
Αμιοδαρόνη προεγχειρητικά	-	-	-
β- Αδρενεργικοί αποκλειστές μετεγχειρητικά	270 (88.2)	169 (83.3)	0.116
Στατίνες μετεγχειρητικά	224 (73.2)	143 (70.4)	0.545
ΑΜΕΑ μετεγχειρητικά	104 (34)	59 (29.1)	0.286
Αμιοδαρόνη μετεγχειρητικά §	25 (8.2)	166 (81.8)	<0.001
β- Αδρενεργικοί Αποκλειστές (διακοπή)	18 (5.9)	19 (9.4)	0.163
Στατίνες διακοπή	49 (16)	28 (13.8)	0.529
ΑΜΕΑ διακοπή	128 (41.8)	98 (48.3)	0.172
ΜΚΜ δείκτης κινδύνου ⁶² (μέση τιμή ± ΣΑ)	17 (11)	21 (12)	<0.001

Οι τιμές εκφράζουν αριθμούς ή ασθενείς (σε ποσοστά %) εκτός αν ορίζεται διαφορετικά. Οι στατιστικές συγκρίσεις έγιναν με τις δοκιμασίες χ^2 / Fischer's exact test για ποιοτικές μεταβλητές, ή την δοκιμασία t-test για συνεχείς μεταβλητές. § Η αμιοδαρόνη χορηγήθηκε μετεγχειρητικά για την ανάταξη της κοιλιακής μαρμαρυγής. ΣΑ, σταθερή απόκλιση; CABG, αορτοστεφανιαία παράκαμψη; ΑΜΕΑ, αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης; ΜΚΜ, μετεγχειρητική κοιλιακή μαρμαρυγή.

9.2 ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΑ, ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ Η ΙΣΣΟΡΟΠΙΑ

Hardy-Weinberg

Το κλάσμα μήκους 508 ζ.β. της κωδικοποιούσας αλληλουχίας του γονιδίου KCNE1 υποβλήθηκε σε χαρτογράφηση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (Sequencing) όπου και προσδιορίστηκε ένας πολυμορφισμός (112 G>A) με συχνότητα μεγαλύτερη του 0.02. Η συχνότητα των υπόλοιπων 5 πολυμορφισμών που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα των 192 ασθενών που υποβλήθηκαν σε Sequencing ήταν μικρότερη του 0.02 και δεν συμπεριλήφθηκαν στην περαιτέρω ανάλυση. Η συχνότητα των γονότυπων και των αλληλόμορφων στους ασθενείς της μελέτης παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. Οι συχνότητες των αλληλόμορφων που παρατηρήθηκαν στους ασθενείς της μελέτης ήταν σε συμφωνία με τις αναμενόμενες συχνότητες από την ισορροπία Hardy-Weinberg στον γενικό πληθυσμό. (Πίνακας 5).

Πίνακας 4. Συχνότητες γονότυπων και αλληλόμορφων στον πληθυσμό της μελέτης

Γονότυπος	Σύνολο ασθενών	Ασθενείς χωρίς κολπική μαρμαρυγή	Ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή	Τιμές P*
GG	164 (32.2)	88 (28.8)	76 (37.4)	0.042
AG	265 (52.1)	162 (52.9)	103 (50.7)	0.651
AA	80 (15.7)	56 (18.3)	24 (11.8)	0.062
Συχνότητα G αλληλομορφίας	0.583	0.552	0.628	0.016
Σύνολο	509	306 (60.1)	203 (39.9)	

* : Στατιστική σημαντικότητα με βάση τις δοκιμασίες χ^2 ή Fisher's exact test

Πίνακας 5. Παρατηρηθείσες και αναμενόμενες γονοτυπικές συχνότητες σύμφωνα με την ισορροπία Hardy-Weinberg.

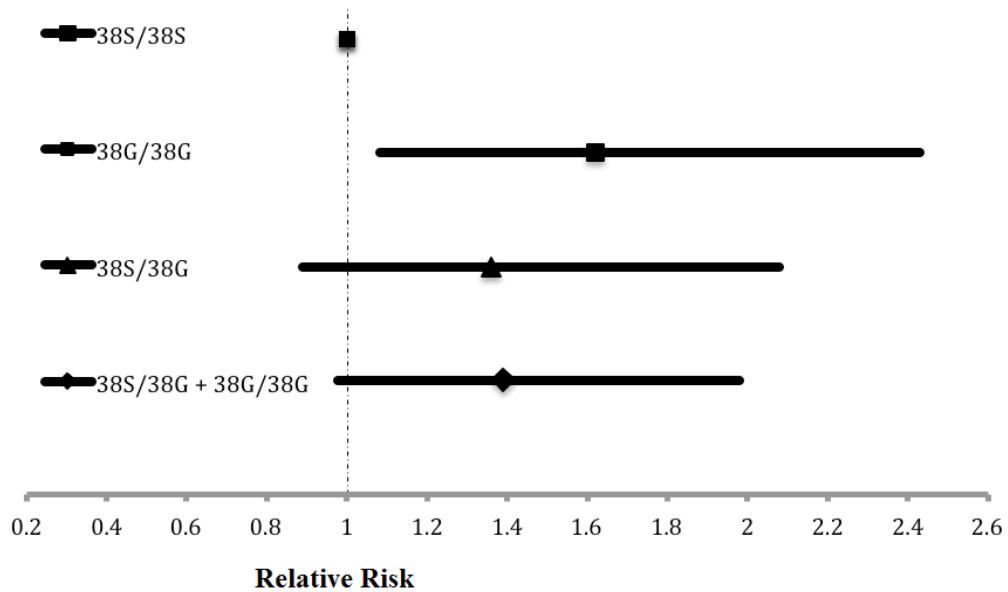
	Παρατηρηθείσα			Αναμενόμενη			χ^2	p
	GG	AG	AA	GG	AG	AA		
Σύνολο ασθενών	164	265	80	172.72	247.57	88.72	2.52	0.11
Με κολπική μαρμαρυγή	76	103	24	80.08	94.84	28.08	1.5	0.22
Χωρίς κολπική μαρμαρυγή	88	162	56	93.34	151.33	61.34	1.52	0.22

9.3 Ο ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ 112G>A ΚΑΙ Η ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗΣ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης παρατηρήθηκε υψηλότερη συχνότητα του αλληλόμορφου G στην ομάδα των ασθενών που εμφάνισαν μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή σε σχέση με τους ασθενείς που δεν εμφάνισαν την αρρυθμία αυτή (0.628 έναντι 0.552 αντίστοιχα, $P = 0.016$). Επιπλέον, ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής αυξανόταν όσο αυξανόταν ο αριθμός των αντίγραφων του αλληλόμορφου G από 1.36 (95% διαστήματα αξιοπιστίας [CI] 0.89-2.08) για τους ετεροζυγώτες σε 1.62 (95% διαστήματα αξιοπιστίας [CI] 1.08-2.43) για τους ομοζυγώτες του αλληλόμορφου G ($P = 0.04$) (Εικόνα 7). Η περαιτέρω πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι οι ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες για την εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής είναι το μειωμένο κλάσμα εξώθησης, η ηλικία, ο τύπος της επέμβασης (αντικατάσταση της αορτικής βαλβίδας), και ο γονότυπος 112G>A εκτιμώμενος ως προς το επικρατές μοντέλο (GG or AG vs. AA), και ως προς την αθροιστική δράση (κίνδυνος εμφάνισης της αρρυθμίας ανάλογα με τον αριθμό των αντιγράφων των αλληλόμορφων G) (Πίνακας 6). Το μοντέλο που περιελάμβανε αυτούς τους 4 παράγοντες (ηλικία, γονότυπος, αντικατάσταση αορτικής βαλβίδας, μειωμένο κλάσμα εξωθήσεως της αριστερής κοιλίας) θα μπορούσε να εξηγήσει το 10% της μεταβολής στα δυαδικά αποτελέσματα (binary outcome). Τέλος, αναπτύχθηκαν και μελετήθηκαν δύο μοντέλα που περιελάμβαναν κλινικούς παράγοντες και κλινικούς και γονοτυπικούς παράγοντες. Η σύγκριση αυτών των μοντέλων παρουσιάζεται στον Πίνακα 7. Δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού 112G>A και δημογραφικών ή κλινικών

παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου την βαρύτητα της στεφανιαίας νόσου και την δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας.

Εικόνα 7. Σχετικός κίνδυνος για κολπική μαρμαρυγή. Οι λόγοι υπολογίσθηκαν με σύγκριση ως προς τους ασθενείς με γονότυπο minK 38S/38S genotype. Οι ράβδοι αναπαριστούν τα 95% διαστήματα αξιοπιστίας.



Πίνακας 6. Κλινικοί και γενετικοί παράγοντες που συσχετίζονται με την εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής στην πολυπαραγοντική ανάλυση

Υπολοιπόμενο Μοντέλο	Odds ratio	95% CI		P
		Μικρότερη	Υψηλότερη	
Γονότυπος				
GG	1.477	0.978	2.233	0.064
Ηλικία (έτη)	1.041	1.041	1.062	<0.001
Αντικατάσταση αορτικής βαλβίδας	1.880	1.105	3.195	0.020
Μειωμένο κλάσμα εξωθήσεως*	1.605	1.093	2.353	0.016
Επικρατές Μοντέλο				
Επικρατές Μοντέλο	Odds ratio	95% CI		P
		Μικρότερη	Υψηλότερη	
Γονότυπος				
GG ή AG	1.751	1.007	3.045	0.047
Ηλικία (έτη)	1.042	1.021	1.063	<0.001
Αντικατάσταση αορτικής βαλβίδας	1.845	1.082	3.144	0.024
Μειωμένο κλάσμα εξωθήσεως*	1.600	1.088	2.353	0.017
Αθροιστικό Μοντέλο				
Αθροιστικό Μοντέλο	Odds ratio	95% CI		P
		Μικρότερη	Υψηλότερη	
Γονότυπος				
Αριθμός αντίγραφων G αλληλόμορφου	1.401	1.052	1.865	0.021
Ηλικία (έτη)	1.043	1.022	1.064	<0.001
Αντικατάσταση αορτικής βαλβίδας	1.869	1.094	3.194	0.022
Μειωμένο κλάσμα εξωθήσεως*	1.585	1.076	2.331	0.020

Odds Ratio: αναλογία πιθανοτήτων; CI: διαστήματα αξιοπιστίας; * : προσδιορίζεται ως κλάσμα εξωθήσεως < 55%. Οι μεταβλητές που αξιολογήθηκαν στην ανάλυση ήταν : ηλικία, φύλο, σακχαρώδης διαβήτης, αρτηριακή υπέρταση, κάπνισμα, υπερλιπιδαιμία, οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, τύπος εγχειρητικής παρέμβασης, και αριθμός αρτηριακών μοσχευμάτων

Πίνακας 7. Σύγκριση των προγνωστικών μοντέλων με και χωρίς γονιδιακά δεδομένα

	Κλινικό μοντέλο ¹	Κλινικό/γονιδιακό μοντέλο ¹
-Log likelihood	655.9	649.5
HL chi square (df)	2.111 (8)	7.596 (8)
Nagelkerke's R ²	0.074	0.090
Area Under the Curve (AUC)	0.638 (0.590-0.687)	0.655 (0.606-0.703)

1: το κλινικό μοντέλο περιλαμβάνει την ηλικία, το μειωμένο κλάσμα εξωθήσεως, και την αντικατάσταση της αορτικής βαλβίδας. Το κλινικό/γονιδιακό μοντέλο περιλαμβάνει τους προηγούμενους κλινικούς παράγοντες και τον αριθμό αντιγράφων του αλληλόμορφου G. *HL*, Hosmer and Lemeshow; *df*, βαθμοί ελευθερίας

10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που διερεύνησε τον πολυμορφισμό του γονιδίου KCNE 1 στην εμφάνιση της κολπικής μαρμαρυγής μετά από επέμβαση ανοικτής καρδιάς. Τα ευρήματα από την μελέτη μας έδειξαν μια συσχέτιση ανάμεσα στον αριθμό των αλληλόμορφων G και στον κίνδυνο εμφάνισης μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Οι ασθενείς με δύο αλληλόμορφα G έχουν περίπου 60% υψηλότερο κίνδυνο μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής συγκρινόμενοι με τους ασθενείς με δύο αλληλόμορφα A. Επιπλέον η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι το αποτέλεσμα αυτό ήταν ανεξάρτητο από σχετιζόμενους με τον ασθενή ή την χειρουργική επέμβαση παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των φαρμάκων που χορηγήθηκαν περιεγχειρητικά (β-αδρενεργικοί αποκλειστές, αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου, στατίνες), καθώς και τον τύπο της εγχειρητικής παρέμβασης. Τα ευρήματα μας είναι σε συμφωνία με προηγούμενες επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης που

έδειξαν μια συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού 112G>A και της εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής στον γενικό πληθυσμό^{55,56}, και λειτουργικών μελετών που έδειξαν μια σημαντική επίπτωση του πολυμορφισμού 112G>A στην ρύθμιση του ρεύματος Iks⁵¹.

Κολπικές αρρυθμίες και ειδικότερα κολπική μαρμαρυγή παρατηρούνται συχνά μετά από χειρουργικές επεμβάσεις^{57,58}. Η συχνότητα κολπικής μαρμαρυγής μετά από καρδιακές εγχειρήσεις κυμαίνεται από 5% μέχρι 60%^{57,58}. Σε μικρότερο ποσοστό εμφανίζονται μετά από μη καρδιακές επεμβάσεις και κυμαίνονται από 0.3% μέχρι 29%^{57,59}. Αυτή η διακύμανση στην συχνότητα αντανακλά διαφορές στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών, στις τεχνικές παρακολούθησης του καρδιακού ρυθμού και στα διαφορετικά κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την διάγνωση της αρρυθμίας. Η μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή συνοδεύεται από αυξημένη θνητότητα και νοσηρότητα, παρατείνει την νοσηλεία του ασθενή και αυξάνει το κόστος νοσηλείας^{60,61}.

Η επιδημιολογία, οι κλινικές επιπτώσεις και οι προληπτικές θεραπείες των κολπικών αρρυθμιών μετά από χειρουργικές επεμβάσεις έχουν αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες. Παρά ταύτα, ο ακριβής παθοφυσιολογικός μηχανισμός έναρξης και διατήρησης των αρρυθμιών αυτών δεν είναι πλήρως κατανοητός^{60,61}. Οι αιτίες που ορισμένοι ασθενείς εμφανίζουν μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Έχουν ενοχοποιηθεί παράγοντες όπως η φλεγμονή, το οξειδωτικό stress, και η συμπαθητική διέγερση⁵⁷. Διάφοροι παράγοντες κλινικοί και γενετικοί φαίνεται ότι εμπλέκονται στην εμφάνιση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Ειδικότερα ορισμένοι από τους πιο σημαντικούς κλινικούς παράγοντες για εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής (ηλικία, παθήσεις του καρδιακού μυός ή

των καρδιακών βαλβίδων) προδιαθέτουν στην εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής στον γενικό πληθυσμό^{61,62-64}. Στη μελέτη μας όπως και στις περισσότερες προηγούμενες μελέτες η ηλικία, ο τύπος της εγχειρητικής παρέμβασης (αντικατάσταση αορτικής βαλβίδας), και η μειωμένη συστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες εμφάνισης μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής⁶²⁻⁶⁴.

Η μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή είναι η πιο συχνή επιπλοκή μετά από επεμβάσεις ανοικτής καρδιάς και ένα ιδανικό μοντέλο για την εκτίμηση της γενετικής προδιάθεσης της κολπικής μαρμαρυγής^{57,58}. Μας παρέχει την δυνατότητα για προοπτική καταγραφή ενός πληθυσμού ασθενών χωρίς κολπική μαρμαρυγή που ενδεχόμενα να εμφανίσουν αυτή την αρρυθμία κάτω από διάφορες κλινικές καταστάσεις. Η αναγνώριση οικογενειών με κολπική μαρμαρυγή και η χαρτογράφηση ευδιάκριτων γενετικών τόπων στις οικογένειες αυτές δημιουργεί την υπόθεση για την γενετική προδιάθεση στην εμφάνιση της κολπικής μαρμαρυγής⁶⁵. Σε μελέτες ανάλυσης του γονιδιώματος έχουν προσδιοριστεί γενετικές περιοχές που συνδέονται με την εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής. Ανάμεσα σ' αυτές οι περιοχές 4q25, 16q22, and 1q21 έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον⁶⁶⁻⁷⁰, και παρέχουν πειστικές ενδείξεις ότι κληρονομικές γενετικές διαταραχές δυνητικά προδιαθέτουν στην εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής *per se* ή ως μέρος άλλων αρρυθμογόνων ή και μυοκαρδιοπαθικών συνδρόμων. Συνεπώς η εμφάνιση της κολπικής μαρμαρυγής φαίνεται να είναι το αποτέλεσμα μιας σύμπλοκης αλληλεπίδρασης μεταξύ γονιδιακών και περιβαντολογικών παραγόντων^{65,71-73}.

Η γενετική μεταβλητότητα του γονιδίου KCNE1 έχει σε προηγούμενες μελέτες συσχετιστεί με την εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής^{55,56}. Το γονίδιο KCNE1

κωδικοποιεί την β-υπομονάδα των καρδιακών Iks καναλιών και η έκφραση του στον κολπικό ιστό έχει επιβεβαιωθεί τόσο στο επίπεδο του mRNA όσο και σε πρωτεϊνικό επίπεδο⁵⁶. Η αντικατάσταση της αδενίνης με γουανίνη στην θέση 112 του γονιδίου KCNE1 38G, που οδηγεί σε αντικατάσταση της γλυκίνης σε σερίνη στη θέση 38 της παραγόμενης πρωτεΐνης συνοδεύεται από υψηλότερο κίνδυνο κολπικής μαρμαρυγής σε διάφορους πληθυσμούς^{55,56}. Τα καρδιακά Iks κανάλια μπορούν να ρυθμίζουν την διάρκεια του δυναμικού ενέργειας και των ιδιοτήτων ηρεμίας του κολπικού ιστού ως μέρος της συνεισφοράς τους στα βραδέως ενεργοποίησης ρεύματα καλίου. Μέχρι σήμερα ο λειτουργικός ρόλος του γονιδίου KCNE1 στην εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής δεν έχει αποσαφηνιστεί. Οι Ehrlich και συν⁵¹ έδειξαν ότι το αλληλόμορφο KCNE1 38G συνοδεύεται από μειωμένο Iks ρεύμα και αυξημένη διάρκεια του δυναμικού ενέργειας, αποτέλεσμα πιθανώς της μειωμένης έκφρασης των διαύλων Iks στην κυτταρική μεμβράνη. Επίπλέον, οι Heerd και συν⁵³ έδειξαν ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της μειωμένης κολπικής έκφρασης του KCNE1 και της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής στους χοίρους Sinclair.

Η μελέτη αυτή είναι μια προοπτική μελέτη με ικανό αριθμό ασθενών και είχε σαν στόχο να προσδιορίσει τις κλινικά σχετιζόμενες φαινοτυπικές-γονοτυπικές συσχετίσεις λαμβάνοντας υπόψιν όλες τις πιθανές κλινικές και δημογραφικές παραμέτρους. Με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα από ηλεκτροφυσιολογικές και γενετικές επιδημιολογικές μελέτες ο πολυμορφισμός 112G>A του γονιδίου KCNE1 επιλέχθηκε για να διερευνηθεί ο ρόλος του στην παθοφυσιολογία της κολπικής μαρμαρυγής. Με την χρήση της χαρτογράφησης της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (Sequencing) σε ένα μεγάλο τμήμα της κωδικοποιούσας αλληλουχίας επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη ενός πολυμορφισμού (112G>A) με

κλινικά σημαντική συχνότητα έκφρασης, σε συμφωνία με τα ευρήματα προηγούμενων μελετών⁵⁴. Το παθοφυσιολογικό υπόστρωμα αυτής της συσχέτισης δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένο. Ο ρόλος του γονιδίου KCNE1 δεν έχει πλήρως προσδιοριστεί και οι λειτουργικές επιπτώσεις του πολυμορφισμού S38G δεν είναι πλήρως κατανοητές. Είναι πιθανό η παράταση της διάρκειας του δυναμικού ενέργειας που συνοδεύεται από μείωση του ρεύματος I_{Ks} να παρέχει ένα υπόστρωμα για την ανάπτυξη κολπικών αρρυθμιών που γίνονται κλινικά έκδηλες σε παρουσία φλεγμονής, χημικών, μηχανικών ή ηλεκτρικών ερεθισμών. Παρά ταύτα ο ακριβής μηχανισμός που συνδέει την γενετική αλλαγή με την κλινική έκβαση και την ευαισθησία για εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής μένει να διερευνηθεί.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη προέρχεται από ένα μόνο κέντρο και αφορά λευκούς ασθενείς από την Νότιο Ευρώπη χωρίς εξωτερική επιβεβαίωση. Συνεπώς τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την μελέτη αυτή δεν μπορούν να επεκταθούν σε άλλες εθνικές πληθυσμιακές ομάδες. Παρά το γεγονός ότι στον πληθυσμό που μελετήσαμε ο γονότυπος S38G φαίνεται να συμβάλλει στην προγνωστική συνεισφορά των κλινικών δεδομένων σαφή συμπεράσματα δεν μπορούν να εξαχθούν χωρίς εξωτερική επιβεβαίωση. Παρά ταύτα τα ευρήματα μας είναι σε συμφωνία με προηγούμενες επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης και λειτουργικές μελέτες^{51,55,56}. Επιπλέον, έγινε κάθε προσπάθεια να εξαιρεθούν από την μελέτη μας ασθενείς με ιστορικό κολπικής μαρμαρυγής. Με δεδομένο ότι η διάρκεια της παρακολούθησης των ασθενών για εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής ήταν μέχρι της έξοδο του ασθενούς από το

νοσοκομείο δεν μπορούμε να αποκλείσουμε την εμφάνιση αρρυθμικών επεισοδίων μετά την έξοδο τους από το νοσοκομείο. Θα μπορούσαν επίσης να έχουν παίξει ρόλο στην εμφάνιση της κοιλιακής μαρμαρυγής και άλλοι παράγοντες που δεν εκτιμήθηκαν στη μελέτη αυτή όπως η φλεγμονή και το οξειδωτικό stress. Τέλος τα ευρήματα αυτής της μελέτης που αναφέρονται στη συσχέτιση γονιδιακών-φαινοτυπικών αλληλεπιδράσεων και στην εμφάνιση κοιλιακής μαρμαρυγής μετά από επεμβάσεις ανοικτής καρδιάς δεν θα μπορούσαν να επεκταθούν στον γενικό πληθυσμό.

12. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη αυτή επιβεβαιώσαμε τη συσχέτιση του πολυμορφισμού 112G>A του γονιδίου KCNE1 και της μετεγχειρητικής κοιλιακής μαρμαρυγής σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε επέμβαση ανοικτής καρδιάς. Επιπλέον δείξαμε ότι παράγοντες που σχετίζονται με τον ασθενή (ηλικία, μειωμένο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας), τον τύπο της χειρουργικής επέμβασης (αντικατάσταση της αορτικής βαλβίδας) και τον γονότυπο 112G>A προδιαθέτουν στην εμφάνιση της μετεγχειρητικής κοιλιακής μαρμαρυγής. Μεγάλες προοπτικές πολυκεντρικές μελέτες θα χρειαστούν για να ενισχύσουν τα ευρήματα αυτής της μελέτης και να καθορίσουν δυνητικές κλινικές εφαρμογές αυτής της συσχέτισης.

13. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Psaty BM, Manolio TA, Kuller LH, Kronmal RA, Cushman M, Fried LP, et al. Incidence of and risk factors for atrial fibrillation in older adults. *Circulation* 1997;96:2455–61.
2. Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, McNamara PM. Epidemiologic features of chronic atrial fibrillation: the Framingham Study. *N Engl J Med*. 1982;306:1018–22
3. Magnani JW, Rienstra M, Lin H, Sinner MF, Lubitz SA, McManus DD, et al. Atrial Fibrillation: Current knowledge and future directions in epidemiology and genomics. *Circulation* 2011;124:1982–93
4. Molina L, Mont L, Marrugat J, Berruezo A, Brugada J, Bruguera J, et al. Longdistance endurance sport practice increases the incidence of lone atrial fibrillation in men. *Europace* 2008;10:618–23.
5. Kodama S, Saito K, Tanaka S, Horikawa C, Saito A, Heianza Y, et al. Alcohol consumption and risk of atrial fibrillation: a metaanalysis. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:427–36
6. Tsang TSM, Gersh BJ, Appleton CP, Tajik AJ, Barnes ME, Bailey KR, et al. Left ventricular diastolic dysfunction as a predictor of the first diagnosed nonvalvular atrial fibrillation in 840 elderly men and women. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:1636–44
7. Guo Y, Lip GYH, Apostolakis S. Inflammation in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60:2263–70.
8. Conen D, Ridker PM, Everett BM, Tedrow UB, Rose L, Cook NR, et al. A multimarker approach to assess the influence of inflammation on the incidence of atrial fibrillation in women. *Eur Heart J*. 2010;31:1730–6.

9. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med.* 1998;339:659–66.
10. Nattel S, Burstein B, Dobrev D. Atrial remodeling and atrial fibrillation: mechanisms and implications. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2008;1:62–73
11. Gage BF, Waterman AD, Shannon W, Boechler M, Rich MW, Radford MJ. Validation of clinical classification schemes for predicting stroke: results from the National Registry of atrial fibrillation. *JAMA* 2001; 285 :2864–70.
12. Lip GYH, Nieuwlaat R, Pisters R, Lane DA, Crijns HJGM. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor approach: the Euro heart survey on atrial fibrillation. *Chest* 2010;137:263–72
13. Healey JS, Connolly SJ, Gold MR, Israel CW, van Gelder IC, Capucci A, et al. for the ASSERT Investigators Subclinical atrial fibrillation and the risk of stroke. *N Engl J Med.* 2012;366:120–9.
14. Ott A, Breteler MMB, de Bruyne MC, van Harskamp F, Grobbee DE, Hofman A. Atrial fibrillation and dementia in a populationbased study: The Rotterdam Study. *Stroke* 1997;28:316–21.
15. Vermeer SE, Prins ND, den Heijer TD, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM. Silent brain infarcts and the risk of dementia and cognitive decline. *N Engl J Med.* 2003;348:1215–22

16. Udompanich S, Lip GYH, Apostolakis S, Lane DA. Atrial fibrillation as a risk factor for cognitive impairment: a semisystematic review. *Quart J Med.* 2013;106:795–802
17. Guidelines for the management of atrial fibrillation—the task force for the management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) *Eur Heart J.* 2010;31:2369–429
18. Manning WJ, Silverman DI, Gordon SPF, Krumholz HM, Douglas PS. Cardioversion from atrial fibrillation without prolonged anticoagulation with use of transesophageal echocardiography to exclude the presence of atrial thrombi. *N Engl J Med.* 1993;328:750–5.
19. Black IW, Fatkin D, Sagar KB, Khandheria BK, Leung DY, Galloway JM, et al. Exclusion of atrial thrombus by transesophageal echocardiography does not preclude embolism after cardioversion of atrial fibrillation. A multicenter trial. *Circulation* 1994;89:2509–13
20. 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. *Europace* 2012;14:1385–413
21. Healey JS, Crystal E, Lamy A, Teoh K, Semelhago L, Hohnloser SH, et al. Left atrial appendage occlusion study (LAAOS): results of a randomized controlled pilot study of left atrial appendage occlusion during coronary bypass surgery in patients at risk for stroke. *Am Heart J.* 2005;150:288–93
22. The Atrial Fibrillation Followup Investigation of Rhythm Management (AFFIRM) Investigators A comparison of rate control and rhythm control in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2002;347:1825–33.

23. Ozcan C, Jahangir A, Friedman PA, Patel PJ, Munger TM, Rea RF, et al. Longterm survival after ablation of the atrioventricular node and implantation of a permanent pacemaker in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2001;344:1043–51.
24. Chatterjee NA, Upadhyay GA, Ellenbogen KA, McAlister FA, Choudhry NK, Singh JP. Atrioventricular nodal ablation in atrial fibrillation: a metaanalysis and systematic review. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:68–76.
25. Calkins H, Kuck KH, Cappato R, Brugada J, Camm AJ, Chen SA, et al. for HRS/EHRA/ECAS Task Force 2012 HRS/EHFA/ECAS expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation: recommendations for patient selection, procedural techniques, patient management and follow up, definitions, endpoints, and research trial design. *Heart Rhythm* 2012;9:632–96.e21.
26. R. Shrivastava, B. Smith, D. Caskey, and P. Reddy. Atrial fibrillation after cardiac surgery: does prophylactic therapy decrease adverse outcomes associated with atrial fibrillation. *Journal of Intensive Care Medicine* 2009;24:18–25.
27. T. Hakala, J. Halonen, K. Mäkinen, and J. Hartikainen. Prevention of atrial fibrillation after cardiac surgery. *Scandinavian Journal of Surgery* 2013;102:178–181.
28. Maisel WH, Rawn JD, Stevenson WG. Atrial fibrillation after cardiac surgery. *Ann Intern Med.* 2001;135:1061–73.
29. B. Aldhoon, V. Melenovský, P. Peichl, and J. Kautzner. New insights into mechanisms of atrial fibrillation. *Physiological Research* 2010;59:1–12.

30. F. Nardi, M. Diena, P. P. Caimmi et al. Relationship between left atrial volume and atrial fibrillation following coronary artery bypass grafting. *Journal of Cardiac Surgery* 2012;27:128–135.
31. D. Kaireviciute, A. D. Blann, B. Balakrishnan et al. Characterisation and validity of inflammatory biomarkers in the prediction of post-operative atrial fibrillation in coronary artery disease patients. *Thrombosis and Haemostasis* 2010;104:122–127.
32. S. F. Aranki, D. P. Shaw, D. H. Adams et al. Predictors of atrial fibrillation after coronary artery surgery: current trends and impact on hospital resources. *Circulation* 1996;94:390–397.
33. J. P. Mathew, M. L. Fontes, I. C. Tudor et al. A multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery. *The Journal of the American Medical Association* 2004;291:1720–1729.
34. L. L. Creswell, J. C. Alexander Jr., T. B. Ferguson Jr., A. Lisbon, and L. A. Fleisher. Intraoperative interventions: American College of Chest Physicians guidelines for the prevention and management of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery. *Chest* 2005;128: supplement, 28S–35S.
35. M. F. El-Chami, P. Kilgo, V. Thourani et al. New-onset atrial fibrillation predicts long-term mortality after coronary artery bypass graft. *J Am Coll of Cardiol.* 2010;55:1370–1376.
36. A. J. Bryan and G. D. Angelini. Pericardial effusion after open heart surgery. *Thorax* 1990;45: 655–656.
37. K. A. Arsenault, A. M. Yusuf, E. Crystal et al. Interventions for preventing post-operative atrial fibrillation in patients undergoing heart surgery. *The*

Cochrane Database of Systematic Reviews, vol. 1, Article ID CD003611, 2013.

38. D. C. Burgess, M. J. Kilborn, and A. C. Keech. Interventions for prevention of post-operative atrial fibrillation and its complications after cardiac surgery: a meta-analysis. *Eur Heart J.* 2006;27:2846–2857.
39. S. Chatterjee, P. Sardar, D. Mukherjee, E. Lichstein, and S. Aika. Timing and route of amiodarone for prevention of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery: a network regression meta-analysis. *Pacing and Clinical Electrophysiology* 2013;36:1017–1023.
40. N. Z. Kerin and S. Jacob. The efficacy of sotalol in preventing postoperative atrial fibrillation: a meta-analysis. *American Journal of Medicine* 2011;124:875.e1–875.e9.
41. O. J. Liakopoulos, E. W. Kuhn, I. Slottosch, G. Wassmer, and T. Wahlers. Preoperative statin therapy for patients undergoing cardiac surgery. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 4, Article ID CD008493, 2012
42. V. Chopra, D. H. Wesorick, J. B. Sussman et al. Effect of perioperative statins on death, myocardial infarction, atrial fibrillation, and length of stay: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Surgery* 2012;147:181–189.
43. W. T. Chen, G. M. Krishnan, N. Sood, J. Kluger, and C. I. Coleman. Effect of statins on atrial fibrillation after cardiac surgery: a duration- and dose-response meta-analysis. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2010;140:364–372.

44. K. M. Ho and J. A. Tan. Benefits and risks of corticosteroid prophylaxis in adult cardiac surgery a dose-response meta-analysis. *Circulation* 2009;119:1853–1866.
45. J. M. Dieleman, A. P. Nierich, P. M. Rosseel, et al. Intraoperative high-dose dexamethasone for cardiac surgery: a randomized controlled trial. *The Journal of the American Medical Association* 2012;308:1761–1767.
46. Fatkin D, Otway R Vandenberg JI. Genes and Atrial Fibrillation: A New Look at an Old Problem *Circulation* 2007; 116; 782-792
47. Wrobel E1, Tapken D, Seeböhm G. The KCNE Tango - How KCNE1 Interacts with Kv7.1. *Front Pharmacol.* 2012 Aug 2;3:142.
48. Ravn LS, Hofman-Bang J, Dixen U, et al. Relation of 97T polymorphism in KCNE5 to risk of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2005; 96: 405– 407
49. Lai LP, Su MJ, Yeh HM et al. Association of the human mink gene 38G allele with atrial fibrillation: evidence of possible genetic control on the pathogenesis of atrial fibrillation. *Am Heart J* 2002;144: 485–490
50. Lai LP, Su MJ, Lin JL, Lin FY, Tsai CH, Chen YS, Tseng YZ, Lien WP, Huang SK. Changes in the mRNA levels of delayed rectifier potassium channels in human atrial fibrillation. *Cardiology* 1999;92:248–255
51. Ehrlich JR, Zicha S, Coutu P, Hebert TE, Nattel S. Atrial fibrillation associated minkK38G/S polymorphism modulates delayed rectifier current and membrane localization. *Cardiovasc Res* 2005; 67: 520 –528.
52. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. The task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension, the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the

management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007;28:1462-536.

53. Tsapaki A, Zaravinos A, Apostolakis S, et al. Genetic variability of the distal promoter of the ST2 gene is associated with angiographic severity of coronary artery disease. *J Thromb Thrombolysis* 2010;30:365-71.
54. Ellinor PT, Petrov-Kondratov VI, Zakharova E, et al. Potassium channel gene mutations rarely cause atrial fibrillation. *BMC Med Genet* 2006;7:70.
55. Fatini C, Sticchi E, Genuardi M, et al. Analysis of minK and Enos genes as candidate loci for predisposition to non-valvular atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2006;27:1712-8.
56. Lai LP, Su MJ, Yeh HM, et al. Association of the human minK gene 38G allele with atrial fibrillation: evidence of possible genetic control on the pathogenesis of atrial fibrillation. *Am Heart J* 2002;144:485-90.
57. Maesen B, Nijs J, Maessen J, et al. Post-operative atrial fibrillation: a maze of mechanisms. *Europace* 2012;14:159-74.
58. Crystal E, Garfinkle MS, Connolly SS, et al. Interventions for preventing post-operative atrial fibrillation in patients undergoing heart surgery. *Cochrane Database Syst Rev*;4:bCD003611 2004.
59. Curtis JJ, Parker BM, McKenney CA, et al. Incidence and predictors of supraventricular dysrhythmias after pulmonary resection. *Ann Thorac Surg* 1998;66:1766-71.

60. Almassi GH, Schowalter T, Nicolosi AC, et al. Atrial fibrillation after cardiac surgery: a major morbid event? *Ann Surg* 1997;226:501-11.
61. Aranki SF, Shaw DP, Adams DH, et al. Predictors of atrial fibrillation after coronary artery surgery. Current trends and impact on hospital resources. *Circulation* 1996;94:390-7.
62. Mathew JP, Fontes ML, Tudor IC, et al. Investigators of the Ischemia Research and Education Foundation; Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. A multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery. *JAMA* 2004;291:1720-1729.
63. Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, et al. Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort: the Framingham heart study. *JAMA* 1994;271:840-4.
64. Siebert J, Anisimowicz L, Lango R, et al. Atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting: does the type of procedure influence the early postoperative incidence? *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19: 455-9.
65. Brugada R, Tapscott T, Czernuszewicz GZ, et al. Identification of a genetic locus for familial atrial fibrillation. *N Engl J Med* 1997;336:905-11.
66. Ellinor PT, Lunetta KL, Albert CM, et al. Meta-analysis identifies six new susceptibility loci for atrial fibrillation. *Nat Genet* 2012;44(6):670-5.
67. Olesen MS, Bentzen BH, Nielsen JB, et al. Mutations in the potassium channel subunit KCNE1 are associated with early-onset familial atrial fibrillation. *BMC Med Genet* 2012;13:24.

68. Ritchie MD, Denny JC, Zuvich RL, et al. Genome- and phenome-wide analyses of cardiac conduction identifies markers of arrhythmia risk. *Circulation* 2013;127(13):1377-85.
69. Olesen MS, Jabbari J, Holst AG, et al. Screening of KCNN3 in patients with early-onset lone atrial fibrillation. *Europace* 2011;13: 963-7.
70. Olesen MS, Refsgaard L, Holst AG, et al. A novel KCND3 gain of function mutation associated with early-onset of persistent lone atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2013;98:488-95.
71. Garg A, Speckman RA, Bowcock AM. Multisystem dystrophy syndrome due to novel missense mutations in the amino-terminal head and alpha-helical rod domains of the lamin A/C gene. *Am J Med* 2002;112:549-55.
72. Sébillon P, Bouchier C, Bidot LD, et al. Expanding the phenotype of LMNA mutations in dilated cardiomyopathy and functional consequences of these mutations. *J Med Genet* 2003;40:560-7.
73. Tsai CT, Lai LP, Lin JL, et al. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and atrial fibrillation. *Circulation* 2004;109:1640-6.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

Homo sapiens potassium channel, voltage gated subfamily E regulatory beta subunit 1 (KCNE1)

Gene

LOCUS NG_009091 65588 bp DNA linear PRI 18-JAN-2015
DEFINITION Homo sapiens potassium channel, voltage gated subfamily E regulatory beta subunit 1 (KCNE1), RefSeqGene (LRG_290) on chromosome 21.
ACCESSION NG_009091 REGION: 4041..69628
VERSION NG_009091.1 GI:216547986
KEYWORDS RefSeq; RefSeqGene.
SOURCE Homo sapiens (human)

ORGANISM Homo sapiens
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo.

COMMENT REVIEWED REFSEQ: This record has been curated by NCBI staff in collaboration with Marielle Alders, James Ware. The reference sequence was derived from AP000326.1, AP000325.1, AP000324.1 and AP000323.1.

This sequence is a reference standard in the RefSeqGene project.

Summary: The product of this gene belongs to the potassium channel KCNE family. Potassium ion channels are essential to many cellular functions and show a high degree of diversity, varying in their electrophysiologic and pharmacologic properties. This gene encodes a transmembrane protein known to associate with the product of the KVLQT1 gene to form the delayed rectifier potassium channel. Mutation in this gene are associated with both Jervell and Lange-Nielsen and Romano-Ward forms of long-QT syndrome. Alternatively spliced transcript variants encoding the same protein have been identified. [provided by RefSeq, Jul 2008].

PRIMARY	REFSEQ_SPAN	PRIMARY_IDENTIFIER	PRIMARY_SPAN	COMP
	1-8304	AP000326.1	1-8304	c
	8305-28538	AP000325.1	1-20234	c
	28539-69840	AP000324.1	1-41302	c
	69841-71626	AP000323.1	16742-18527	c

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..65588
/organism="Homo sapiens"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:9606"
/chromosome="21"
/map="21q22.12"

gene 1..65588
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/note="potassium channel, voltage gated subfamily E regulatory beta subunit 1"
/db_xref="GeneID:3753"
/db_xref="HGNC:HGNC:6240"

mRNA /db_xref="MIM:176261"
 join(961..1175,53512..53622,62592..65586)
 /gene="KCNE1"
 /gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
 /product="potassium channel, voltage gated subfamily E
 regulatory beta subunit 1, transcript variant 2"
 /transcript_id="NM_000219.3"
 /db_xref="GI:189095231"
 /db_xref="LRG:t1"
 /db_xref="GeneID:3753"
 /db_xref="HGNC:HGNC:6240"
 /db_xref="MIM:176261"
 exon 961..1175
 /gene="KCNE1"
 /gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
 /inference="alignment:Splign:1.39.8"
 /number=1
 STS 21808..21932
 /gene="KCNE1"
 /gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
 /standard_name="SHGC-87563"
 /db_xref="UniSTS:80329"
 STS 23667..24003
 /gene="KCNE1"
 /gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
 /standard_name="SHGC-170119"
 /db_xref="UniSTS:173748"
 STS 26869..26985
 /gene="KCNE1"
 /gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
 /standard_name="SHGC-51850"
 /db_xref="UniSTS:87767"
 exon 53512..53622
 /gene="KCNE1"
 /gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
 /inference="alignment:Splign:1.39.8"
 /number=2
 mRNA join(56511..56890,62592..65586)
 /gene="KCNE1"
 /gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
 /product="potassium channel, voltage gated subfamily E
 regulatory beta subunit 1, transcript variant 1"
 /transcript_id="NM_001127670.1"
 /db_xref="GI:189095240"
 /db_xref="LRG:t2"
 /db_xref="GeneID:3753"
 /db_xref="HGNC:HGNC:6240"
 /db_xref="MIM:176261"
 exon 56511..56890
 /gene="KCNE1"
 /gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
 /inference="alignment:Splign:1.39.8"
 /number=3
 exon 62592..65586

```

/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/inference="alignment:Splign:1.39.8"
/number=4
STS 62614..63049
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/standard_name="GDB:679404"
/db_xref="UniSTS:158608"
STS 62614..63048
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/standard_name="SHGC-1246"
/db_xref="UniSTS:167711"
CDS 62642..63031
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/note="cardiac delayed rectifier potassium channel
protein; delayed rectifier potassium channel subunit IsK;
potassium voltage-gated channel, Isk-related family,
member 1; IKs producing slow voltage-gated potassium
channel subunit beta Mink; minimal potassium channel;
potassium voltage-gated channel, Isk-related subfamily,
member 1; voltage gated potassiun channel accessory
subunit"
/codon_start=1
/product="potassium voltage-gated channel subfamily E
member 1"
/protein_id="NP_001121142.1"
/db_xref="GI:189095241"
/db_xref="CCDS:CCDS13636.1"
/db_xref="LRG:p2"
/db_xref="GeneID:3753"
/db_xref="HGNC:HGNC:6240"
/db_xref="MIM:176261"
/translation="MILSNTTAVTPFLTKLWQETVQQGGNMSGLARRSPRSSDGKLEA
LYVLMVLGFFGFFTLGIMLSYIRSKKLEHSNDPFNVYIESDAWQEKDKAYVQARVLES
YRSCYVVENHLAIEQPNTLHPETKPSP"
CDS 62642..63031
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/note="cardiac delayed rectifier potassium channel
protein; delayed rectifier potassium channel subunit IsK;
potassium voltage-gated channel, Isk-related family,
member 1; IKs producing slow voltage-gated potassium
channel subunit beta Mink; minimal potassium channel;
potassium voltage-gated channel, Isk-related subfamily,
member 1; voltage gated potassiun channel accessory
subunit"
/codon_start=1
/product="potassium voltage-gated channel subfamily E
member 1"
/protein_id="NP_000210.2"
/db_xref="GI:60218915"

```

```

/db_xref="CCDS:CCDS13636.1"
/db_xref="LRG:p1"
/db_xref="GeneID:3753"
/db_xref="HGNC:HGNC:6240"
/db_xref="MIM:176261"
/translation="MILSNTTAVTPFLTKLWQETVQQGGNMSGLARRSPRSSDGKLEA
LYVLMVLGFFGFFTLGIMLSYIRSKKLEHSNDPFPNVYIESDAWQEKDKAYVQARVLES
YRSCYVVENHLAIEQPNTLHPETKPS"
STS 62645..63203
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/standard_name="KCNE1_3108"
/db_xref="UniSTS:462290"
STS 62700..62848
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/standard_name="RH38897"
/db_xref="UniSTS:86720"
STS 62791..63005
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/standard_name="GDB:191985"
/db_xref="UniSTS:155658"
STS 62816..63048
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/standard_name="SHGC-1246"
/db_xref="UniSTS:38943"
STS 62874..62980
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/standard_name="SHGC-6903"
/db_xref="UniSTS:64089"
STS 65441..65566
/gene="KCNE1"
/gene_synonym="ISK; JLNS; JLNS2; LQT2/5; LQT5; MinK"
/standard_name="SHGC-87562"
/db_xref="UniSTS:83230"

```

ORIGIN

```

1 gaaatcacao attacaaaac gtcagagtac tttctggaaa taagccttcc tctccagga
61 acaacgcatt tgacacttga ctgggataca ctaccggatc ctccgagggg gatggttctc
121 aagaaggcag aagcaatggt gaccaataga cctccttaaa ggctgagccg ctgggcacct
181 tcctactcct ctcgaccgtg ctaggatgac tgcagcagag tccccgagtc ctttgatgca
241 agggcttagg tgagttcgaa ggagagccat actaggccag gcagaaaggc ccatggtgat
301 ggctgtccac cctggtcagg ggaattctag gttcaggcca tgcggcaagg tcaccttgag
361 ggacatgctt tgctctaagc tcagcttaag tgtgtctgaa cccccctcac ttctccaac
421 tgcagaagca catggagaag ggggagaaag ggttgccac ctccataaat gagggcagcg
481 tgggtgaagag ccccatcatg cccaccaag gtcctgtgtg cagggcaggg cagtgcctat
541 ccagaaggcc agacctctaa ctgctgctct gtaggacgtc cgggcctcac atgcaggctc
601 ctataagctg gctgtcttgg caagagggcc ctggtacagc actgtgttca tcacagaaaa
661 ccacaccgta cataatttgt aacagacaga aatgcatttg gctcatggtt ctggagactg

```

721 ggaaccacagg atggagggggc cacatctggc aagggccttc ttgccatgac atggtggaag
781 gtatcacaag gttgggggaag gaggggtggg cggggcggga agagagagag agagaacaag
841 agagagagaa tccattcata aggggtggagc cctcatgact aaacacctcc cattaggtcc
901 cacctcccaa cactgttgct ttggggatta agtttccagc tggctttttt caaaccttag
961 caaccaccaa acagacaagc ctttcggcct gtcctggagg gcgttgaaatg gcatggcctg
1021 gagctcaacc aggagaaccg tgctcaggag gaagagacca gaaggataac tcaaaaagtt
1081 ctgagaagtt cctaagacca cctgaagaga aggagcctgc tgccaatggt gtggacaccg
1141 cagtgtgctt gaggagactt cagaaacgag aactggtagg agaaggggggt tgcacagacc
1201 ctttcctcag ttaggcaccc tctgctccca ccctcatgcc caccctgaca tcaggctaag
1261 ggagaggcgc tcatccattg acaggtgccca ggctgtcctg ggctggcaa accctggcct
1321 tgtacacca ctctccacac gtctgcccc accctcccag gggcagggcc gggcttcctt
1381 gcagagacac agggcaaaga gggagagaga aggcctcagg ccagggcatg gcctagtgcc
1441 tcccagcgcc aggtcctgac agcctgagag agctggaatc aaggaagggtg atcctggggc
1501 ccagacagac gtcagtgagc ttcagcctct ggtggctgca caccagccag ggcagcagcg
1561 cccccctctg cctgtgttca gctgtgtggg ctgcaagagg actaaggaga gtttcaagga
1621 ggcaggcagt gggggaggaa gtgtcccagg tagaggctga agctttaagg aggatgggag
1681 gggaggcttc acccggaagg agcttttgga gcaaggcct gaaggaaatt ggggagagag
1741 cctgagtatc tttgtaact ggggaagagag cattccaagc aaagggaaaa gaagagaggc
1801 tgtcagacaa gtgtgcaccc accatgtctg ggcacatcga gaaggaccct gtggctggag
1861 gggaggaagg aggggagaat ggaaagtgag accagagggtg acctgaccag ggccttcgga
1921 gccccgggtga ggggctcagc ggggtgggtgt catgggtgtg aagaggtagg tcctcatca
1981 ccagtcagca aagcgttccc tgggctcagc tgaagtctg ctggagtgtg tgccccctgg
2041 actggagggg atgggattgg tgggaataaa gttgtgagtt tggagttgtg gtgagcagag
2101 cacgaagtga gccccagca ctgccacttc cgcgtgaggg gtgaactggc cctgcactct
2161 ctcccccttga gtgtgggcag gacaaccctc tctgcctaca acggctcagc actcgtacta
2221 ctgtgggaca gtgcttctgt gattacgttc ctttatagga aaaattgatt ttgcagatgt
2281 aggtaagatc tggactcgtt tgactttgag tttatcaaga aggatgattg acagacacag
2341 tggctacttg agagtggagg gtgggaggag aaagaggatc agaaaaaaat aactactggg
2401 tactaggttt agtacctggg tgacgaaata atctgtacaa caaaccccca tgacacaagt
2461 ttacccaat aatgaacctg cacatgtact cctgaaccta aaataaaagt tgaaaaaggg
2521 gccaggcgtg gtggctcacg cctgtaatcc cagcactttg ggagaggccg aggcgggcgg
2581 atcacgaggt caggagatcg agaccatcct ggctaattgt gtgaaaccct gtcttacta
2641 aaattacaaa aaattagcca ggcattggtg caggcacctg tagtcccagc tactggggag
2701 gctgaggcag gagaatgtca tgaacctggg aggcggagct tgcagtgagc tgagactggg
2761 ccactacact ccagcctggg tgacagagcg agactctgtc tcaaaaacaa aaaaaagtt
2821 aaaaaaaaaa aagaaggaag attatcctga tgggcctgac tcaatcaggt gaaccctgag
2881 aggacactgg agggagcagt ggtgtcccct gctggcctgg agctgccaca aggtgagact
2941 ggggtgccat gtggccagga cttgagggca gcctctagga gctgaggatg gccccggcc
3001 agcagccagc aaggaagagg acacctccgt cctccaacca caaggaaatg gattctacca
3061 aactacatg tgctctggtg agttctgcat tagttcagat gagaccacag ctctggctgt
3121 caccttgatt tcaacctggt gagaccctga gcagaggccc cagccaacct gtacctgag
3181 ttctgacca tggaaaccga gatgatgaat ttgggtgtt ttgaccaca gaaaccaagg
3241 tgatgaatth gtgggtgtth taaacctcca caaagtagtg tgagaaaata cacagtagtt
3301 gttttatacc actacatth taggtgtth gttatcacac tggataatta aaaccaat
3361 ttaaatctth tctcagctaa ttttgtaaca ttagtgaagc ataaactc caaactatac
3421 tactgtagta aagaaaacca cctgcttcta tgtgtgagaa cacttgggtg aacatatcaa
3481 taaaaagggt gaagaaggga ctctagctgt attgcattth gcatcattth tattcacttc
3541 tatgactatt ttttgtaata ctgtccaatg actgtgtcgt ctctttttgc atgctttcta
3601 ttaaaaaata atagtgaaaa ttaaaaaacc ccagtctggg cgcgggtggct catgctgtga
3661 attccagcac tttgggaggc cgaggagggt ggatcacctg aggtcaggag ttcaagacca
3721 gcctggccaa tgtggcaaaa ccccgctgt actaaaaata caaaaattag ccgagtgtga
3781 tgggtgtgcg ctgtaatccc agctactcgg gaagctgaga caggagaatt gcttgaatcc
3841 aggaggtgga gtttgcaagt agctgagatg gcgccattgc actccagcct gggtgacaga
3901 gcaagactca gtctaaataa ataaataaat aaaaataaat ataaaacca gccagtgcag

3961 tggctcacgc ctataatccc agcacttttg aaagccgagg cgggcagatt gcttgagccc
4021 aggagttgga gaccagccta ggcaacatgg tgaaaccttg cctctacaga aaaaaaaaaa
4081 aaaaagctag gagtggtggc atgcacctat agtcccagct aatctggagg ctgaggtggg
4141 agaattgctt gagcccagga ggcagagttt gtggtgagct gagattgcac cactgcactc
4201 cagcgtggac cacagagcaa gaccctgtct caaaaaaaaaa aagaacccaa cagcaacaaa
4261 ccatcttgat tgttctgaag tctttcaaga gcaatcacct cataaatgtt cttccagaaa
4321 caccagcaag catgcatgaa acaaagcagc taacctagaa ctaaggtaat gtgtaagct
4381 ctttgtgtgc ctctgaagaa agacagtgtg taattccagg tagtgggtgtc gttatgcatg
4441 ctacttgctc tagaaagcat tctaaaagcc agagtagagg tctttgaaat gtttgagaa
4501 gcatgccacg gttgctaagt cactgggacc ctctcacctc tcatataaac tccattctta
4561 taatgcaggg gaccgtttaa agcaaagaca ttgcagtaag ctgaatgtga cctgctcaa
4621 aacagctctc tcttctctag gtcctttcct gtgcaaggga cattctgggg taccctgctc
4681 ctgagccatc atttaatccc ccaggaaaga tatttgaggc tgactcgcag gtttggtggt
4741 atttctgttg tcattagaga tgtgctttac ttctttcaga aagaagttct gatgagctta
4801 cgggacctag ccccttgttt gtttcacatt catccttggtg tgttatccag ttgtctctta
4861 ggaacttcag aattgcatat gagcgttttc cctccaagc ttctggtct caatgatgag
4921 cagcctgtc cacacagtga ctcaagctat ggccataaaa ggtgtctcct gtctccctgt
4981 accgacttc agccactctc aagtctggc cattctctct tctatcttta ggaaatactc
5041 tcatactcca ccccagagc cattctctta attcagcccc catcatttct cactttatta
5101 taagcaaagc ttccccatt ctttctctac gctactgtca gagcgagctt ttgaaagcat
5161 caagtcttca agcctatgtc tgatcatctt cgaagaccag tctcagcctc ctaacatgca
5221 tccatgtacc ctggaaattc tttctcacct cccgtgaaga ctgcaggcat gacagggcgt
5281 ctgcagttct ctgggtgtgc catgcgtccc ctacctctgt gccttcacct tcgatgcttt
5341 cctctgactt tccagcttca aatcattctt caggaccctt cttgagcatc gtgtcctttg
5401 ggaagctttg cctgacatct gctcaatccc accaagcaga actacatgtc tctgctccgg
5461 gctcctgcaa agccactgca ttccccagca caactctcac cagactgcaa cagtggctt
5521 ccctgccccat ctcccagct agtttgccaa tgagttcaat gtatttgttt ctgatttctc
5581 agcacctagc agaatgcttg gaatgaaata gtcactcaat aatatattat tagatgtatt
5641 gcttataact caattcaatt ctttcttctt taactctttg tagctgcaga tctcccctgg
5701 cagtgctaag cctggcactg ttgagcaaca ccaggtctgt cccttaggta atggaacct
5761 aggcaaagtg ggtgacgcac atgaatatat cacaggggtc ctttctttgg tggagacaat
5821 gtaatgtgtt cacatatgga aacttgggccc tggctttccc cacgtgctgc caggattgtc
5881 aggatagatt ggttctcatc ctccatgccc cctggctgtg ttcaaattgt gagctgcctg
5941 atctatgggg ccagtggggt taagctgaag caagaaacca cggagtgaca agaagacatt
6001 tcaaagacgt gattggtcta gaaaccagc aattttcaa aagcttgctc ccgtgggatc
6061 tgtagggccc aacttgaaga gctgggacag aggggacatt cctgagttcc cggcctgcaa
6121 tatggctata gccacataat tctgaatgca caatagcact tcattcccaa ggaattctct
6181 gtagggactc aagaacaaaa taatctccta atgtagagca tttaacatac aagcgtttt
6241 acaagtcacc tgacagtaga tgtcgaagta atttcaaaat aatgttctat tttaaaaata
6301 ctgtagttaa aaaacttttt ccccagagt ctatattgcc ttgctgtgtc atataagttg
6361 caatgacttg gaggcaggac ctttgcttgt cctgggagggt gggatgactc tagaagatgg
6421 cccacgccag gtcttcttta ggatctagtc tggcctcgtt tgagctacag taatgcataa
6481 ggggtgtttgt actcacttta tctcctttta tttcaagcga ggggatcaag tgtagaaatc
6541 tgcgtgggccc actcaggaca catccacatg gcaacaggag gtgagcagct tgtagggatt
6601 gcggtgagga tgagaggaca tttgtttgca gcctgtgtca gctgggctc ctcaggtctc
6661 taagacctgg gcttcaagcc ccaatcccac agctttgggg atgccctaag cctggcatga
6721 tgcccattga tccctgcctc acactctccc tccagcctct gcctctcttt tggctccagc
6781 ctcccaggta acaaagtgtt gctccctcat tgctttccaa aaaaaaaaaa gtgatcaagg
6841 tggtcaggcg tgggtgctcg cgctgtaat ctgattctt tgggaggccg aggcaagtgg
6901 atcacctgag gtcaggagt ccagaccagc ctggccaaca tgggtgaaacc ccactctctac
6961 taaaaataca aaagattagt cgggtgtggt gtcgggtgcc tgtaatccca gctacttggg
7021 aggctgagge agaagaattg cttgaaccca ggaggcggag gttgcagtga gccgagatca
7081 cgccattgca ctccagcctg ggtgacagag caagactctg tctcaaaaata aataaataaa
7141 taggaaagac agaagatctg tgttcttagt ttttgtttag ttcttaatgc cttaactgag

7201 atataacttg catgtataca attcgcccat ttaatgtgta tgatcaatgg tttttggctc
7261 attcacagat atgtgcaacc atcacttcgg tcagtttttag aacattttca tcacctccaa
7321 acaaaactcc aaacccttta gctgtcaoct cccatcttcc tgccctgcc cccacctcgc
7381 aagctgagcc ctaagttccc actaatcttc tttctgtttc tatagatttc cctattctgg
7441 actttcatat gaatgaatca cataacagga ggtcttttgt gactggcttc tttcacttag
7501 cctaacatac ttgaggttca tccatgggat atcaagtata agtacttcat cccttttcat
7561 gactaatatt ccattgtctg gatagaccac atttgttcag ttcattcatc agttgatgaa
7621 cttttgggtt ttggctacta tgaataatgc tgctatgcac attttgttcc aagtgtccat
7681 gtggacatgt actttcattt ctctcagggg atatatgtag gagtgggaatt gctgagtcct
7741 gtgatagctc tgtgtttaac atttggggac ctgttttcca aggcagctgt accgttttac
7801 attgccacca gcagcgtagg agtgtttctga tctctccaca tcctcccaat acttgttctc
7861 agccttttgt attctggcca ccctggagag tatgaagtgg tttcttattg gggtttggat
7921 ttgcatttcc ctgatcacta gagatgtcaa ggatcttttc ctgtacttat tggctattag
7981 gtttgggttt agaggaaggg tctcatcctg tgcaacatcc taccttctca ctctcccaac
8041 tcctcttctc caacctctac cctctggaat ccctcaaaca cacaccogag tccaaagtgt
8101 tctccctcca cgacggagtg gttgtccttt cctccgaagg ccctgtgccc attgatgtgg
8161 ggcctagggg ctggggatct ttcccattgt agctcagctg acagaggcag gacttcacac
8221 accagctggt taggtgaaca tttctccatc ttctcacatc tgtgtgaccg gacatggggg
8281 atgggtgctt ctagtgggta gctgtgggca tgtacatgta tttgaatgtg tgtgcttact
8341 ggtttggggg gctacaaatt cacaaggtga ggtgcgctc caaaaattca gaggaagaa
8401 aagggtttgg tggcatatgt tgaattctg gaccccaaa cagcctacct ttcataagaa
8461 tctactttgt ttagagtaaa acaggtgggt tctaaaaaag aaggaaactt tgaatgatga
8521 gaaactcacc catggctgat ggcagctata atattgtgaa atacatattt ggtcttcatc
8581 catgtttcct gatatacagt tgaagtctcc agagtgatga gtgtcttttg tatgctaagt
8641 agtaatgggt ggatgagtcc tctaggtaac ttcaggatgg gaactggctg tccatagacc
8701 aaggcatgat tagaggggta ggacttacag cccacttcc aaactccagg gtggggagag
8761 aggctgaaag ttaagctgat caccaatggc coatgatgta gtcagtcatg cctatataat
8821 gaagcttcca taaaaacca aaagggctga gttttgggag ctctggacag ctgaacatgt
8881 ggagcttctc ggaggggtgg ccctaggagg gcatgggagc ttctcagccc tcccacata
8941 cctcatcctg tgcctccctt tcagctggct gtttatttta ccctttgtaa tgtcccttat
9001 cataagggat aaacataagc aaagtgtttc cctgaattct gtgagctgct ctaacaaatt
9061 aattgaacc aaggaggggg ttgtaggaac ctcaatttgt agctgggttg tcaaaggcac
9121 aggtcacatc ctagggcttg caattgggtg gcaaggttgg ggagagtctt ataggactaa
9181 gccctcacc tgtgggattt gatgacatct ttgggtagtt agcatcagaa ttgaattgaa
9241 ttgcaggaca cctcattggg gtgtgctgca gaattgcttt actgatacgt gtgggaaaaa
9301 tccccatcta tctggtgcca aaagtgtggg gctgagtggt gaatgagaac aaagagtagg
9361 gaaagcactg taggcttatg ctatctctaa tagaagtcag ggtgagctca gagactctaa
9421 agccatgctt aagggaact gctgtgactt aaaaagagtg ttgtgacctc tgatcatgtg
9481 tcattaccag ccttggctga attacaggct caggccagtt gccttagcat gtctttgcac
9541 ttcacatgtg tccacagaga acaacggaca gtaagtctcc aatgcactca tgttgactga
9601 tggaggaaca aataggtcaa gtcatcaggt ggagtcaggt gagtgagtgc aggtgctgga
9661 gataggctct cctaatacata gcccaagggt agctccatcc aggtaggcac aagagggaat
9721 tattaggaat gacaagggct ctaacgtaag tccacacca tataaaggac aggacatgtc
9781 ttgggatgaa aagccaatct aggttttggc ttttattcct gattgggtgtc agaaggtgag
9841 aactaaaaa gctgggtgaa tttggcaaat aggcaagtca ttttcaggcc agttccttca
9901 tctgttgtaa tcattcattc atttattcac tcattctctg aacagttact gagtaccagc
9961 taggtgcctg acacagtgtt aaatactagt tatagagatg aattgaagtc cttataatcc
10021 agtcaggact ggattaggaa ccaaaaggaa ggagtagact acccttctac caaagggggc
10081 ccaagaaaag ctctatttagc aaggtgatgc taatgttgat tgttgacaga tggaaaggtc
10141 tctgatacat agaccaaaaa aggcaaggta ttttagagag ctggcacaac agcaaaagca
10201 tgcataaatg cagtccatct cctctgtccc caatacccat gacatcaaca ttctacact
10261 aaggtatggg actcccaggt cccaccccac tgggtgggtg caacaccaag ttcaaagccc
10321 accttggagt ctagtgattc cccagggcat acagacaatg gtgcacattg ttactacagt
10381 ccagagtgta gctgaggtgc accttgaact gagattagca gatgtcattc ttaacctgc

10441 agaagtctctg gacattcagc tgcagagtga atggggggcct gctagggggtg agatcatagt
10501 atgggggctgg gttcttgtgt ctgggcttgt ttctggggcgc tggcctgggg cccatgtact
10561 tagagctttg ttttgtctat caacccttac accctcaggt tctgctgggt cttctcccat
10621 acgctaacca accaccacct cttggacca aaaactataa accttctcat ccacctctat
10681 cctgccctta gggtcctgca aatctatctc taggtcctaa aaccaatagg gatgatatca
10741 tactctttat cagacaactg agcatctact tctaaaataa tagcaatgct tgagatgtgg
10801 gcataaaagt gtcttctcag actgatgggt cactgtcccc acttccatgc ttgaaacccc
10861 atctccattc tcaatggagc catgaatgta tacctcaagt tctactagaa gagttgctg
10921 tcatcttctg cctgaagcag actgcttctg tgtttaagaa ggtggagacc ctttttctat
10981 cagttttcct ttgagcagta acttactata gtggataacc ttgacttacc cggtcctact
11041 ctctgctgta aaatgtacat aagtagagtc cctcaaccct cttcatgaga tttcggatgg
11101 ttccaatggg cagctctttt atgctgattg agaagtccaa cttgcatagc agtgcagctt
11161 catacctggc attatacaca cgcttaatcc cacttttgct gaagaaagag acagcattgg
11221 caggcagaac aagtcctgta gctttgggac aaaagtggct gagtcttgag tcttgcctcc
11281 aaaggtctta ccttccttat ccaactccaa gcagaagtgg gcatgcagtt gaggcaacta
11341 accaaatata gagagatagg agtttttcag gtgtccacca atgggaaact ggttgaaatg
11401 aatttgagtg aattatggta gagtcacata gtgaagtgt atgcagccat aagaaagaag
11461 aataaaaaat gcctgccatt aaccactatg gaataatata caagatata tgttagtaga
11521 aaaggccaaa tacagacagt gcataatagg tgtatTTTT tgaaaaataa gattatata
11581 gtgtgtacat atacatattt gcttattgta aagaaact ggaaagataa gccaaaaacc
11641 aataaaaaatg attaaccata caagtgggta ggaatgggtg agagggatag ggctggaaga
11701 aagaattctc tgtactttca aaaatagttt tgacttttga accatgtaag tgttttcat
11761 tatgcaaac ataaatgaaa taaaaaagat cagagaaagc agtccaaaat tgtacacaca
11821 aagaaatgag gccaaactata tatcaactg ataactggc aaaaagaatc attttaagaa
11881 actgtcaaac gtggcacttg ggctgcacag ccttagttgg atactctctg ggaacagaaa
11941 gtgttacaaa taagctttgc cttactgga tttattggtt gtaacaaagc tattattatc
12001 attttgagac tgctatgtga atgtttttgg atagaacaag aaagtactgt gtgtatata
12061 attaatacata tgtatgtgta tatatatgta tgtatacaa acatgtttt aggaacata
12121 atttcctttg aaggggaaa tagatacaat tattaataa aataaagtta aataataatt
12181 cagtaatgtt aaatttaaat tataaatata ggtgtctttg ggaagcttga gccaggagt
12241 tcaagaccaa cctgggcaac attgtgagac cttgtctcta taaaaataa aaataaattg
12301 ccaggtttta agaggaagat gacagatagg agacagggt actgttcagc tcccacttga
12361 atggacagac agaggagtat gtggagacac aaagcatgaa cttttgttct aagaacgacc
12421 acaggaacgt accaggaaaa ccaaaataat tcaactgatc ttttaaagaa gtggcacacc
12481 gctgcaaat ccacaagaca ggcaaaaaac tgtgcattcc caaagtgtga gagggagaaa
12541 acctgcctcc aagcacatat cccaatggg gaacctgaaa atccagatta caggagaagg
12601 atttaacctg atctacagct gaaatggatt tagtacaaaa tattttctat aaaagttaga
12661 gcagcagtgg gaagagcctt gtagacattc ccatgctcca gctttagccc ggggaagcca
12721 tctctgactc tatctcacag ggtccttga gagaggcagc cagtagaatt agcaggggcc
12781 acagggtgaa agaagcttcc aagtgagctt tgtaataatt tcaactgggt gcaaattctc
12841 ttgaacagaa tccggagggc aaaagggaac tgctacagat aggagtgcaa agctgtggcc
12901 aacaggatgg gcagacaggg aagggcaagg cccgaaagct gtgcttgctt tctcagcagg
12961 gaagcttata gcctggggca aggtctgagt ccagagcata agctgcccag agataaactt
13021 ggtgctgtta gtgggataca gaaggagcaa gatcggcccc accaactgtg tgggagctgg
13081 gtgaggccta ttgctttccc ctacttccct ggtgacctat ataatgcaac agacgcagcc
13141 ataatacccc ttggaacata gccccattgg cctgagaacc acattctcac cccgacagt
13201 ggctgtggca agccttgctc aaggagagtc tgagcccaga catgccaac tctgccccca
13261 catgatgat atttctctac ctgccctggg agttgatcac aaaagacata aattttggg
13321 agctttatgg ccccacctat cacctgagaa acccaaatac taatcctggc caaatcggg
13381 caagcttaga tccctctact actactgcag ctggtgttct cttgaaagca ccatctctg
13441 gctggaggcc aagcagctca ggacattaca acaactcatg acggaataac cctgcttcaa
13501 ggaaagagaa aacaacagct aattccactg cctgcaacat cctggctaac cagaggtctt
13561 gaatctgtcc atgtgacaac ttcactgtta acataacaag catttgagaa agccgtcaca
13621 ctaaagatat ctacaaccaa aggtctctcag agagtctact tcattccctg gccacctcca

13681 cgagagcagg tgctggtagc tatggctagg agacctgaaa atggatcacg tcacaggact
13741 ctttgcagac attccgcagc accagcccag agcctggtaa ccccaactggg tggctagacc
13801 cagaagaaca attacaatta ctgcagctctg gctcccagga agccccatcc ctagggggaag
13861 ggggagagca ccacatcaag ggtcacctgt gggacaaaag aatgtgaaca gcagcccttg
13921 agttccagat ctttccattg aaatattctc tttggtgagc tcaaagctga ccaaatgaga
13981 aggaatctga aaattaattc tggtaatatg acaaaaacaag gttctataac acccctgaaa
14041 gatcacacta gcttcccagc aatgcatcca aaccagaag aatctaaat tgccagataa
14101 agaattcaga aggttggtta ttaagctact caaggagata ccagaaaaag gtgaaaatga
14161 acttaaagaa attaaaaaga caatacagga tatggatgaa aattctccag ataaatagat
14221 atcataaaga aaaaacagtc ataatttctg gaaatggaag acacacttag agaagataa
14281 aatgcaactg aaagtgtcaa caatagatta gaacaagcag acgaaagaac ttcagagctc
14341 gaaggcaaga cttttgaatg aaccfaatca gataaaaacc aaaaaaaga aaaaaaaga
14401 atttaaaaaa tgaacaaagc cccaagaaa tttgggatta tgttaaactg ccaaacctaa
14461 gaataattgg tgttcttgag taaaaagaga aatctaaaag tgtggaactt atttgaggga
14521 acaattgagg aaaacttccc tggccttgct agagacctag atatcaaca agctcaaaga
14581 atacctggga aattcattgc aaatagatca tcatctaggc atgtagtcag cagattatct
14641 aaagtcaaga tgaaggaaag actcttaaga gctgtgaggc aaaagcatca agtaacctat
14701 aaaggaaaac ctatcagatt aacagcagat ttctcagcag aaaccctata agcaagaagg
14761 aattgggggtc ttatctttag cctcctcaaa caaaataatt gttaaccaag aattttgtat
14821 ccaggaaaat taagcttcat aaatgaaaga gagataaagt ctttttcaga caaataaatg
14881 ctgagataat ttgccactcc caagccagca ccacaagaaa tgctaaaagg agttctaat
14941 ctttaaacga aacctcaaaa tacaccaaga tagaacttcc ttaaagcata aatctcacag
15001 ggcctataaa acaatacaaa tagaaaaaac aaacaacaac aacaacagaa aagttattca
15061 ggcaacaact agcacaatga atagaacagt acctcacatc tcagcactaa agttgaatgt
15121 aaatggctta aatgctccac ttaaaagata cagaatggaa gaatagataa aaatccatca
15181 accaagtatc tgccatcttc aagagactca ccagacacat aaggactcac ataaacttaa
15241 ggtaaaggaa tggaaacaga tactccatgc aaatggacac caaaagcaag caggagtagc
15301 tattcttata tcagacaaaa cagactttaa cacaacaaca atttaaaaag acaaaggggg
15361 acattatata atgataaaag gattgctgca acaggaaaat atcacatcc taaatatata
15421 tgcacccaac actggagctc tcaaatctct aaaacaatta ttaccagacc taagaaatta
15481 gatagatggc aacatgataa tagtggggga tttcaatact cactgacag cactagatgg
15541 atcatcaaga caggaagtca acaaaagaaac aatgaactta aactataccc tagaacaat
15601 ggacttaaca gatatttaca gaacattcta ctcaacaact gcagaataaa cattcttttc
15661 gtcagcacat ggaatattct ccaagataga ccatatgata ggccacaaaa aacatctcaa
15721 taaatthaag aaaactgaaa ttataccaac tacccttca gaccgtgtgg aataaaactg
15781 gaaatgaact ccaaaaggaa ccctcaaac tacacaaata catggaaatt aagtaatctg
15841 ctcctgaatg acctttgggt caacctgaa atcaagacag aaatthaac agtatttgaa
15901 ctgggtcagg tgtggtggct cactcctgta atcccagcac tttgggaggc caaggcgggt
15961 ggatcacgag gtcaggagat caagaccatc ctggctaaca cggtgaaacc ctgtctctac
16021 taaaaataga aaaaattaga cgggagtggg ggcaggcgcc tgtagtctca gctactcagg
16081 aagctgaggc aggagaatgg tgtgaacctg ggaggcggag cttgcaactga gccgagatga
16141 gccactgcac tccagcctgg gccacagagt gagactccat ctaaaaaaga aaaaaaaag
16201 tatttgagct gaacctctgg gatacagaaa aagcagtgct aagaaaaatt tcatagcatt
16261 aatgcctac atgaaaatgt ctgaaagagc acaaatagac aatctaaggt cacaccctca
16321 aggaactaga gaaacaagaa caaactaaac tcaaaccag cagaagaaaa gaaataacaa
16381 agatcatagc agaactaaat gaaatgtaaa caacaacatt acaaaaaaga taagtgaac
16441 aaaaaagatg attctttgaa aagataaaca aaattgatag accattagcg agattaacca
16501 agaaaaggag agagaagatc caaataagct caattagaaa caaaacagaa gctattacaa
16561 ctgacaccac agaaatacaa aagatcatgc aaggctacta tgaatacctt tacacacaca
16621 aactagaaaa tgtagaagaa tggataaatt cctggaataa tacaacctc ctatattaaa
16681 tcaggaataa acagaaactt tgaacagacc aataacaagt agcaagataa aaacaataat
16741 acaaaaatc ccaacaaaaa aaaaagtcca ggaccagatg gattcacagc taaattctat
16801 cagctattca aagaattggg accaatctta ctgaaactat tcaaaaagat agagaagag
16861 ggactcatcc ttaaatcatt ctgtgaaacc agtatcatcc taatgcaaaa actaggaag

16921	gacataacaa	aaagaaaaac	tacagaccaa	tatccctgat	gaacataggt	gcaaaaatcc
16981	tcaacaaaaat	attagctaac	cgaatccaac	agcatatcaa	aaaagataat	acaccatgat
17041	caagtagtgt	attaagatat	aaagatatat	catcatgtat	aaagataaac	accatgatca
17101	agtggggtttc	atacaaggga	tgcaaggatg	gtttaacata	catgagtcaa	taaatgtgat
17161	acatcacata	aacagaatta	aaaactaaaa	tcatgtgatc	atctcaatag	atgcaggaaa
17221	agcattttgac	aaaatccagc	atctttttat	gattaaaacc	ctcagcaaaa	ttggcataga
17281	agggacacac	cttaaggtaa	taaaagccgt	ctatgacaaa	cccacagcca	acattatact
17341	gaatagggaa	aagttgaaat	cattccccct	gagaattgga	acaagacaag	gatgcctact
17401	ttcaccactt	ctattcaaca	tagtactgga	agtcctagac	agagcagtaa	gacaagaaaa
17461	agaaataaag	ggcatctaaa	tcaataaaga	ggaagtcaaa	ctgctgttca	ccagtgatat
17521	gattgtatac	ctagaaaacc	ctaaagactc	atccagaaag	cttctagatc	tgataaatga
17581	attcagtaaa	gtttcgggat	acaaaatcaa	tgtacacaaa	tcagtaacac	tgctatatac
17641	caacaatgac	caagctgaga	atcaaatcaa	gaactcaacc	cctttttacaa	aagctgcaat
17701	aataataata	ataaagtact	taggaatata	cctaaccaag	gaggtgaaag	atctctacaa
17761	ggaaaactac	aaaacactgc	tgaaagaaat	cttagacaac	acaaacaaat	gaaaacacat
17821	ctcatgttga	tgatgggta	gaatcaatat	tgtgcaaatg	accagactgc	caaaagcaat
17881	ctacaaattc	aatgcaattc	ccatcaaaaat	accatcatca	ttcttcacag	aactagaaaa
17941	aaaaatccta	aaattcatat	ggaacaaaaa	aagagccac	atagctgaaa	caagactaag
18001	caaaaagaac	aatctggag	gtatcatatt	acctgacttc	aaactatact	ataagggtat
18061	agttaccaa	acagcatggt	acttgtataa	aaatagtcac	gtagaccagt	agaacagaat
18121	agagaaccca	gaaataaagc	caaatattta	cagcctatgg	atcttcgaca	aagcaacaa
18181	aacataaag	tggggaaagg	acaccctggt	caacaaatgg	tgctgggata	attggcaagc
18241	cacatgtaaa	agaatgaaac	tggtacctca	tctgtctcct	tatacaaaaa	tcaactcaag
18301	atggatcaaa	gacttaaaac	taagacctga	aaccataaca	attctagaag	ataacattgg
18361	caaaactctt	ctagacattg	gcttaggcaa	agtgttcatg	accaagaacc	caaaagcaaa
18421	tgtaacaaaag	acaaagataa	atatatggga	cctaattaa	ctaaatagct	tctgcacaac
18481	aaaagaaaca	atcagcagag	taaacagaca	accacagag	ggggagaaaa	tcttcataaa
18541	ctattcatcc	aacaaagaac	taatattccag	aatctacaag	gaactcaaat	cagcaacaaa
18601	acaaaacaaa	acaaaaaata	ataccctcaa	aaaagtgggc	aaaggaaatg	aatacacaat
18661	tctcaaaaga	agaaatacaa	atggccaata	aacataaaa	aaaagcttga	catcgctaata
18721	tatcagggaa	atgcaaatcg	aaaccacaat	gagaaccacg	ttactcctgc	aagaatggcc
18781	ataattaaaa	aataaaaaaa	taacagatgt	tggtatagat	gtggtgaaaa	ggaacactta
18841	cactgctggt	aggaatgcaa	actactgcaa	ccactatgga	aaacagtgcg	gaaattcctt
18901	taaaaactaa	aagtagaact	accatttgat	ccaacagttc	cactactggg	gacctactca
18961	gaggaaaaga	agtcattata	caaaaaagac	acttacacac	gcatgtttat	agcagcaaaa
19021	ttcacaatta	caaaaatatg	gaaccagcct	aaatgcccat	caaccaatga	gtggacaaag
19081	aaaatgtggc	atatatacac	catggaatac	cactcagcct	taagaaggaa	caaaataatg
19141	gcattcacag	caacagtaac	ctggatggag	ttggagacca	ttattcaaag	tgaagtaact
19201	caagaataga	aaaccaaaaca	ttgtatgttc	tcacttataa	gtgggagcta	agctatgagg
19261	acgcaaaggc	ataagaatga	tataatggac	tttggggact	cagggggaag	ggtgggaggg
19321	ggttgaggga	aaaaaaggct	acacattggg	tacagtgtac	actgcttggg	tgacaggttc
19381	acaaaaacat	cagaaatcac	cactaaagaa	cttatccaag	taaccaaaaca	tgaccagttc
19441	ccaaaaaact	attgaaataa	aaaaaaacaa	gaaatgtcag	tgtgaattca	taagtacacg
19501	tatgtatgtg	tgtgtctgta	attaatttca	gtcaaagagc	ctagaagtca	taacattgta
19561	atagcaatgg	gcacacctca	tgctttgaac	ttggtatcta	agtaccattc	cccaggaaag
19621	ggaaccaggg	atcctcattg	aaccggctga	ttacaagtca	aaagcaggta	aattacaagt
19681	tgagcctagg	acaccttatt	gtaccagaaa	ataaggaaat	cacggactaa	tggtatcatg
19741	tcaaacgaac	agcagaggca	gcttgaagag	ggtcccaccg	gccaaattga	gattaagtat
19801	cagaaataat	aatgatggca	gttgacattg	agttataaag	aaatccatga	attcacagtg
19861	atactcaaaa	aaaaagaaaa	aggaacagag	agagaaaaga	gaactcttct	ttagggaaga
19921	cttctccea	taaatgtaga	aaaaagatat	acattttattg	caaccctcaa	agaagaaata
19981	gattcagggga	agcaccttca	gtggatgcca	aaccttattg	ggtgaaagggt	tggtgaggaa
20041	caggatgtca	aagtataatt	caacaaatta	cagtattttac	taattttgag	aaggaaaatg
20101	cacgtttact	atgaaagata	cggtgactgt	caccttcct	aaattatcaa	agtgagcaat

20161 gccagcaggg atgggctgtc atcatgtgtc ctgatgggat ccatctgttg tattagttag
20221 ggttctctag aggggcagaa ctaatggaat gaatatatat atatgagttt attaagtatt
20281 aactcacata atcacaaggt cccacaataa gctatctgca ggctgaggag caaggagagc
20341 cagtctctga gagcagggag atccaaactg aagaacttgt agtccgatgt ttgagggcag
20401 gaagcatcca gcacgagaca aagatgtagg ctgggaggct gggacagtct cttttcacat
20461 tttctgctg cttatattct agctgcaacta gcagctaata gtgcccaccc agattaagag
20521 tgggtctgcc tttcccaccc ttctgactca gacgttaatc tcctttggca acaacctcac
20581 aaacaaaccc aggatcaata ctttgtatcc ttcaatccaa tcggggtgac actcagtatt
20641 aaccatcaca cctgtgaagg attcttctca tgagcccagt tcagccttta gatccacatc
20701 cagttacagg aaatacagag gagagaagga caagtcaagg aggccctgac gaagctgtct
20761 gacaaagcta gaatgagggg tgttctacaa gacagttgag ccaaactcca aaaagtcatc
20821 acaaattcaa aaaaaaaca aaacctaaac ttaaaacctc tgtaagggtca tctgattgga
20881 aggactcaca taaaattgca aaggacgctg tcttctcttt gctagttgaa cccgctacta
20941 catgtgcctc tccatactgt tctagaccag cgtttatcat gtttcacagc ctctcttggg
21001 cccaatgatg gagatccccg ttctcttcca ctatgttcat caaccaatth ggtgttctct
21061 tgaagggtag gaaggtctca acagagactg ttggctcttg ttaggggtgc cttttttttt
21121 tttttttttt tttttttaag atggagtctc ggactattgc cctggctgga gtgcagtggc
21181 acagtctcgg ctccctgcaa cctccacctc acaggttcaa gcaattcgcc tgcctcagcc
21241 tccgtagtag ctgggattac aggcacccac caccactccc agctaatttt tatgtgtgtg
21301 tgtgtgtgtg tgttttttagc agagacgggg ttacactatg ttggccaggc tggctctgaa
21361 ctcttgacct tgtgatccac ccacctcagc ctcccaaagt gctgggatta caggagttag
21421 ccaccgccc cagccgttta ggggtgcttt tatatgggag aacagcctg gttgcacata
21481 aattttaaac aactaaggca agcaccata tgtaatgaga atctccactc ctttctgtcc
21541 aaaggctgag tgcaccagaa tacttcaatc tgagaaagaa aaaaaacctt tatctgagga
21601 atgtgagccc tttaaatcat caggcccaga aaggcattta aatgtgacc acaatcaggt
21661 ctcaactctc ctggaactga ataatgacct cttgaagcca cttgctatgt gggctgcaga
21721 tgaatgcaa gttgcaacaa tgtatagcca atcactaacc aatgttattt ctgtaaacta
21781 atgaaaatc ctgatgagca gctttcgtaa ttgcttctct catgattctt ctttttttct
21841 ttaaaaactt gaggctcttc tttgtcctcc agagcactcc ccaaggcaac ttggaagtgc
21901 atccatggct gcagctctca accttggccc aaataaactc tctatattaa ttctgccttt
21961 gcttcttctt tttaggttga catttccatc tctagagact ggatactctc cctcctgaca
22021 ggtgcctgat gactctcttg tatttagaag tggccttcc tatctctggc atatttctc
22081 cccaaggggtg ggggtgtcct gggatgatgt tgaggtatgc taggacttgc tgctgttgcg
22141 gaaattttaa ataaaatctg ccaatctaga aaacctgtcc aaaaatatac gaaatgaaa
22201 aaagtgttat tattacatat gcattaaacc agattgcaac acacatcaa agcaatccac
22261 taaagaaatt gcaaagacag aaaaaatgta tcacctctt acatagccag gcagatagaa
22321 tctattacat atgtgttaat tgcaactatc caaaggaaga agaaaactct catatgctac
22381 aacttgtagc cagactccta ggcaaagctc ccagagagac aggagacagg gcacatcca
22441 tcttaatggt cacatttcaa agagatggct ccgaggcccc cgagaagcac attcctggga
22501 agccaaagtg gcaaagggct tgttttagct tcagaaaggt ttatatacct ccaaagaga
22561 cagagaaagg attataaagg aaatactcta agaaaagggg gggagggact tctctttgcc
22621 ttttggcacc agggaaaatt caatttcttt ttacttgtac ttacccttat actgcctagg
22681 aattaagga gaagttgagg gtccactgag tggcagggt gccagagaat ggttcccag
22741 cccagtgtct gaagagctcc tatctcccag gcgagctgga cctccctttc cctgcccactg
22801 actcttctc ctccctgagct actggccagc cctggagcgg ctgtctcata agctcttaca
22861 aatgagatgg agcagggacc cctcttaggg gcctggtctc cccagcacca aacagaggaa
22921 ttaaaaaatc ttgagtttct taaagggaaa ttccaggcac ctagctagcc tgagaagtaa
22981 atgaacaact tgataagcaa gagagtaata gtagcttaaa acaataatca tggagtgag
23041 aatcatggga tgtttggctc cctgtaaaaa cttaaagataa catctttttt tgtttgtttg
23101 attttgtttt gttttgagac agggctctc tctgttgccc aggetggagt gcagtgggtc
23161 aatcatgact cactgcaccc ttgatctgag ggctcaagca atcctcccat ctcagctctg
23221 tcagtagctg ggaccacagg cacatgccac cacaacttgt taatttttgt atttttttt
23281 tttttttag aggcaggggt tcgtcatgtt gccacactg gtcactaac taggctcgag
23341 caatctgect accacagtct cccaaagtat tgagattaca gtcgtaagcc accatgccca

23401 gccaaagata gcatcttaaa gatagcagca ggagacagac aaattcccag gcagattggg
23461 gtgggtcccc catgaaaccc aacctccaag ccaaagacag cctgaagcct gaaaaccagg
23521 ctgtcagttc tggatggagt ccatgaccag aatgagaact tctatthttca tttgcctgct
23581 ctttcccaat tggttctttc tgaataatgc tttttaacca atcaagtgtt gccttttcca
23641 aggctatgga tagctgacac ctcccacatt ctgagcccat aaaaactgga gagactcagc
23701 cacacattga gactacctac cttcagctcc cctctctgct gagagctgtt ttgttgctca
23761 ataaagctct tctctgcctt gctcactctc cagtgtgcag cataatctca ttcttcatgg
23821 acatgggaca agaaccaggg acccaccaaa cagtgggtgc aaaagtagct gctgtaacac
23881 tgtagccctc ccaccctccg ccagtgtcgg gcatccgtcc cacgtgatgg gaaatggcag
23941 cagggccggg ccttcccagg agccacaagc tagagcaggg cagcaggact gaatgagctg
24001 ttaacatacc cccatthttc gcactgtgag tggcgggaag gagaaaagag ctgcaaccct
24061 tctggacatc tagacctcag agcttctgga gccagtgtcgt tgacatgatg taacaccccc
24121 tttggggctt cacaggtgct ggcattctca agthtttggg tgccactgtg tttcccctagt
24181 ctggatgcca gcacctggag ctgctcattc cattgcagca gctgatgcac ctgactgtgc
24241 acagtaactg gacctgcaa acttgccact ccacacctgg ctcacctgtg gtggctggta
24301 gggtagactg ggtgcagcct gctgggcca ctaggatggag caaggccaga gccagctca
24361 gagctgagtg aggcccaggc aggggtgcag ccagctgcag aggtctctgg ctggtgaagt
24421 ggcaccccaa aaaagtctg tgccattaac atatgtcca gagttgtttc agaaacctgg
24481 acccccacca atggatccac caaatggatc cactgacaca tagacttcag ataaagagga
24541 attgaggact gaattctgac tgccattctt tgttctaaat ttctccctgg ggagcctgga
24601 ggaagtcaca cccatgagcc agagctgaca ttctthttta ctgatcccac agthtttagac
24661 aaagctthtc ctcacctatg acctgtgggc ccacttcaag atgttccacc tttctaggth
24721 aaaccaatgt ataacctca tgatttctta tthttgcctgt aacctctgcc tctgtcctth
24781 aaaacctta cctgtggccg ggcacagtgg cttatgccta taatcacagc actthgggag
24841 gccgaggcgg gtggattgcc tgaggtcagg agthttgagac catcctggcc aacatggthta
24901 aacctcgtct ctactaaaaa taaaaaaatt agccgggtgt ggtggcaggc acctgaagtc
24961 ccagctatthc aggaggctga ggcagaagaa tcaactgaac ccaggaggthg gagctthaaag
25021 tgagccaaga ttgtgccact gccctccagc cttggcgaca gagcgagact ccgtctcaaa
25081 aaaaacagaa caaaacaaaa agcaaaacaa aaaaaatgac gagthaatgg gtgcagcaca
25141 ccaacatggc acatgtatac atatgtaaca aacctgcca thgtgcacat gtaccctaga
25201 actthaaataa aaatacatat atatathaaa aaaaaaaaaa cccttacctg caagctatthg
25261 tggaggthcag gagthaaagth ttagatgcc gatcctcctt gctthggthac cagthttggth
25321 tcataatata agthgtgthtc aggggaatct thtctctac ccatcttagg thttccaact
25381 gaaaccttht aagthtagact ggccaaagac thgathaaca gagaaaaaca agthctactta
25441 caagthtcgth gtctgtgtac acacaggaac actaagaggt gagthaacca aagggthggt
25501 tagactgggg gthaaatacc atcttaggct aaaacaaaaa agaaggggth ggggctthctg
25561 tgtaggggag gcaactthtg agaagthaac caggaaaagg atggthaaaca agaggtgtht
25621 agthaaagth gtthgtgcaga atthaaagthc ccctthtctc tctgatgagth agthaaagth
25681 cthtctcctg ggagaaggag acacctctac aatcctthac aaaaggaaaa cthtagactct
25741 gthththtagac cthtctgthca tctgctggth ctcaatagcc thcagctcaa aataattata
25801 tgccaaagag gcatatthgg gthggcatat tctagthacac thtagcaagca acatcctaga
25861 ctcaggththc cacatthttct thccccatct ccactgccat ctctccctct gaaacctatc
25921 gtatgcacta tggaccccag cctthgaaac acaatagcc thtctththtt tgacctthaa
25981 atgcaaaaga ctgactacca caagthggaga gthaggagaa gaattcaagc ctcaaggcaa
26041 gthcctacat ctctccttag atctgatgag atthagaacac agctthactct ccgacagggg
26101 thcaggaatc thgcaaatagth tcaaggagth accagthcct gggaaacaaa actaaaactc
26161 tagacacctg ggacccagcc cagactgact aaaccagagc agggcagtht thaaagctcc
26221 ccaggatcct caagthgcagc caagthttgag agccaccagc cagaggaaga acagaagagg
26281 aaththththt gtgthgtthaa ggagthccaga ctggaagcct ctgaaagctth gthagggaga
26341 agaathagthaa gathagthcat ththgaaagat cctctggcag ctggccatgt ggaggthgca
26401 taggaaagga acaaaagagag gagatgggth acgagatggth taggthaatg caggtgagag
26461 ccatctgggc thgagccaac ataggggthg gaggagthagg aagatgggaa thaatctgag
26521 aaaggcgaag gtggggatthc aacctcaca tcaagcaagg thtatgctthc cactthththt
26581 thththththgaa aaggagththt gctctthgtht cccaagctgg agthgcagthg caagatctcg

26641 gctcactgac ctcagccttc caggttcaag caattctcct gcctcagcct ctcaagtagc
26701 tgggattaga ggcacctacc accacatctg gctaattgtt gtatTTTTtag tagagacggg
26761 gtttcacccat gttggtcagg ctgggtctoga actcctgacc tcatgatctg cctgcctcgg
26821 cctaccaaag tactgggatt acaggtgtga gccaccgtgc ctggccactt tccacttttc
26881 tctgctctcc agtttctgct gtctttaagg cagttcccag aagaactgga gtttatgttc
26941 acaccaagca gagcagcagt gtctcctcat ctttgagggc cagagacatc tgcttgcac
27001 actcagcaaa ggcaactatt agtgctaagt aattctaaca gggctatggt agggtagaca
27061 gtttcttggc actttttaa aataatttta atttttgtac ataatagggtg tataatatta
27121 tggagaacct gagatgttt gatgcaagca tgcaatgtga aataagcaca tcataagaaa
27181 ggggtattca cccctcaag catttatcct ttgtgtcga aacaatcaa gtatactctt
27241 ttagttattt taagtgtaca attaacttct tattgactat aggcaccctg ttgtgttctc
27301 aacagtagg tcttcttcat tcttcttagt tttttttgc atgcattaac catccccatc
27361 tctccccacc caccaccag cccccgaata gctttcccag cctctgataa ctatccttct
27421 actctctata tccatgtgtt caattatttt gattttttaga tctcaciaat aagtgagaac
27481 atgcaatgtt tgtctttctg tgcctggctt atttcactta acatgatgtc ttccatgtcc
27541 atccatgttg ttgtaaatga caggatctca gtctttttaa ggggtgaata gtactgcatt
27601 gtgtggatgt atcacatttt ctttatccat tcatctgttg atggacactt aggttgcttc
27661 caaatcttaa ctatcgtaa cagtgtctga aaaaacatgg aagtgcagat atctcctcaa
27721 gatattgatt tcctttcttt tgggtatatg tccaacagtg ggatggctag atcatatgat
27781 gggfactttt atctattctc aacttcacia atgtttgtca catagttacc ttactaaggt
27841 aaaagaaaag caaatttatg ataatttgat tattaaciaa tttctgctca tgattaacat
27901 tcttgtagct aacttaaagt ttctgggaag gaactctgga gattaaactc agggattgat
27961 tttttttttt ttccgttttt gtccctcttt cctaacagtc tcaaaggag aacgaccat
28021 ttcccaattt acttgataga agtccctaaa ctccggagcat cgagtgtgag gctttggagc
28081 tgcaagtgcc tgagcttggg tttcaggtta attgtggctc cagatgtctc catctaacca
28141 atctaagaat cccatgttgg gctggaaaat gcgtctggag agtaggggac ggtatttgct
28201 gctcagttgt taggtatgat atgctgtgcc ccctagaggc attaaaagtt tctcttcta
28261 gctgaccctg ttagttccta tttcaccatt gcctgaagcc acaggaaaat gtttctctg
28321 tctgagaatt cagcaacaat gatggctacg tctctttttc acctggaaaa gcttcaccta
28381 ctttgacatc ctcatcttat cagacatttt agcagcattt gcttcagtga accaccctt
28441 tcttgttggg actttatctt cctaagttct gggatgatga tattgtctta gttccctcc
28501 tctctctagc tgctcctttc aatctccttt tcggcttttt tctcccaaga gactaaatat
28561 acaaatggac aatggccaca tgatatataa atagaactat gactcacagc ttgcagctac
28621 ctgccaggaa cccaaccct ttatctacia taaacaaccg gaagccagcc tgctataagt
28681 cagactcata gaaagccgga ctgctatctc tagtaacaat tcaggaagtt aaataaat
28741 atccataaca gttggccac aatgaccagg acttgattaa taactgacag ctcccctaat
28801 ttttgtcttc actttaattt taggaccaac cagagaaaac caaatatgca tccctagcca
28861 attccatggg acaccctgcc cctaattagc tcaccctaggg cttcgccatg ccaacagact
28921 cccatcaggg tgcacctgca gccttccctt cctttccact gtgaaagaaa acaaaatcgc
28981 aggaccctaa actcactatg ccaaagggaa agttaagctt gggaaactgag tcatgcaata
29041 ctgcctttct tttgttctca aatagctgta atttcaaac cctgtgtcat aacgtcatac
29101 ataagccagg ttcccacaaa gataggaggc cacatatctc cccagatggc cttcttcaca
29161 aattgctcac aaggaaattc tgtgtgagcc ctaaacttta taggatacat atcccccta
29221 taagctagcc cggaaactga gttctgttca atctcaccct aacaatgtca attacaagtt
29281 tatcttcaca ggtaagagga caaggacaag accagaaatc atcccttcat ccaccctgag
29341 ataaatgcat cattgacttt tccccatact tcctcttttc acgtgtttgc tttattttat
29401 gtaaatgcc aatttactga gcgttaatca gaacctcaca ataatgttac catttgctc
29461 actgcccacc ctccctcgct tttttccctc ctgtctgttc tttgcctttt cgacactgaa
29521 ttcccaaaac cctctttgga aagcacaggt catagatgtt cctgtgactc gagtttttc
29581 caggcacatt ctcagccttg gcgaaataaa ccgctatcaa ttgagacacc tgctctgtc
29641 agtttttggg taacatcact gtcaaacctt cccactcttg ccttggagtc tctacaaaa
29701 tgtaagtgat ggtgacgact cccttgttac agtataccct gaatatatag cttttgtttt
29761 cttatgtgg ttggccttta ttatttatgt tcctgtcct ctatgaaact ctaaccatcc
29821 caggacttga tcctcagacc tctcttctct aactaccctc ctccaggggtg ggggggcccc

29881 attgggtccc atggcatgaa gcaacatcaa tatgctgggtg acatccaagt gtatatcttt
29941 ccagtctgac tcctctttga gctccagatt ccacatacct ggtcacatct agacttggat
30001 tttttttttt ttttttgaaa tgaggtcttg ctctgtcacc atggctggag tgcagtggca
30061 taatcatagc ttgctacagc ctcaacctcc caggctcaag ccatacctccc acctcaacct
30121 cccaagtagc tgggactaca ggcattttacc attacagcca gctaattttt aaatgttttt
30181 ttgtagagat gaggtcccac tatgatgccc aggctgggtct caaattcttg gactgatgcg
30241 atcctctcat ctcagcctcc cgaagtgctg gaattacagg catgagccac ctcaccaggc
30301 ctagacttgg attgtgaaag gcatctcaac catgacacat tccaaaggca aacttcttga
30361 ttgaaccgac aactttgctt agccagcccc atttctccac catgctttct accctagtta
30421 atgggtgccag ccttcacaca gctgctcaaa cgggccctgg ctgttcttga ttcttcttct
30481 ggctcttgg actccgccat gttattcaga gccatttggg gacttctgac agctctgcct
30541 caaaatgctt ctcagatctg tttctctcct tctttcccct ctacagccag actggttcaa
30601 gccccatcac atctcatgtg gaccatgtgg gtgctcagtg catgctatgg agtgaatcag
30661 cagtgggggtt gtttcctcat tgacctcaa tatctgactg ttctcagtggt ttctaagag
30721 tcctgtcagc aaatgtaatt tatcttcaag gaaactttgg gattacatgt cttttttttt
30781 tttttttttt tttttgagac ggagtctctc tctgtcacc aggccggact gcggactgca
30841 gtggcgtaat ctggctcac tgcaagctcc gcttcccggg ttcacgccat tctcctgcct
30901 cagcctccca agtagctggg actacaggca cccgccaccg cgcccagcta attttttgta
30961 ttttttagtag agacgggggtt tcacctgtt agccaggatg gtctcgatct cctgacctca
31021 tgatccacc gcctcggcct cccaaagtgt acatgtcttg aaagatatga gattaacaag
31081 gtggggctgg tgaaatgcaa aggtcattag tcttcgagtt agaaccactt ttaaagaag
31141 ccaacggctt caaagactaa tgatctatgg gttcattcat cctcagcaac acaaaggata
31201 agtattgatg gcaaaatgct tgtaattct cctaggctgt tattgcacta tacaatatta
31261 gttacatggt cttatagagc acacactcgt gtgtgtgat acatatatat gtatttcaaa
31321 actagaagca gttatagaga aatgtcatgg ttaccctgt agctgaacc aactgtatca
31381 caacttaaca ttttgcaata tgttttttgg atttttaaat atatatacat gcaacagtat
31441 aggtagaagt tggtcaggca tgggtggctca tgcctataat cccagcactt tgggagacca
31501 aagcagggtg atcacctgag gtcaggagtt cgagaccagc ttggctaaca aggcaaaact
31561 ccatctctac aaaaaataca ggtgtgggtgg tgtgcgcctg tagtctcagc tactcgggag
31621 gctgaggcag gagaatcact tgaatctggg aggcagagct tgcagtgagt cgcaatcatg
31681 cgaccgcact ccagcctggg caatagagtg agactctgtc tcaaaaaaaaa aaaaaaagt
31741 gagtccccct cctcaatttc attttctttc ctctctttgc agagataact gctatcatga
31801 atttggatt tataatctca agtgtgtttt gatacttagg ctaaattttg taagccata
31861 aataagaaca tagtttgttt tacagaagg acgtataaaa aaagtagtct attttagtta
31921 ttatttgaca aattactttt ttaacattca acattgcttt gtttatttat ttgttcattt
31981 atttattttg agatggagtc ttgctctgtc acccaggctg aagtgcaatg gcacgatctt
32041 ggctcactgc aatctgtgcc tcccgggttc aagcgattct cctgcctcag cctcctgagt
32101 agctgggatt acaggcgcgc gccaccatgc ctggctaatt tttgtatttt ttttttgaga
32161 cagagtctta ctctgttgcc cagagctgaa gtgcaatggt gagatcttgg ctactgcaa
32221 cctctgcctc ttgggttcaa gcaattcacc tgcctcagcc tcctgagtag ctgggattac
32281 aggcccatgc caccacgcct ggctaatttt tgtattttta gtagggacag ggtttacca
32341 tgttggccag gctggtctca aactcctgac ctctgtctct gccgcctcg gctcccaaa
32401 gtgccaggat tacaggcatg ataatttttg tattttttaa tagagacggg gtttcacat
32461 gttggtcagg ctggtctcaa actcctgacc tcaggtgatc cgcccacctc ggctcccaa
32521 agtgctggga ttacaggcat gataattttt gtaattttta gtagagatgg ggtttcaccg
32581 tgttggtcag gctggtctca aactcctgac ctcaggtgat ccgccacct cggtccca
32641 aagtgatggg atgacaggca tgagccactg caccggaca tattttttaa tttttttaa
32701 caacattgct ttttagattg atccatgttg atatacacag ttctgattca ttctgtttt
32761 tatcattaag tttattgaat tgtacagaaa agtgacagaa ttatgagtg catttcaatt
32821 aattttcata aattaatact tattaattta aggaaacaaa aatataacca ccaattgat
32881 ttgagatcga atgttaatag taccacagaa gccctcatg tgacatcatc cagtcaacgt
32941 ctgttccact tccccagtg aaacaatttc ctaagctctc gcgccatcgc tgccagttt
33001 caaactcttt atgaatggag ttggagcttg caggctgtgt ctggttctt ctgctcaatt
33061 ttataactcaa gagactaatc tttgcttttt ttgtgtagta gtgagcagtt tgcttattta

33121 aatTTTTTaa aatagatTTT atTTTctaca gcagTTTcag atTTTtagaa acgTTgagaa
33181 gatggcacag agagTTTcTT tTTTattatt attatacTTT aagTTctagg gtacatgtgc
33241 acaatgtgca ggTTTgttat atatgtatac atgtgccatg ttggTgtgct gcatccatta
33301 actcTTcatt tacattaggt gtatccccta atgctatccc tccccccatc ccccccgcca
33361 acaacaggcc ctggTTatgt gatgTTcccc tTcctgtgTc caagtgTTTT cattgtTcaa
33421 tTcTTTcaat ataCTTcaca tccagTTTcc cctattatcg atatcTTaca tTtgTTacaa
33481 tgaacaaaat aatgacCTgt tattaacaaa agTTcataat tTtgTTcTTT cagTcTTTc
33541 tTaatgtcTT tTcTTcTgt tccagaatcc cacattagat ttagTTgtca tgtcTcTTT
33601 ggcacCTgct gtctgtggca gTTTctccga cTTTcTTcT ttagatgcat tgaggTTcT
33661 gaggactgct taggtatTTT gtagaatgtc ccactTTTgg aatTTgCTg atatTTTcT
33721 cattagaaaa ctggggTTgt aagTTattgg aaagaaaatc acagaggTga agTgctatTT
33781 tcatcccTg atatcaagcg tacctactgt cagcatgatt tatgagTgcg gaaggtagcc
33841 ttggTgcCT gCTgagTgg cGctgtcag ggTcCTccac tGtaaattT cTcTTTcT
33901 cccCTTTcT atattgtaca cTTTgggagg aagTcattat gtacagctca cactgaagga
33961 atggggagTT tgattcTTc tTcTTgaaga cagagTacct gtgTaaaata tatggaattc
34021 tTTTgTaaGa gagattTgtc tctgCTcCT catttattaa tatattTaaC catgtattT
34081 taccatgcat atTTactTTa tactgtaggT tataatccaa tactactTTa ttaccgcaa
34141 gtgTTccagc tTtgGCCatt gggaaCTcTT ttagCTggca tctgtgCTcc tTtgacagac
34201 cctgatcaat gTTTgTTTg gTcCTgTTT gTtCTtgagc acCTcCTTc tTtCTggcac
34261 taccagatgc tTtaggCTca tCTTggatAT tTcCTgTcc agTcTTagaa acagccactT
34321 ctccaaagaa tCTggtTcg tTtaaTgga gaatagTatt agaaaccaag atacggTgct
34381 gtgcagTTT gctgtTactg ggatgtcatt tCTTcaggc tgtTtcaggg acagagcaag
34441 aaacacacat gTTTataCTa tatcatgtat atatgcatat ctataaatac tTctatagat
34501 aaccatcagc cTcTctattg agctaaatat gagtccacac tGctcTcTcc aactcaaTc
34561 catcactgca tgaatgattc tTtCTcCTcc tGctTTTtga taaacagcca ctccagTggT
34621 gagaaacCTg gCTTctacca tctgCCatcc attcatgTaa ttgTtccatt ccagTataaa
34681 tacatagcaa taacagaatt gTtaaccagT acCTctatgg gaaacaattt tTtcaactag
34741 agtacagTgc tcaatgCag tTccCTTtgc cTTtaatcTT ataagcCTca cTtattTcca
34801 aaataCTTca gtattcTTcT cTtccCTcCT ccgaccatc cTtCagTga gagTgTtcc
34861 tatattTgTa atacagTtag attcTcTTcT catggtcTgc attcTcTcTT gggatcccc
34921 aacCTcTtaa ataattTtTc aaaattTgca tTcattaagg tTcacCTTtG gtgcatagg
34981 caatgcaacg caatatCTa tatccaccat tTaaataatt ctactgCCct aaaattTtTc
35041 attacaataa tCTTactgCC ctaaaaatta cctgCagTtC acctattcac cTcTaccCT
35101 ccacCTTaaC cctggaactc actgatcact tTcGagTcTc tacagTtTtG cattTtccag
35161 actattatgt aattggaatc atataatag tagcCTTtgc atactggCTt cTtataTat
35221 atatatgtat tTtattacac tTtaaGtTcT agggTacatg tgcacaacgt gcaggtTgt
35281 tacatatgTa tacatgtgCC atgtTggTgt gctgCacca tTaaCTcGtc attTacatta
35341 ggtatatcTc cTaatgctat cCTcccccc cTccaccCCA caacaggccc cggtgtgTga
35401 tgtTcccCTt cctgtgtCCA agTgtTctca ttgtTcaatt cccacCTatg agTgagaaca
35461 tgcagTgTtT gTtTtctgt cCTTgcgata gTtTgCCgag aatgatggTt tccagCTTca
35521 tccatgaccC taaaaaggac atgaaCTcat cattTtTatg gTtGcatagT tTactgggTa
35581 tatacccaaa ggaatataaa tcatgctgct ataaacatac tggCTTcTTT cacttagcag
35641 tatgcattTt agattcCTcc acaactTTTc atagctcaat actcattTcT tTtattgca
35701 gaattatatt ccgtattCCA ctatatagat gtaccacaac ttgTtTattc attcagctgt
35761 tgaacagaat cTtagTtGct tccagTtTtT ggcaattatg aataaatctg cTtTaaacat
35821 ttacatgCag atTTTtTtTat gCGaacataa gTtTtcaaat caattggata agtatctagg
35881 agcacagcag atggattctg tactaagact atatttagtt ctgTaaaggg cagccaaact
35941 gtCTTtcaaa gtggctgCac cattctgcat tcccaccagc gatgagcaag agTtCctgtT
36001 gctctgCTc tctgtcatca tTtggTattg tCaggCTtTt ggattTtTaaC cattctcata
36061 ggtgtgtagT ggcacTctgC tattgTtTtT actTggaact cTctaatgac aaattaatta
36121 tTtattcatt tGtTtattTt tTtTaaagat gagctcTcac tatgtTgccc agTctggagT
36181 gcagTggcCG tTcacaggca catcatagcc tacaatagct tcaaaCTcCT gTtTcaagg
36241 ggcCTcCTg cctcagcCTt ctgaggagct ggtgctgctg tGcccagcCG taaattatga
36301 tgggcatcTT tctatcTgCC attcTatgaa tCTTcCTTgG tgatcTgtcT cTtcagatcT

36361 ttagcccaact ttaaaattgc attacttgct ttcttgtttt ttaagagtt tcttggtgat
36421 tttggataca agttcccgta tcacataggt ggtttgcaa tttttctcc caatctgtgc
36481 cttgtctttt gattccccta acagtatfff tcacagaaca tagtatffta atfftaatca
36541 agtataatff ataaatfftt ttcatgaatc atgctffttg gcttgatfftt taaaactcat
36601 cactaaatfc aaggttacat tgatffttctg cttttffttt tctggaaatc tgaaaatatt
36661 gtatffttaca ttgagatcca tgatctatff cagttagttt ttgtgaaagg tgtaagatct
36721 gagtctagat ttgtffttctt atacgtggct gtccaattgt tatgcaccat ttgttgaaaa
36781 cactgcccctt actccattga atfgtctfftg gttctffttc aaagagaatt gactatagta
36841 tatttggtgag agtccctctc tggcctgtct attctgtffc actgacctaa gtgtctatfc
36901 tttcaccagt actgtgggtg cttccttgct ggagctfftt attaagtctt gaagtcagta
36961 gtgtcagcct tcaactctgt tcttcaatac tgtattggct atffttatgtc ttttgcfftt
37021 ttatataaac ttcagaatca gtttggtgat atgcacaaag tagcttgctg gaattggggg
37081 agattatgft gaatctatag atcaagttac agtgaattgt cttfftaata acattgagtc
37141 ttccaatcca aggacatgaa atatctctcc atffgtfftc atffgatttg atffctffca
37201 tcagagttff atagttffct gcatatagat cctgtatag tffttgtaga tffctacctg
37261 agaattaatg tctffctctc tffctffggf actattgtaa atgatattgt gctfftaaat
37321 ttgtatfftt aattgttcat tgatagtata taagaaagcc atfggctfftc ctgtatcaac
37381 cttgtatffct gcaacctgfc tataatataa tcactattat ggactgaatt tgtccctcca
37441 caaattfcatt atgttgaaac cctaattccc agtaccctag aatgtgactg cattgggaga
37501 tgtggactff aaaaagtgat taagttaaaa taaggcctct aggggtggacc ctaattcaat
37561 ctgactggtg tcctctaag aagatgagac aacagaaag agacaccagg gatfftcata
37621 cacagagaaa aggccatgtg aggacacagc aaaaatgtgg ccatctgcaa gaggaggaga
37681 gaggcctcag gagaaatcaa acctgctgac acctgacct tgaacttcta gcctccaaaa
37741 ctatgagaaa ataaatffaa gtcattffaac tcaccagtc tgttgatfftt tgttattggc
37801 agtcttagta aactaataaa atcacttatt agttccaaga aatfftagtt aatcttggg
37861 atffttctaaa tagacaatca tgtcattffgt gaaaaagaca gttffatfftt ttcctffcca
37921 acttgatggt cttffatfftc cttffctffgt tffttaacac aagctagaac ttcagatata
37981 atgttgaata ggagttgtga gagggacatc ttggctaat tcctgatctt aaggagaaaa
38041 cattcagttt ctcaccatca aggatgatgt tagctgtagg tffttgtaga tgtgctfftt
38101 gaagttgaat tcctagtttg ctgagagttt catcatgaa tgggtfftga tfftgctatg
38161 cttffctctc atcaattgat ataatcatat gatffttfftc ttcagcctgt tgggtggtg
38221 ggttccatta actgactctc aaatgtffaa ccagcctfc atacctgaaa taaatctcac
38281 tcatttggtga tgtataatfc tffttgtaca ttattgtatt tgatttgfta atatffgtt
38341 gtgaatfftt gcatccacat tcatgagaga tattagtctg tagttfcctt ttattgfaat
38401 gtctgctctt ggtattagga taatgtffagc ctcatataat gaattaggaa gtgttccctc
38461 tgcttctatt ttctgaaaga gactacagag aattaatfc actatffttt aaagtgttag
38521 atagaatffta ccagggaaac caggttagct tgggtgcttc tffttggaag tctatffaat
38581 attgattcaa tffatctaat aaatatgggc ctattcagat ctatffttcc ttgtgtgagt
38641 tttggtagtt tgggtctfftc aaagaattgg tccattfcatt caaagttctt caaattgtg
38701 agcataatgt tgtffttcagt atffttffaat gatcattffg ttgttcatgt gatcagtagt
38761 gatgactctc tffcatatct aatgttggta atffgtgtct cccgffttff gttcttagcc
38821 tgactagaag tffgtcaatt ttattgatgt tffcaaagaa ccagctffttg tctffgtcga
38881 tffctffcac ttatffctta tffttffaat atffttctta tffctffttt tffctatffg
38941 ctttaggctt aagttgttct tctfcagttt tccatgctga aagctgattg ttaatfftag
39001 atctffctc atffctffaa tatgcattff atgctacaac tffctctcta aacctgctt
39061 ttgctgcatc tcacaaatff tgacaacacg tattffttatt ttcattffag tcaaaatatt
39121 ttaaagttta ccttgagatt tcttctfftg ctcatgtgtt atffaggtata ttgttcaacc
39181 tccaagtagt tggggatfftt tctctffttat tffctgtcat tgatffctag tffctattcc
39241 attgtggctt gagggcagac ataggatgat tffgattctt ctaaatfftc caagtgtatt
39301 ttatgacgca gaatgtggtc tatctffggg agtgttccat atgagcttga gaagaatgtg
39361 tattctgctg ttgttggatg acgtffttaga tgaatcagat ccagttgatt gatgggtctg
39421 ctgaattcaa ctatgttctg actgattfftt agcatgctgt atctgtctgt tctgtffaaa
39481 gtagtgttga atagttgatt catctatfftc tctcaagtt ttaccaactc tgtaatgftt
39541 ctgffttgfta cacttgtctta tggacttatt atffcttatg cttfftagat taatgaagta

39601 tttttctttg tttcatatth cccattatth attatacat tctttcatta ttttagttaa
39661 aacattagag attacagaac gtccttgaa ttattagagc ctttattttg ccttcatttt
39721 taaaggacat tttcattagg tatagaattc taggtgggta gttattttct ttcagcactt
39781 taaagatgcc atttaatttt ctatagtatt caatcttct tttgagaaat gagatacagt
39841 atctatctta ttggtgattc ctgtatatct tttccctc tgtctgattg taagattttc
39901 tctttatttt ttgttttcag cattttaata tgatgcaact agaaattctg attttcctta
39961 aagtaatttt tcttgaagtt ttaaatactt ctttcacca tggcttcatt tttaaaatca
40021 gtttttgaa aattctcagt ccctatctct tcaaataatca cttctgctct gttcactttc
40081 ttctgtactt ctcagcctct aactgcactt ctcttaatcc ttttccttac atctcttata
40141 ctcttttttt gtatttttca ttatttttct cttgtgtttc accctgaata tttttaactg
40201 acttacattc taattcataa ataatttctt cagctgtgtc taatatgtta gtaaatccat
40261 ctattgaact gatacttttt atagattcca gttttatgat gaagctctat tcataaattg
40321 actttggaag ttcattgttt ttttctagaa aaatataat cttattttaa tcttcaaatt
40381 gtgttccttg agtagctttt catctagtag ctcttctct ctttttcatt ttcatttttg
40441 ctaatttttg tttttaaatt tttgtttaat ctactttct tagtttattt catatgtctc
40501 ctttttttag ttaaaactat tttctatcat ttttcttttc aaaaattcat ttaatgctgt
40561 caatttacct ctaagaacca cattagctgc atccagaaa ctttcatata tagtattttc
40621 tatggcattt agtattttat tgtttctaaa atgttttct ctctaacca tgggttaagt
40681 agacatgtac ttggtttttg gttttcagat atgtgaagat ttattgacca taaatttact
40741 gctgatttat aacctaaact cattttgatc atagagcaa gcacgtatgt aaaactaata
40801 tttaaaatgt tcttgagact tctttcatga tctagtacat ggccaaatgg taaaaaagt
40861 tccgtgaaca cttgttaaaa aaatgcatat tgtttattgg ttgggtgtag tgctctctct
40921 atatatatat ttaatgaact ttgttaattt catcactcaa atattctata tgcttactat
40981 gttggggagg gcagatctac cagttgctga gagaagtgtg ttaaattggct ccctacaact
41041 cagttcccct taagggaatt gataagatag atagatatat caatgtctta taaatctgcc
41101 aggattgctt tatatttgct gagtctgtat agttaactac ataccataa ttgtaattt
41161 ttcctagcag actgtttcct tttattaaat tgggtgatct ttgtatacta ttaatcacct
41221 gaatttttac tttgtcttgt gttaaatattg ctacctaga tttctgtgtg tttagccttg
41281 cttagtattt ttttattact taattttcaa cttttcaatt tgggtttact tcaaattgat
41341 atcttgtaag cagcatataa ttagatttta tttgttatt caatgtaatc atgtagtct
41401 tttgtgtgct tattctattt aaagatatta tgattattga tgtacctgca tatattttta
41461 ccatgttaca ttttgatttt tatttcacaa ctttttctct taaagtattt tccctccta
41521 tttctcattg gtgtgagaaa ccattctatt tccctttta tttacacaaa agaatatatt
41581 ttgttgcttt gcaacttata gattacttat atccttttg taattatcta taaaatttta
41641 gcatacttag taaactatga atttcctaca aaatttctgt tgttaaatat ttctgttttc
41701 tccccgatca catcaaggac ccagaaaact ttcttctgt ggactttcac ccatttaact
41761 catcttattc tttaaaaaat tccaaatcta attattatta ttttgttaat ttaatggcta
41821 ttaaaattat taatattggt tatcagtttc agtaattatt attttacctt tcaaaatttt
41881 tattttattt ttaattgact accatttaat actgactttc acacattccc ttctgtcctc
41941 ttttcttatg gctgaagtac aaccgttagt ataatagga tacatttttag caaatgtgaa
42001 ttgttttcat ctatgaaatt ctgaaaatct ctttagtttg tactgaaaca atgtgctatt
42061 tctatgtaaa aacataatcc taatctttcc tttatctttt ataaaaaatt caactgaaat
42121 tggatcataa attacaggta catttggtta caaaatgcac agatcaacc atcacgtagg
42181 tattaagccc agcatccatt agctattctt cctgatgctc tctctcccc ttccctgaca
42241 ggccccagtg tgtgttattc ccctcacgtg gccatgtgtt cttgtcattc agtcccact
42301 tataaatgag atcatgcagt gtttggtttt ctgttctctg attagtttgc tgaggataac
42361 ggcttccagc tccatcggtg tccctgcaaa ggacataatc tctttccttt ttatggctgc
42421 atagtattcc atgggtgtata tgtaccacat tttctttatc cagtctagca tttaggttga
42481 ttccatgtct ttactattat gaatcatgct gcaatgaaca tatgcatgtc tttagaatac
42541 aatgatttgt attcctatta cacatataat aggaatagca tgttttgtat tctattttta
42601 tgtatatata atagaatgat atatataacc agtaaagga ttgctgggcc aaatgggtatt
42661 tctgcctcta gatctttgag aaatcgccac actgtcctcc ataattgggtg aactaattta
42721 tattcccacc aatagggtaa aagcattcat tttatctgc aatctacca gcatctgttg
42781 tttcttgact ttttaataat agccattctg atgggagtga gatggtagct gatgggtgtt

42841 ttcatttgca tttctcta at gatcgggtgat gttgagcttt ttttcatttg tttgttggct
42901 gcatgaatgt cttcttttga gaagtgtctg ttcattgtcgt ttccccactt ttaaatgta
42961 caaaatgctc ctttagctca gtgacgttca ttattagcca cttctgaag cctacttctg
43021 tcatttcagc catctcagcc tcagcctagt tccatgccct tgctggaaag gtgttgcagt
43081 ctttggagg agaagaggca ctctggcttt ttgagtttc agcgtttttg tattgattct
43141 gatctgtgtg ggcttatcaa cttttgattt tcgaggttgc tcaccttga atgggggttt
43201 cctggttgat gttgtcggtg gtgctttctg tttgtttgtt tgtttttctt ttatcagtca
43261 ggtcactctt ccgcagggtc gctgtgggtt gctcagggtc tgctccagac cctagtgtcc
43321 ttggtttttc ccataccgg aggtatcacc agtgaagtct gcaaacagc aagatggcag
43381 cctgctcatt tttctccatc ccaggaatgt actgacatgt tgctgctctg atcgtcctg
43441 tgggaggtct ctggagacc ctgttgggag gtctcacca gtcaggagga acgggatcag
43501 gggcccactt aaagaagcag tctggctgct ttttgttaga gcagggtgtag cgggtgtgct
43561 gcattgaggg gacccttct ccagaccgcc tgaactctcc agagccagca ggctggaaag
43621 actgagtcca ctgaaactgca gcgacgtcgg ccacccttc tcatgggggt ctccgtcca
43681 ggagagagca gagtattttc catataacc tggctggagc tgctgaaatt cccacaggga
43741 ggccccacc agtgaggagg attggatcgg ggtcccactt aaagaagcag tctggccacg
43801 atctggcaca gcacctgtgc tacacgttgt gggagactcc tccttgtcca gactgtctgg
43861 actccccgga gctggcaggc tagaatggct gactcaactg aaccgcagag atgggtggctg
43921 cctctacca cgagagctca gtccatctca ggctgactcc aggctgtcac cactggctgg
43981 caaaaattac agtgggcctt aacctgtgag gtgctgtgta aacggggcct gcaaagcaat
44041 gctggttggc tccttgggtt cagccccctt cctgggggaa tagatgaatg gatctcctgc
44101 cttgctggga tccttgggc tggagtatgt aaaattcctg ggtctttgtg tgtgcctgag
44161 tggccgctct gccacgactc tgcacagctc tgtgtgtcgg acccaaggcc ccggtggcat
44221 gggctcatga agggatctcc cgatctgcgg gttgcgaaga tccatgggag aagcatgggt
44281 ttccgggtgg tgtcgcacac tcaactcact cttcccttg ctgggggtgg gcttcccttg
44341 gctccgtgcc gctctcgggt ggaccatttt ccagcctgc ttttcttcat tctccatagg
44401 tctagtgtgc tgactagtcc gactggggcc gagaatctgg atattttagt tgaaggtgct
44461 gaattcactg gctgttttca ttctctcca tgagagccgc ggactgcagc agcagctaat
44521 cggccatctt ggcccctcaa cttattttt ctaaacctt ggtccctagg cagcagtgag
44581 gactgtctt tctttcgggg cccacccta gttcctgact ttaagcaagt acttggttcc
44641 tgtctgccat cttgggtggg gcgtcttggg tttgcccagc agaggccaaa ctccctgctg
44701 attttagaca aagagcccag taggtcagag gcttctggca gtgtctcttc tgcttctgtt
44761 gagccagaca tctcttttta gctttctatt ttataccta cctgtcatgg ctttgtgttc
44821 agagctgaga gatcgatcaa agcatgaact cattgagctg tcttggcccag aatgttcttc
44881 cctatctttc ttattttcaa tcaactgct tgttgagag ggatttaaag aagctgtttt
44941 acttcatcac gctgacactg agtcaaacag agcgggcatt cttctcatct gagtgacaaa
45001 tgagaaaaac aagaaataaa gagctaaaag tacctcagct caggtttagt ggttgaagg
45061 ctactgtcag agcctgagtc ccatgcaggg gtgcagacc ccatctcagt ttactcttg
45121 ggccactctt gctgccaaga gaaatgggac actgagcaat catggcattt gtcagagata
45181 attcccttgc ctagttacc attgcttatg attcttggg catcttgtga cttctagaag
45241 gacaaatcag aggagaaaag gtctgatctt cttctgtggc aacagatttt aatttagata
45301 ctgtcattca cacttattcc tctgtcttac cttcctagtc caaatttcca gcccccaac
45361 attccactga attcaattag actgatgaaa tgttactta gctctgttgt gctcaggcac
45421 cccagggtgg tagaaggtgg tttacaatta gtccagggaag tgggggatcc ccaaatcat
45481 ggatagatga gtcaccagt atccacgtga gaaatacctg tgaaccctt tttatgtact
45541 gggcaacttt ctggtcacag tagagagctg aaaggccaat cttttgatag aatttgttcc
45601 ttgggagctt acagcataga agagctgatg tggatcatca cggccaatat gtgaggtgga
45661 aatgacgta gaaaattgaa cacccaaaga aagatggaag aggatctgac tgggtcagga
45721 aatcagcctg gaaactgtc agattcctag aaaaagtga ttcaggctga gctttgctgg
45781 gggcttcaag gatgaaaaaa gaggaatagt tctaagagca atgtgggtcc caagtggtg
45841 gtcagagggg ccaccctgct gctgttggag cctatacatc tgtcccagca ggcagagatc
45901 acctctgcca ggaagtctt ggagatgtgg gtgggggatg tgttgggtgag aggggggtg
45961 ttaggcattt tagctctgcc ctgcatggtg ggcaattttg gacatacatt tgattaatgc
46021 cttataccct gtctgtatag agactcagta aatactgaat tgaactgact agacacaaa

46081 ggcttattga gaaaaaaatt aaggaaagag gtctaagttc agattagacc attacttaga
46141 ataagaattc aatttgaaaa tcatggttgt catcaaaata ttttatactt aagcattttt
46201 ttttgaaatt tgcttttcta aagattttat ttgaatatgt ttccttcat ccttcttga
46261 gtcattgctg atactccctc tgctatatcc atttattcat ttaatgcca tagaggacca
46321 tgccaacca catccatcca gacttccagg cctaaggttc tggttgaaat gacacagaaa
46381 ccatggcaat ggctatggac agtccctgtt ctagaagggtg accttcacac acattcccac
46441 aaaggctgcc tgtgcttgtt ttaaattcag ggttaccaat atccttccat ttcagggact
46501 tcaaccacaa gagttcttct atgttatcag gaattggagg tacaccaaaa taatatcaaa
46561 tatgcaagga actaaagaga tgctaattctc attcctgcat ctctgggttc tctggctggg
46621 taaaacaccc agcatattgt tacctttgcg attaaaaat ccacagcatt taaaaggatt
46681 atacctatgt cttcgtaaac taggctgact gaggtttaa aaaaaaacat aaaggcaatg
46741 tttatcttta aatatcaaac attgtgcgag tagatttagt gttctttcct acccatgaat
46801 aacattccag actgtaatta atttatccat gttcctatca gcacaacatt attctgggac
46861 aaaaaggggg tggagagtga cagagggggg aggaacactg ttatttcttt tggaaaagct
46921 ttcttaattg gatttgtgct cttttcataa caatttgaag gttgtgggta tttgtcaact
46981 tcaagggcag ctgtaatgcc caaactgtgg gtctacagcc aactgtgtct catcttcct
47041 ggggtgacttg aggggtgtgt gaattagtgc caatgacctc aagacctggg cagaggcaac
47101 ctaaagacc acattaatgg acagtcttgc tatccaccag tcaggcagca ttcagtggca
47161 tttttgggc acagtacaca gtagaccat gaaattgatg ctacacagtt gagttgtct
47221 aatggagaaa acagtccttc ccctaaatca ggggttcta atgtggcagc cacgaattgc
47281 ctacatatac aggggtctag agagctcttg aattgtagaa caaatgttgc acatgtgtgc
47341 attggggtag gtgggggag gatgggtggag gagagccata agtttttctc taattccca
47401 gaagaatctg aaaaaatta ataaccattg ctctaaaatg ataaacagaa catacatgtc
47461 tgacacagcc aaaaagcact tgcaacacaa ctaattagca aggtcaaagc aattcagtga
47521 ggaaaggagt tctcacgat gccaaaggaa gaaacagcca ggttaagggc tttgcgaaa
47581 ataggtcctg gaacagagta acaaacctc cacctacaga accaggcaag ccgttcagca
47641 caggagcctg ctgagtgtcc ttgtggagga gaatgtggag tagcggggcc tgtgtaaac
47701 tctggtttgc attttgtgta ggaacagac agcatcagca tcagtctctg ccagtggct
47761 actctgccac aagtgggcat gatgtttcta gatcccctga attttgttga agatgagagc
47821 tctcaatttt taaatcttaa aagtgaattc aaaattaaac aaatagacc tatgcttaga
47881 ggctcagagc tggtcagggt gccattgtc atacctttgc tggggatctg agatttga
47941 aagtcctgga tcccgttcag tggcaggcat cagcctgtgc tgtgtaaagc tggaaacaga
48001 ggctagacc gtgaagaagt gtctagaagg gggaaagggt agtcatgtac agtgaatgga
48061 ggcaccttg ctgctgtctc agaagctctg ttagaggggc aagttagtgg gaatgaagtc
48121 ggtgagctgg aacatcctgc agggctcca acaggttgtg gctggtttct ttttgaacc
48181 agagcaatcc tctaggaagt cttaggagaa tgccaggagg ccacacacag cgcttgggag
48241 ggatgcttct catgtatagc acttattccc aggcaaagag agtcctggga ggaaactgac
48301 acaggctacc tgtgaccaag caaatcagac agggaaatgt tggtaaaaga aggaggacag
48361 aagagactgg ggagcaacaa atggctctca gaagacatga atgtgttaag ccacctatgt
48421 gggatgggga tcaacctgtg gacagcaccg gcagggcggt gtgttgacac accagatggt
48481 tgggtggggt ctctttcagc attctgttcc ccatcacctg tcaactggcg gggcaggata
48541 gggacttcag gacccctgga ccccttagac tttctcatgg gggggaaata gtatgctttt
48601 agcatacagc aacactccgt ttgtgctctg ctgctgctaa agaaagattg tttgccttta
48661 ggggtgtgtc ttgctgaaga tccagaagcc ccagggcaat gagagttgtc cctgaggata
48721 gtagaaacca cagggtaaag gaggtaaaaa gcaacaaagg gcagggcaca atggctcacg
48781 cctgtaatcc caaaactttg ggaggccaag gcaggaggat cactggaggc cagaagttca
48841 agaccagcct gagactcca tccctacaaa aagacttttt aaattagcca aggcatggtg
48901 gtgtacaact gtagttccag ctactcacga ggctgagcgg ggagaatgtc ttgagccagg
48961 agttcgaggt tgcaatgagc aatggtcgca ccactgcaact ccagcctggg cagcggagtt
49021 agaccttgtc taagaaaaaa aaaggcaaca aaagaggggc caaagggcaa ggaatgccc
49081 caggctaaca caggggcatc tggacaccaa ctgaagggca gccagagggga agagtgaaga
49141 actgtccaca tgacccttca tcttagatgg gttacactgc agatctgttc tttctggtaa
49201 caggctgagc ctttcttctt ccactatcct gtgagcagag ttaggaacaa aagcaggaca
49261 ttcaactttc aagttaagac ttgagatttt ctaagaaag gatgagaagt ggctggagct

49321 ttggccttga tgtcacatgc agtgagggtgg gagctcatgg aaaatgaaga taaaccact
49381 gagaggggca gggagccatg ctcgcaaccc atctagcaaa aggaccaaga aaaaaagagg
49441 agggaagaaa gagaaataga gacagaagtg acccaaggac tatatgggct atcattctgt
49501 tatcatcatt atttcaagat caatcatacc tataaaatgg agagaggcaa gaatgaaaga
49561 gtgaagagag aaggaagaag aagaaaacag gaaaaaaaaa agaggaaacc atttcaagtg
49621 catcaaggat aacaaaatac actctttctc atctgtaatc atgtcttttc atttcaata
49681 gaaaataaca actacagcat catcataata aaataattca tcatatgtgg gatagagagg
49741 aagaggagac ataagaacag catcacttac ataagccttt agtttctgac agtgcttcca
49801 tttatactgt cttcaccata accagctgac agatgggtag gcattgttcc aactctgat
49861 gagaataatg ctccctccag ctgatctggg ctgctccaca catgtttacc tggctatga
49921 attgttacta aaagggttac acatcaatgt ttgggtgggac aaacattttg cttcaatcca
49981 ttatccattt ggagatgtag gcaggaggat cctgcatatg tacagcatga ccttgaggag
50041 aagaatccag ggaattttca gataaagtgt atgtaatttt ccttaaatat taaagtacat
50101 agagtttgat atggtttggc tgtgtcccca ccaaactctc atcttgaatt gtaatccaaa
50161 ttgtaatccc cacatgttgc aggagggact ttgtgggaag tgattggatc atggaggcgg
50221 ttcttccatg ctgttttcat gataatgagt gagttctcac gagatctgat ggttttatac
50281 ggggcttttc cttccacttt gctctgcact tctctctcct gctgccatgt aaagaaggac
50341 atgtttgctt ccccttcggc catgattgta agttcctgag gcctcagcca tgctgaactg
50401 tgaatcaatt aagacttttt cttttataaa ttaccagtt tcaggcagtt ctttataaca
50461 gtgtgagaac agactaatac agagttgttg caaaacaaaa aaggaaggaa aacatgaagt
50521 agcataaata agataataaa tctccaatag gcctaccact aatagacaat gttaacatgg
50581 tggttgggtg gcttccttat agattttggg aataatgcct ggcactctcat atttacaatt
50641 taaggccttg agttttgtgg ggtttttgtt ttgttttctg tttttgtatt tttcacgtaa
50701 catgataata taaagatctc ccctgttggg tttttgtttg tttgtttgtt ttgagtcaga
50761 gcttcaactc tgtcgccag gctggagtgc agtggcgtga ccttggctca ctgcaacctc
50821 cgcctcctgg gttcaagtga atctcttgcc tcagactccc aagtagctgg gattacaggt
50881 gccaccacc acgcccagct aaatttttgt gtttttagta gagacagggt tcaccatggt
50941 ggccaggctg gtcttgaact cctaacctca ggtgaccac ccaccttggc ctcccaaagt
51001 gctggaatta caggtgtaag ccactgtgce cggcccatg ttgttataaa ttatttghaa
51061 acattttaag gactccacat aatattctac tatgtagaat aatatcatat gtactacaat
51121 ttaattacct atattttcta tttttggatg ttttagattc agttattgca agtaaaaaa
51181 caaagaactt ttacatgcat aaggattttt ctacagctct gatcctttcc atagaataaa
51241 tagatttcag tctgggcacg ctgactcaca cctgtaatcc cagcactttg ggaggccgag
51301 gcgggtggat cacctgaagt caggagtctg agaccagcct ggccaacatg gcgaaactcc
51361 gtcttacta aaaataacaa aaaatcagca gggatgggtg gccgggtgct gtaatcccag
51421 caactcggga ggctgaggca ggagaatcgc ttgaaccagg gaggtggagg ttgcagtgag
51481 ccgagatcgt gccattgcac tccagccggg gcgacagggt gagactccgt ctcagaaaaa
51541 aaagaaaaaa aaaaaagaa taaatagatt tcacacagtg caatttcatg tcataggcta
51601 tgaacatttc aggactttcc aacgtggcca tgtgggttca ttttgcaccc aactgtagg
51661 gcaatgctgg ttctgcctgg tgcacaggac acatcgggtc accccttggg gggcctccaa
51721 tcaccctcgt ccccatgaga acaccgaggt cgaagcccag gaagaagtga cctgccaagg
51781 aagaccatgg aggcagtgac cctagagaat gtcttctagt cctaggtcag gaacctgcct
51841 ctgcgacccg cctgcagagc aggagcctgg agcctggacg tcattcccta gaagttcat
51901 gggattgtct tttggggact gcccttctc ctcttgctg ccaagctggg gagcaacgct
51961 atgaaatttg ctgggaagtc acctgcatca ttgcatggtt tgctctctgg acaaggacgg
52021 ctcggtctga aaggccccaa ggacgttagg gtgtgctcgc caaggctcgg gtgcctccag
52081 cgactgtctg ccgctccggg cccctcctg tctggtccac agctgcaccc ccagctcagg
52141 gctgcacacc cagtaagtgg gtgcttcata aatgtttgc taatagggtg gtggccacag
52201 ctgggtgctg ggacgaggct agaaagagtc gtcgggagcg gaggttgagc ggtctttgga
52261 ggattatggt cagagatatt tgaaggccc cacgtccgag ggtgggggtg tcccagacg
52321 gcctttctcc tggctgcagt ggcttcccc ctggcaacct caaactccc caggaaggta
52381 ggtagatctg tccgttggtc ggctttctc atcctaagtc aaacttctg ccggccttga
52441 gcctctccga caggatctaa aacgttccc tacgcgcgtt ggtgttggtc tgggggtcag
52501 agtgtggagg acccgggggg gccggggctg gtctgggggtg gtcccgggga accctgggct

52561 gggccgtgcg tgtgggcgga gtggggcggg acgcctggcg gctctgggag gccccgcccg
52621 cccccatccc tgtgcagcgc tcaggccott agaaggtgcc gccccggggc ggggctgtct
52681 gtggcctcag cgctcggcag gcgcgcactc agctccacac ccggctctct cggcatctca
52741 gaccggtgta agttagggtc tcccacctcc gcggccctct tccggggcgc aagtggccta
52801 gtcgggcaac cccggggggc tccctggaacc tgcgtctccg gacgcgcagc gggcgcgctt
52861 caggctggaa gcgccgagac ccccagagtg ggagacggga taggatgatc agcctctccc
52921 ctccttttct tctgccattc tcacttactt atacaacaaa cgcataaggaa agcatctcac
52981 caacacagaa caacgaaaac attcctccat tattaagtta tagacattct tgtatagtat
53041 ttggaaaaca cttacatgca acttttcaaaa gaaaagaaaa tcaaaaccac tcacgggacc
53101 tgagtcccca ctttttttca aagaccttca gctttttggg gggaccagct cttgggcctt
53161 ggcattctccc tgaggaaagg gcatgggacg cggagaatat tactgatatc tgatcttgat
53221 tgtggtaatg ggaaaagtgg gaaactttag aagaaagttg actaagtagc agagacgtgc
53281 gcatgtgccc aatctattgc ataatgcttt gcccccgga tttgtcacat tgctctatgt
53341 gaattgacag ttcatttgag tccacattta gattaagaag gaggttccag ctccattaag
53401 gaaggacctt gtcaataacc atagctgtca tgtatgggcc aggtgggtgg gactttgctg
53461 agttcacaca gttgcttaaa ttcagccgtg actctgattt ccaatcacca ggaaaaatcc
53521 ctctgctttc tctggccagt ttcacacaat catcaggtga gccgaggatc cattggagga
53581 aggcattatc tgtatccaga ggaaatagcc aaggatattc aggtaggacc tgcttttgat
53641 aggttattgg aaaatgattt gttttgaaaa taaagctcac ttagaagaca tcagagggac
53701 tcattgctgt cgtcttaaat ctctgagggg gagacagctc ctgtgtgggt tcgctctttc
53761 tggtagttga aaggaacact tattattcat gcgttcacgc atgcctgcct gcattcgtg
53821 aatgtttatt gcaactctgc catatgccac acaactgtct agtggcctgg gatgcaatga
53881 agaacaacc atgcaaagat ccctgcccgc aatagcttac attttggtgg gaaagacaaa
53941 cgttgaacaa tcaacatcac agttaagaaa actttattat attagaaggt gataaggact
54001 ctgggaaagc gggaggaaaa aaagggttaag agtttgtgct ctactattaa tagtactga
54061 ctgccaaaat ttttttttag aaataaggtg ggttacacac acacacacgc gcacacacac
54121 acacatatat atatagagta aatcttaata aacaaaatga ataacaaaaa tatgttaata
54181 atataaatat aaataaataa tataaaattt aatatataaa aacatactac attgcaagag
54241 gttttcctct gattactcaa taatctattt ccagagcata gtatacttta tcaattattc
54301 actcactttc ccattgtagt ggtattgaat ctaatacttt gcttcccact taattcagga
54361 aaaccttatt gaaacattct ggggtgctgga gtggggacaa aggtgagcaa gatggctctc
54421 gtcctttggg acctcctggg agaaaatgcc cagataagtc tacaatgat tagaagttag
54481 aatatgacca gcaactgtagg aaagatatat acaaggggtc aaagaagggg agaggattct
54541 ggatcagggt cagacacagt gtggatatga gctggcattt gaagggccag taggatttta
54601 acaagggaat atgggtggaa tgcctcacct acagcgagaa cagcaaacat aaaacaagag
54661 gccaggcacg gtggctcacg cctgtaatcc tagcactttg ggaggccaag gcaggtgat
54721 cgcttcagcc caggcatggt gagcctgggc aacatggtga aaccccgctc ctactaaaaa
54781 tacaaaaatt aaccaggcat agtggcatgc acctgtaaac ccaactactt aggaggctga
54841 ggcaggagaa tcaactgaac ccaggaggcg gaggaggtg tagtaagtca agatcgcgcc
54901 actgcaactc agcctgagtg acagagcgag gcttggctc taaaataaaa taaaataaag
54961 caagagctag gaaggctggg ggctgattcc atgctgcaca aagacctggg atataactc
55021 agggtagatt ccatcattct cactgttcag gtgaggaaac tgaggctccc cagatttatg
55081 tcatttgctg aagatgagag tccttccttc cctcctgatg tgtgacttca gctgtcattc
55141 attatccatc cccaaacgcc cacccatggt ttcataattga gtttgatgga gtctcctcac
55201 cagctcgtcg gcctgactct ctgagtattc agtgtttata tttccatcct tcacaccca
55261 gactctctct ccatcaccca tagagaggtc tgggaagctc ctggtaaaag caccagactc
55321 aagccacacc ccacatcccc ctgggagggtg gcaggaacaa ctttcctaag cagagaggac
55381 agtctgatte tgggcctctg gacggttgca ttctgattcc ttgagcgacc ctggccacct
55441 tagtaccac tgactctggg gataggggaa ggatagaaga ccagacaaaag ccagccaagt
55501 gtcgggaagc atctgggtggc cctgggtggc ttcttttctg ctaggaggga aacatgtttc
55561 caaaatttg acatagtgtt gtgataaaga tgaaaacaat agacagttgg ttccaaggac
55621 aattgactca gaattcttgt ctcaataaga tcatattcac caaatgagg cttatccatc
55681 attgctttta ccctaattct gcttcttaaa ccaaatgagg ccaaatgatg atgttaagac
55741 tggatgctct ttcgaagaaa tgcataagga gtcctgtcga gcgtgataaa aaaaccaga

55801 gtcaacctag ggaagtaagt taaggagccc tctagtttat ctaggattga cctggggctg
55861 gaaccagat tcctgagctc tgactcgcac attcctgtct cctctactca cccctagaat
55921 ctattccttt tagaagaaag cttggagtca gccacaagaa ccttaccag tcaactaaagg
55981 cttaaagaaag aatgatcagg aactggggga atttgctaata aataacaaaa gaatgagagg
56041 ggtgcactca gggcaggggg cttgaagaac ggctcctctg tttacgacac actcaacagg
56101 ggtgtgaggt cacagtgatg agaggcccaa acttgtggcc tccccgtgaa caaatgcctt
56161 acacatctcc cctgcaggat caatgggaca gggctcaata ttgggaggaa ggctgtagta
56221 tttacttggc aagcctgctg tctacagcct gccagttta tgcacgggta ggccacagtt
56281 ggtcttagaa ataaaggctt tggaaaatta aaaaaagaa agaatgagag tttcccatgc
56341 tgggaaagct tctgttctga aagcttccag gctgttatca gtgctgatag gcgacacagc
56401 cggagcacgt gggagaagtc agaagagggtg gtgtgtgcc agagcagcga ggcgccacc
56461 actgccctct tctcccctgg gttcagctgg gggccttacg gaactccagg gtgctggagg
56521 ccccgttggg ctccatttgc aggtgtctcg ctgagcgcag ctgccagag ccctgtgtcc
56581 tgagtgattt ccagtagatt agcagctctg ggtctaagct tttaaagaaa aaaaaaatt
56641 gcaactacct tcagtagggg cagcattcac atctcacacc caggcagaag cagaaacggc
56701 caggaatcca cccactttc tgggcctgac aaggccacag tttgagaacg ttcagcacag
56761 gccaaagcatc agatggattt tgaacatctc tggctcctac catttctgcc tccaccatcc
56821 ctttactcac tgtgcaagct acaaaagctg aggggacagg aacaaggatg atttctgatg
56881 gcatatttag gtaagaagcc aacccccatg tgcatggatc caatgctatc tgataaaagt
56941 ggcctattcc tcagctgttt tgagcctgct tcctctgtac aaggctctgg gaattgctct
57001 tttctatact aataaatatgt gagtcaattg ctaacagatg acattttaga tatatttttg
57061 gttggttggt tttgtttctt tttttttttt ttttaagtcc agggaacatg tgaggatgt
57121 gcaggtttgt tacagacata aatatgtgcc atgatgggtt gcggcacctg tcaaccatc
57181 atctaggtgt taagcccagc gtgcattagc tcttttcctt aatgctcttc cccaccacc
57241 tttccccgac aagccccagt gtgtgttggt ccctccctg tgtccatgtg ttctactgt
57301 tcagctccca cttataagtg agaatatgag gtgtttgggt ttctgtcctt gcgttagttt
57361 gctgaggata tgtacttctg ataggagaga ttacttttgg caagccatct catctctaag
57421 gagccccgtt ttctgaaaat tcagattggt ggatcagttg ctctcccact ctgtttgagt
57481 ccaactgtct gaaagtgcag ccacggggca tgtgggtgct ttggcatcac gtatcataga
57541 aatgaacctc gagaatctga tataaaatcc caaatgacat gcagatccag actgtcattt
57601 acaccatgct gactattacg gagacattgc caaactcatt ttgagactcg ttacacaaaa
57661 ataccatggc gaccagcct agcaggcatt gggggtgtgg aggacattta gcaaaagcaa
57721 tgcaataaat tacatgtgaa gttttaaanaa aattctttaa aaatataggg ttgtcatttg
57781 aaaggcagtt aattagctgg acttaagctc tgacaggaga attgtaattg aaggcaccag
57841 cgtgtgtgag actggggaca gctgagggtta cactgaagac tggagagttt ctttctgcaa
57901 tttcttttca gactgtatca gaggcaaaca aggcacaaaa agaaaatgta aaaaacaac
57961 aagatttgaa aaacagtcag tgagatcata tttctatatt tttgcaaaat tcttccaggt
58021 accctgcagc acaaaaggcc attgggtcatt ttctagggt cccacaccac agcccagtg
58081 ttctcaatct tggctacaaa ttaggatcat ttgggaggt tctaaaaagt ctctgagtca
58141 ggcaggaacc cagaccaaag acattaaaaat ctctagggtg gagatccagg aaccattatt
58201 ttctaaaagc tccccgggtg attccaatag atcaccaagc agggcctcca gaccagcagt
58261 attagcacca cgtgggaatg tgttaggaat gcagattccc agggccgctc cagttctacc
58321 aatcagaaa ctctgaaaat agagcccagc aatctgcatt tttttttgag acagagtctc
58381 gctgtgtcac ccaggcagga gtgcaatggc acaatcttgg ctactgcaa cctccacctc
58441 ctgggttcaa gtgattctcc tgcctcagcc tcccaaatag ctgggaatac aggtgccgc
58501 caccagcct gtcttatttt tgtattttta gtagagacgg ggtttcagta tgttgccag
58561 gctgggtgca aactcctgac atcaagtgat ccacctgctt tggcctccca aagtgtggg
58621 attacaggag caatctgcat tttacaagg tcaattctaaa gcattctaaa gaacaaggct
58681 gaggatggtt tgggcttggg aggttttcaa agcagatggt tttggttgc tctttggaca
58741 taagaaagtc catctggatc taagtaacaa gccttctcag tgaactcact attatgaatt
58801 aattgcagat gtaactctta atttgctgta tggatttatc agttttaaac caattaactt
58861 gtgatcttc aaatgtcgcc tgccataatt ctacctcac atggatcatga agttgaaag
58921 actctctaac agtgattggg ggcagaatta tttgccaatt gtgatcattc tgggtttttg
58981 gaaattacat catagtatca ggtccaggtc tgtctgtttt ctggggcagg gttttatgca

59041 ttcataagtg gtttcgggtc atttaaaaag aaatggttga gcgttgagtt tggatctggt
59101 accaaacaat tctgcctac cccgatgggtt agaatggggc taaatgctag ttttgtacaa
59161 gaacaaggac ctgaatctct tgagcccagg cagcttaacc cctgacagat ctctgcacag
59221 actcaaaagc ctagaacca ggaaaggcca caaacaatct ttgattctca ttcatgtctg
59281 atctctccac aacgtagaga agacagctgc catggtcagc cacaggaaaag ccaagcctaa
59341 acccccaaag ccccaaatcc ttgggcagca atttcttaat gaggtagaaa aaccaataaa
59401 ctctacccca ggaccactga gtgtgcacct gccatgtgcc acatgctgtc agccactcta
59461 cacacctgct cagtgattca acagcccgca aatgtcagtg gtgtttctcg ctactttgga
59521 aagaaaaaaa aaaaaaactt gactgaacaa ttctaaggaa actgtccagg atcatgtggc
59581 caggaagtag caaagctaga atccaaacct gtggcggcag tggaatccca aaatctgagc
59641 tctttctgct cctcactcct gccttctgag actgtgggtc aggggtgggag atgactgcc
59701 ttctggaaaa gggagtcagt tagagcttct gagacagctc attggcatct gttcattgga
59761 gtaagcaggt tataaagagt caagccccac tggcmetaag gtattaagtt ctgggtggcat
59821 ctattcgata aacattcatg ggcagctcct gtgtgggttc gtgcccagca ccaggctgga
59881 tggcagggca gggatgggat aaggggcctg gagatcctga ccatgatgag gttagcaggg
59941 gtcattgggt gcacagtgtc gatccagccc catgtatcag agcaggcttc ggaaggagg
60001 tgagagctgg gctgaatddd aagcatgagt aggcattgct gagaagttdc atgggccaag
60061 aagaaggcgc agtctgagct ggagacgcac aatgtgtaga ggctccgggg ccagcagggg
60121 ccatggagca taggtctggt gcacagtggc aacagtggaa ttggagaggg atgcatagac
60181 tctcaaattd agggcctgta tccatgcaga agaccaggag tttcacctc aaggcagggg
60241 ggagccaagg aaggccttca agatgggaac tgccatgatg agattgcagt catcagtgag
60301 agtgatgcag attdttggagt gagggtgtgt gccactcagc tcaatgaggc aggggccagt
60361 ctctgacagg acagggtgga gtgttaactt taaggagcct ggggatggcc aaagggaacc
60421 atctccttag caggtcactg gacgcattgg tctggagctt aaagagagcc ctgggtcatg
60481 gccatgcagg tgagcctgga gcagggtgcag tcaccctggg agagaggaga gtaggaagag
60541 aagagagcag gtaacagAAC gatgtcttca gctgggtgct ggttcagggt atgttttaca
60601 ggggcctcgg aaagggtgcca gatgtcttca gctgggtgct ggttcagggt atgttttaca
60661 attaaaccaa ttcaatgaag aaatagctct gggcttaagc tggagaggag ctaggtdtct
60721 gaggttattd gtctacaca agatgatgtg caatgtcaca gtccccatcc tggctgggaa
60781 agacagcgc gtcccggcaa gtgttggAat ttgtcttcc atagcgattc tggccataaa
60841 ctgtcttccc aaatacatcc ttcacctgta gttacaacag tcccccgag gccatgttct
60901 actccaggcc atgttctact cagctacttd aagctcctaa gaagtgagca ggggacaagc
60961 aggggtggctc atgcctgtaa tcccagcaat ttggggggcc gaggtgggag gatcctgtaa
61021 gccaggagt tcaagaccag cctcggcaac atagggcaac ctcacctctg caaaaaatac
61081 gaaaattagc cagtcatggt ggtgcatacc tatagtcca tctactctgg agggtagggg
61141 agggaggatca cctgagtcca ggagggttgag gctgcagtga gccaagattg tgccactgta
61201 ctccagcctg agtgacaaga gtgagacct gtctcaataa aacagaaaaa gaaagaactg
61261 agtgggagca cttacgtgtg ataagctccc agtggcccc tctggcttga gtttggAatg
61321 tgacatcaac aacttggcct cggagcttdt gtttcccagc aggaactggg ggtagaggct
61381 ggcatttgct caaacctaaa taataaata aataaataaa taaaaacaag acctgttdt
61441 tttcagctta ccaatgatct caaggtcacc tagatggggg tccacagca aaccaacc
61501 ctgacagaat cttacagcta cttggagaca attdttccaa tcccaggcc cactctgagt
61561 atacagggac agtgatatca agattdaaac atagggaaaa tgtcacttdc tgcatagcca
61621 gagagtagtg aatggaaata aaaggcaatc catgtacat tgctcaatca agagagggca
61681 ttgtgtagac ccaagacggc acataccatg gactagggag catgtgagct caccctctc
61741 acctgagggt ttaagattgt gtacgtgtgt gtgcctgtgt gtgggcaggg agggaaaaac
61801 atagcacaag ctacaacact ggcctcttct aggggagctc tctgtgaaat ctccctagac
61861 attctgaagt ccaccacgtg acagcataga ttdttcattc agatgaatgt aactgttcat
61921 agagagatgc tctgtggtga aacagaccac caattgcag ttgcttccaa gggcaaccag
61981 tctgactagt cttgcataag ctgccaggaa ctagtgtgat gagatgcgtg attdtdtdta
62041 ggtccatagg aggtcaagga tgggatatt tgtctcccc ttgtdtatgg agtcagcagc
62101 cacagcagtg tccatctctg ggggagaagg cagagaaaag aagtgggtgt tcaccatggg
62161 ttgtatacaa acattggaag caagggaatg cacacacca gcaccgcaag tgagccaaa
62221 aagcacagtc atgaggaaaa agaaggagac tgaatgagtt ggatgacctg ataccattda

62281 ggtaaacc aaatgcacaca tgcaacccca tacgccacaa tatgcagcaa tgcatattaa
62341 agaagctcat tctgatggtc acctataggg gtggagattg gagggtgga tggaaataga
62401 agggaatcaa tgtatccatt catctatcaa gagaaggcat tgcacagacc caagatggca
62461 catgccatgg cctgtggagt gtcagctcac ccctctcacc tgagatttta aaattgtata
62521 cgtgtgtgtg cgtacgtgtg ggttttggcc aatacgtact ttttgatttg gggttgcatt
62581 tttcctttaa gaggtgtgcc tgggaagttt gagctgcagc agtggaaacct taatgccag
62641 gatgatcctg tctaaccaca cagcgggtgac gccctttctg accaagctgt ggcaggagac
62701 agttcagcag ggtggcaaca tgtcgggctt ggcccgcagg tccccccgca gcagtgcagg
62761 caagctggag gccctctacg tcctcatggg actgggattc ttcggcttct tcaccctggg
62821 catcatgctg agctacatcc gctccaagaa gctggagcac tcgaacgacc cattcaacgt
62881 ctacatcgag tccgatgcct ggcaagagaa ggacaaggcc tatgtccagg cccgggtcct
62941 ggagagctac aggtcgtgct atgtcgttga aaaccatctg gccatagaac aaccaaacac
63001 acaccttctt gagacgaagc cttccccatg aacccacca ctggctaaaa ctggacacat
63061 cctgcctggc aacctgattt tctaatacaca ttcctctcat actctttatt gtgatggata
63121 cactggatt tctttttggc tgttgtaagg ggtgaggggt ggattaatga cactgtttca
63181 ctgtttctct aaaatcacgt tcttttgtga tagactgtca gtggttcccc catactgtc
63241 cctgccttgc taaatttagc agaatccctg aggacatggc ctctgagaat agcagctgca
63301 tttcccagac tcccttgca gtagcaagg tgtgtgacta agccctggcc agtaggcatg
63361 gaagtgaaga ctgtaatgct caagtaatcc ttggaaagaa aagaacgtgc ccttaactaa
63421 ctttgtcctg cttcccagtg gctggatgtg gaggaggtgg agagcagtta tgagactggg
63481 aaagaacggg gcaactcaa agccacacac atctgggctt gggcgacgtg gatcctcctt
63541 accaccacc aggccagatt tacaggagag agaaatccac tccactctt ctaagccac
63601 tgttattctg atctctgtta aggtcgcaga atcaatgcc ttactgatac acctacctta
63661 taggactgaa cctaaaggca tgacatttcc atacttgtca caagcacaca ctgattctgc
63721 ccttgtcact tctgtgctca ctcttgtggc tctatcctcc tcctgcccctt ccgccttcca
63781 ctccctcctt gcaccatcc tgcacacatc tcctgaaaa cacacaggca catacactca
63841 tatacataga cacacataca cacctcaatc tagaaagaac ttgctttgta cagggtgag
63901 atggaggaga aaaaaatgcc cccttcagaa tgcataccea ggggaagggtg ctcggtcact
63961 gtgggagcag ggaaagggtc cccactccc cgagagccag ggggaaggagt ggctctgggc
64021 agagagggac acatagcact ggggtggcag gtccttttga ggtgatgggc cgttttgtg
64081 agatgaattg tatccccaa aaagacagg tcaatggggg gggccctcac ccaatatgac
64141 gtctttgca atgatctagt tgagatgagg tcaatggggg gggccctcac ccaatatgac
64201 tggagtcctt atcggaaagag ggaaattcag acacagatgc atagggagga caccatgccg
64261 tgacagaggc agaggggtgca gtgacacagc cacaaacca ggaaggccga ggatggatgc
64321 gcatccccat cccaagaagt cgggaagaag ccaggaaggc tcctctccca caggtttcag
64381 aggaagcaca gccctgcttg aattcaaact tttggcctcc agaactgtga gtcagtacct
64441 gttgttgaag ccaccagct taggatactc tggcagccta ctgccataca gtattgggat
64501 actatagtga gcccatgcag cacctctcac ccaccagag atggagctgc tctgccttcc
64561 agcggggcac ccggagggtt gccccagcag atagagaggg cctccgttct gccacctgcc
64621 ttgaaagggt ctccagctgc catatgtage attggagtcc tctgcaatgc gacatcctga
64681 aagctcagct gcctgggcat tcctgaagag tatggaatat ttaaataaaa catatTTTTT
64741 taaaacctgc gcataagata aaagcagccc gtgtgcatct tgggccatcc tcaaatggac
64801 agacttggtc ttgtgagggt ccagtccttg tttcacataa taaactactgg catggctcag
64861 cccctgagtt accacagtcc ttgagatgag tggttctttg ggttacaaag tcctctgaaa
64921 gtctagttag agctgtgatc tttgccccac ccgaataatg catatggaca ccacacctg
64981 cctgccgtgt ccaggattca tgaccagtag cagcccagct atgcctgcca cgtctcatgg
65041 cccctgtgta agccagacc tcttaggca gttgcatatt cccagactga ggcagggcag
65101 gtttgcagag agagaccag agtgcacgtg acccgcagtg tgatccctgg cacgactga
65161 ctttgatatt ccaggcacac ggactggcta tttatcacca cttctttttc cccactaaga
65221 ttctgtgccc ttttaaggca gagggagatc cctatggcgt tagtcttccc aggcttaaaa
65281 gggcccttgt cttcactcac aaacctetta tctctcttc tccttctctt acattttaaa
65341 gggggagagg gaaaagtaac cgggagacaa attgagccac atattttcag aacttgtta
65401 ccatatttta aaatctggct tcacatacac agagtctttg ctatgcacca tgtactgttc
65461 taagcttctt aaaaatagaa tctcaattat tattttgcag gcaataactct atgcattcat

```
65521 tagctaggac aacaatgcat ttgcagtagt gagatttcgc taaaaaatta aagccattta
65581 ctatgatac
```

//

mRNA

Two variants

1.

```
LOCUS       NM_001127670                3424 bp     mRNA     linear     PRI 18-JAN-2014
DEFINITION   Homo sapiens potassium voltage-gated channel, Isk-related family,
              member 1 (KCNE1), transcript variant 1, mRNA.
ACCESSION   NM_001127670
VERSION     NM_001127670.2  GI:393715089
KEYWORDS    RefSeq.
SOURCE      Homo sapiens (human)
  ORGANISM  Homo sapiens
              Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
              Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
              Catarrhini; Hominidae; Homo.
```

```
source      1..3424
CDS         475..864
```

Transcript Variant: This variant (1) differs in the 5' UTR,
compared to variant 2. All variants encode the same protein.

ORIGIN

```
1  ctcttctccc ctgggttcag ctgggggctc tacggaactc cagggtgctg gaggccccgt
61  tggctctccat ttgcaggtgt ctcgctcagc gcagctgcc  agagccctgt gtcctgagtg
121 atttccagta gattagcagc tctgggtcta agcttttaag aaaaaaaaaa aattgcacta
181 cccttcagta ggggcagcat tcacatctca caccagga  gaagcagaaa cgccaggaa
241 tccacccac  tttctgggcc tgacaaggcc acagttagag aacgttcagc acaggccaag
301 catcagatgg attttgaaca tctctggctc ctaccatttc tgcctccacc atccctttac
361 tactgtgca  agctacaaaa gctgagggga caggaacaag gatgatttct gatggcatat
421 ttagaggtgt gcctgggaag tttgagctgc agcagtggaa ccttaatgcc caggatgatac
481 ctgtctaaca ccacagcggg gacgcccttt ctgaccaagc tgtggcagga gacagttcag
541 cagggtggca acatgtcggg cctggcccg  aggtcccccc gcagcagtga cggcaagctg
601 gaggccctct acgtcctcat ggtactggga ttcttcggct tcttcaccct gggcatcatg
661 ctgagctaca tccgctccaa gaagctggag cactcgaacg accattcaa  cgtctacatc
721 gagtccgatg cctggcaaga gaaggacaag gcctatgtcc aggcccgggt cctggagagc
781 tacaggtcgt gctatgtcgt tgaaaacat  ctggccatag aacaacccaa cacacacctt
841 cctgagacga agccttcccc atgaacccca ccactggcta aaactggaca catcctgcct
901 ggcaacctga ttttctaata acattcctct catactcttt attgtgatgg ataccactgg
961 atttcttttt ggctgttgta aggggtgagg ggtggattaa tgacactggt tcaactgttc
1021 tctaaaatca cgttcttttg tgatagactg tcagtggttc ccccatatct gtcctgcct
1081 tgctaaatth agcagaatcc ctgaggacat gccctctgag aatagcagct gcatttccca
1141 gactcccttg cagctagcaa ggttgtgtga ctaagccctg gccagtaggc atggaagtga
1201 agactgtaat gtccaagtaa tccttggaag gaaaagaacg tgccctaac  taactttgtc
1261 ctgcttccca gtggctggat gtggaggagg tggagagcag ttatgagact gggaaagaac
1321 ggggcactca aagagccaca cacatctggg cctgggcgac gtggatctc  cttaccacc
```

```

1381 accaggccag atttacagga gagagaaatc cactccactc ttccttaagc cactgttatt
1441 ctgatctctg ttaaggtcgc agaataaatg cccttactga tacacctacc ttataggact
1501 gaacctaaag gcatgacatt tccataactg tcacaagcac aacttgattc tgcccttgtc
1561 acttctgtgc tcaactctgt ggctctatcc tcctcctgcc cttccgcctt ccaactctcc
1621 cttgcaccca tcctgcacac atctccctga aaacacacag gcacatacac tcatatacat
1681 agacacacat acacacctca atctagaaag aacttgcttt gtacagggct gagatggagg
1741 agaaaaaaat gcccccttca gaatgcatac caaggggaag gtgctcggtc actgtgggag
1801 cagggaaagg tgccccact ccccgagagc caggggaagg agtggctctg ggcagagagg
1861 gacacatagc actgggggtg caggctcttt tgaggatgat ggccgggttt gtgagatgaa
1921 ttgtatcccc caaaaagaca ggtaccttca atgtgaccta attgggaaat agagtctttg
1981 cagatgatct agttgagatg aggtcattgg ggtgggccct cacccaatat gactggagtc
2041 cttatcggaa gagggaaatt cagacacaga tgcatagga ggacaccatg cctgacaga
2101 ggcagagggg gcagtgcac agccacaaac caaggaaggc cgaggatgga tgcgcatccc
2161 catcccaaga agtcgggaag aagccaggaa ggctcctctc ccacaggttt cagaggaagc
2221 acagccctgc ttgaattcaa acttttggcc tcagaactg tgagtcagta cctgttgttg
2281 aagccacca gcttaggata ctctggcagc ctactgcat acagtattgg gatactatag
2341 tgagcccatg cagcacctct caccaccca gagatggagc tgctctgcct tccagcgggg
2401 caccggagg gctgcccag cagatagaga gggcctcctg tctgccacct gcctgaaag
2461 ggtctccagc tgccatatgt agcattggag tcctctgcaa tgcgacatcc tgaaagctca
2521 gctgcctggg cattcctgaa gagtatggaa tatttaaag aaacatattt ttttaaacc
2581 tgcgcataag ataaaagcag cccgtgtgca tcttgggcca tcctcaaatg gacagacttg
2641 gtcttgtgag gttccagtcc ttgtttcaca taataaacac tggcatggct cagcccctga
2701 gttaccacag tccttgagat gagtggttct ttgggttaca aagtcctctg aaagtctagt
2761 gagagctgtg atctttgcc caccgaata atgcatatgg acaccacacc ttgcctgccg
2821 tgtccaggat tcatgaccag tagcagcca gctatgcctg ccacgtctca tggcccctgt
2881 gtaagccaga cccttcttag gcagttgcat attcccagac tgaggcaggg caggtttgca
2941 gagagagacc cagagtgcac gtgaccgcga gtgtgatccc tggcacgcac tgactttgat
3001 attccaggca cacggactgg ctatttatca ccacttcttt tccccacta agattcctgt
3061 gccttttaag gcagagggag atccctatgg cgtagtctt cccaggcctt aaagggcctt
3121 tgtcttcact cacaaacctc ttatctcttc ttctccttcc tctacatttt aaagggggag
3181 agggaaaagt aaccgggaga caaattgagc cacatatttt cagacacttg ttacatatt
3241 ttaaaatctg gcttcacata cacagagtct ttgctatgca ccatgtactg ttctaagctt
3301 cttaaaaata gaatctcaat tattattttg caggcaatac tctatgcatt cattagctag
3361 gacaacaatg catttgagc agtgagattt cgctaaaaaa ttaaagccat ttactatgat
3421 caaa

```

//

2.

```

LOCUS      NM_000219          3575 bp      mRNA      linear      PRI 18-JAN-2014
DEFINITION Homo sapiens potassium voltage-gated channel, Isk-related family,
            member 1 (KCNE1), transcript variant 2, mRNA.
ACCESSION  NM_000219
VERSION    NM_000219.4  GI:393715087
KEYWORDS   RefSeq.
SOURCE     Homo sapiens (human)
  ORGANISM Homo sapiens
            Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
            Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
            Catarrhini; Hominidae; Homo.

```

```

source     1..3575
CDS        626..1015

```

Transcript Variant: This variant (2) is the longest transcript. All variants encode the same protein.

ORIGIN

```
1 gaaatcaciaa attacaaaac gtcagagtac tttctggaaa taagccttcc tctccagggga
61 acaacgcatt tgacacttga ctgggataca ctaccggatc ctccgagggg gatggttctc
121 aagaaggcag aagcaatggg gaccaataga cctccttaa ggctgagccg ctgggcacct
181 tcctactcct ctcgaccgtg ctaggatgac tgcagcagag tccccgagtc ctttgatgca
241 aggggtctagc aaccaccaa cagacaagcc cttcggcctg tcctggaggg cgttgaatgg
301 catggcctgg agctcaacca ggagaaccgt gctcaggagg aagagaccag aaggataact
361 caaaaagttc tgagaagttc ctaagaccac ctgaagagaa ggagcctgct gccaatggtg
421 tggacaccgc agtgtgcttg aggagacttc agaaacgaga actggaaaaa tccctctgct
481 ttctctggcc agtttcacac aatcatcagg tgagccgagg atccattgga ggaaggcatt
541 atctgtatcc agaggaaata gccaaaggata ttcagaggtg tgcttgggaa gtttgagctg
601 cagcagtggg accttaatgc ccaggatgat cctgtctaac accacagcgg tgacgcctt
661 tctgaccaag ctgtggcagg agacagttca gcagggtggc aacatgtcgg gcctggcccg
721 caggtcccc cgcagcagtg acggcaagct ggaggccctc tacgtcctca tggactggg
781 attcttcggc ttcttcaccc tgggcatcat gctgagctac atccgctcca agaagctgga
841 gcaactcgaac gaccattca acgtctacat cgagtcggat gcctggcaag agaaggaca
901 ggccatgtc caggcccggg tcctggagag ctacaggtcg tgctatgtcg ttgaaaacca
961 tctggccata gaacaacca acacacacct tcctgagacg aagccttccc catgaacccc
1021 accactggct aaaactggac acatcctgcc tggcaacctg attttctaac cacattcctc
1081 tcatactctt tattgtgatg gataccactg gatttctttt tggctgttgt aaggggtgag
1141 ggggtgatta atgacactgt ttcactgttt ctctaaaatc acgttctttt gtgatagact
1201 gtcagtgggt cccccatata tgcctctgcc ttgctaaatt tagcagaatc cctgaggaca
1261 tggcctctga gaatagcagc tgcatttccc agactcctt gcagctagca aggttgtgtg
1321 actaagccct ggccagtagg catggaagtg aagactgtaa tgtccaagta atccttggaa
1381 agaaaagaac gtgcccttaa ctaactttgt cctgcttccc agtggctgga tgtggaggag
1441 gtggagagca gttatgagac tgggaaagaa cggggcactc aaagagccac acacatctgg
1501 gcctgggcca cgtggatcct ccttaccacc caccaggcca gatttacagg agagagaaat
1561 ccaactccact ctcccttaag ccactgttat tctgatctct gttaaggctg cagaatcaat
1621 gcccttactg atacacctac cttataggac tgaacctaaa ggcatgacat ttccatactt
1681 gtcacaagca cacactgatt ctgcccttgt cacttctgtg ctcaactctg tggctctatc
1741 ctccctcctg ccttccgctc tccactcctc ccttgacacc atcctgcaca catctccctg
1801 aaaacacaca ggcacataca ctcatataca tagacacaca tacacacctc aatctagaaa
1861 gaacttgctt tgtacagggc tgagatggag gagaaaaaaa tgccccctc agaatgcata
1921 ccaaggggaa ggtgctcggg cactgtggga gcagggaaag gtgccccac tccccgagag
1981 ccaggggaag gagtggctct gggcagagag ggacacatag cactgggggtg gcaggtcctt
2041 ttgaggtgat gggccggtt tgtgagatga attgtatccc ccaaaaagac aggtacctt
2101 aatgtgacct aattgggaaa tagagtcttt gcagatgatc tagttgagat gaggtcattg
2161 ggggtggccc tcaccaata tgactggagt ccttatcgga agagggaaat tcagacacag
2221 atgcataggg aggacacat gccgtgacag aggcagaggg tgcagtgaca cagccacaaa
2281 ccaaggaagg ccgaggatgg atgcgcatcc ccatcccaag aagtcgggaa gaagccagga
2341 aggtcctct cccacaggtt tcagaggaag cacagccctg cttgaattca aacttttggc
2401 ctccagaact gtgagtcagt acctgttgtt gaagccacc agcttaggat actctggcag
2461 cctactgcca tacagtattg ggatactata gtgagccat gcagcacctc tcaccaccc
2521 agagatggag ctgctctgcc ttccagcggg gcacccggag ggctgcccc gcatatagag
2581 agggcctccg ttctgccacc tgccttgaag gggctctccag ctgccatatg tagcattgga
2641 gtcctctgca atgcgacatc ctgaaagctc agctgcttg gcattcctga agagtatgga
2701 atatttaaat gaaacatatt tttttaaacc ctgcgcataa gataaaaagca gcccggtgtc
2761 atcttgggce atcctcaaat ggacagactt ggtcttgtga ggttccagtc cttgtttcac
2821 ataataaaca ctggcatggc tcagcccctg agttaccaca gtccttgaga tgagtggttc
2881 tttgggttac aaagtctct gaaagtctag tgagagctgt gatctttgcc ccaccgaat
2941 aatgcatatg gacaccacac cttgectgce gtgtccagga ttcattgacca gtagcagccc
```

```
3001 agctatgcct gccacgtctc atggcccctg tgtaagccag accctttctta ggcagttgca
3061 tattcccaga ctgaggcagg gcaggtttgc agagagagac ccagagtgca cgtgaccgcg
3121 agtgtgatcc ctggcacgca ctgactttga tattccaggc acacggactg gctatattatc
3181 accacttctt tttcccact aagattcctg tgcttttaa ggcagagggga gatccctatg
3241 gcgttagtct tcccaggcct taaagggccc ttgtcttcac tcacaaacct cttatctctt
3301 cttctccttc ctctacattt taaaggggga gagggaaaag taaccgggag acaaattgag
3361 ccacatattt tcagacactt gttaccatat tttaaaatct ggcttcacat acacagagtc
3421 tttgctatgc accatgtact gttctaagct tcttaaaaat agaattctcaa ttattatctt
3481 gcaggcaata ctctatgcat tcattagcta ggacaacaat gcatttgcag tagtgagatt
3541 tcgctaaaaa attaaagcca tttactatga tcaaa
```

//

Protein

LOCUS NP_000210 129 aa linear PRI 15-MAR-2015
DEFINITION potassium voltage-gated channel subfamily E member 1 [Homo sapiens].
ACCESSION NP_000210
VERSION NP_000210.2 GI:60218915
DBSOURCE REFSEQ: accession NM_000219.5
KEYWORDS RefSeq.
SOURCE Homo sapiens (human)
ORGANISM Homo sapiens
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo.

source 1..129

```
1 milsnttavt pfltklwqet vqqggnmsgl arrsprssdg klealyvlmv lgffgfftlg
61 imlsyirskk lehsndpfnv yiesdawqek dkayvqarvl esyrscyvve nhlaieqpnt
121 hlpetkpsp
```

```
ATG ATC CTG TCT AAC ACC ACA GCG GTG ACG CCC TTT CTG ACC AAG CTG
M I L S N T T A V T P F L T K L
TGG CAG GAG ACA GTT CAG CAG GGT GGC AAC ATG TCG GGC CTG GCC CGC AGG
W Q E T V Q Q G G N M S G L A R R
TCC CCC CGC AGC AGT GAC GGC AAG CTG GAG GCC CTC TAC GTC CTC ATG GTA
S P R S S D G K L E A L Y V L M V
CTG GGA TTC TTC GGC TTC TTC ACC CTG GGC ATC ATG CTG AGC TAC ATC CGC
L G F F G F F T L G I M L S Y I R
TCC AAG AAG CTG GAG CAC TCG AAC GAC CCA TTC AAC GTC TAC ATC GAG TCC
```

S K K L E H S N D P F N V Y I E S
GAT GCC TGG CAA GAG AAG GAC AAG GCC TAT GTC CAG GCC CGG GTC CTG GAG
D A W Q E K D K A Y V Q A R V L E
AGC TAC AGG TCG TGC TAT GTC GTT GAA AAC CAT CTG GCC ATA GAA CAA CCC
S Y R S C Y V V E N H L A I E Q P
AAC ACA CAC CTT CCT GAG ACG AAG CCT TCC CCA TGA
N T H L P E T K P S P END

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

Genetic diversity of the *KCNE1* gene and susceptibility to postoperative atrial fibrillation

Konstantinos V. Voudris, MD,^a Stavros Apostolakis, MD, PhD,^{b,c} Panagiotis Karyofyllis, MD,^d Konstantinos Doukas, PhD,^c Apostolos Zaravinos, PhD,^a Vasilis P. Androutsopoulos, PhD,^a Alkis Michalis, MD,^f Vassilis Voudris, MD, PhD,^d and Demetrios A. Spandidos, PhD, DSc^a *Crete, Alexandroupolis, and Athens, Greece; and Birmingham, United Kingdom*

Background The human *KCNE1* protein forms the β -subunit of the IKs potassium channel and is important in the regulation of the atrial action potential duration. The purpose of this study was to investigate the association between the nonsynonymous 112G>A mutation of the *KCNE1* gene and postcardiac surgery atrial fibrillation (AF).

Methods and results A cohort of patients scheduled for cardiac surgery was prospectively recruited. The genotype of 112G>A polymorphism was determined using polymerase chain reaction/restriction fragment analysis and confirmed with direct sequencing of the polymerase chain reaction product. In total, 509 patients were recruited in the study, of whom 203 (39.9%) had at least 1 qualifying episode of postoperative AF. An increased frequency of the G allele was observed in the postoperative AF group compared with the group without postoperative AF (0.628 vs 0.552, respectively, $P = .016$). The individual's relative risk of postoperative AF increased as the number of G alleles increased from 1.36 (95% CI 0.89-2.08) for G allele heterozygotes to 1.62 (95% CI 1.08-2.43) for G allele homozygotes ($P = .04$ for trend). The multivariate analysis revealed the abnormal ejection fraction (odds ratio [OR] 1.585, 95% CI 1.076-2.331, $P = .020$), age (OR 1.043, 95% CI 1.022-1.064, $P < .001$), type of surgery (aortic valve replacement) (OR 1.869, 95% CI 1.094-3.194, $P = .022$), and the 112G>A genotype (OR 1.401 [in additive model], 95% CI 1.052-1.865, $P = .021$) to be independent predictors of postoperative AF.

Conclusion This study confirmed the association of the 112G>A polymorphism and postoperative AF in a cohort of patients undergoing cardiac surgery. (Am Heart J 2014;167:274-280.e1.)

Atrial arrhythmias and atrial fibrillation (AF), in particular, commonly occur postoperatively.^{1,2} The reported incidence of postcardiac surgery AF ranges from 5% to 60%.^{1,2} Lower incidence has been reported following noncardiac surgery ranging from 0.3% to 29%.^{1,3} This variation in incidence reflects differences in patient demographics, techniques for rhythm monitoring, and inconsistency in criteria for diagnosis. Postoperative AF is associated with significant morbidity, mortality, and a considerable increase of in-hospital stay and treatment costs.^{4,5}

The epidemiology, clinical consequences, and preventive strategies of postoperative AF have been previously assessed. Nevertheless, the exact pathophysiologic mechanisms responsible for the onset and perpetuation of postoperative atrial arrhythmias are not completely understood.^{4,5} Postoperative AF appears to be associated with inflammation, sympathetic activations, and oxidative stress.¹

The identification of extended families with AF and the mapping of discrete genetic loci in such families have raised the possibility that genetic factors might affect susceptibility to AF.⁶ A variety of genome-wide association studies have identified genomic regions associated with AF. Among these, the 4q25, 16q22, and 1q21 seem to be of particular interest,⁷⁻¹¹ providing a compelling argument that inherited gene defects potentially predispose individuals to AF per se or AF as part of other arrhythmic and/or cardiomyopathic syndromes. Thus, AF appears to be the result of a complex interaction between genetics and environmental factors.^{6,12-14}

The *KCNE1* gene forms the β -subunit of the potassium channel carrying the cardiac I_{Ks} current.¹⁵ Cardiac I_{Ks} channels contribute to atrial repolarization in the late phase of the action potential.¹⁶ A nonsynonymous, single-

From the ^aDepartment of Clinical Virology Faculty of medicine, University of Crete, Heraklion, Crete, Greece, ^bThrombosis Haemostasis and Vascular Biology Unit, University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom, ^cCardiology Department, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece, ^dDepartment of Cardiology, Onassis Cardiac Surgery Center, Athens, Greece, ^eResearch Unit, Army Share Fund Hospital, Athens, Greece, and ^fDepartment of Cardiac Surgery, Onassis Cardiac Surgery Center, Athens, Greece. Submitted November 21, 2012; accepted September 30, 2013.

Reprint requests: Demetrios A. Spandidos, PhD, DSc, Laboratory of Clinical Virology, Faculty of Medicine, University of Crete, 71110, Heraklion, Crete, Greece.

E-mail: spandidos@spandidos.gr

0002-8703/\$ - see front matter

© 2014, Mosby, Inc. All rights reserved.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ahj.2013.09.020>

nucleotide polymorphism (SNP) in the *KCNE1* gene (A to G substitution at position 112, rs1805127), leading to a glycine substitution for serine at amino-acid position 38 (S38G), was previously associated with increased AF incidence.^{17,18} Of note, the S38G variant in the *KCNE1* gene reduces I_{ks} current density and prolongs the atrial action potential duration, whereas familial AF-causing mutations in I_{ks} channel genes have all had gain-of-function effects.^{8,16}

In the present study, we assessed the impact of the *KCNE1* S38G polymorphism on the incidence of postoperative AF in a prospectively recruited cohort of patients subjected to cardiac surgery. To the best of our knowledge, no data are available on the effect of the *KCNE1* polymorphisms to postoperative AF.

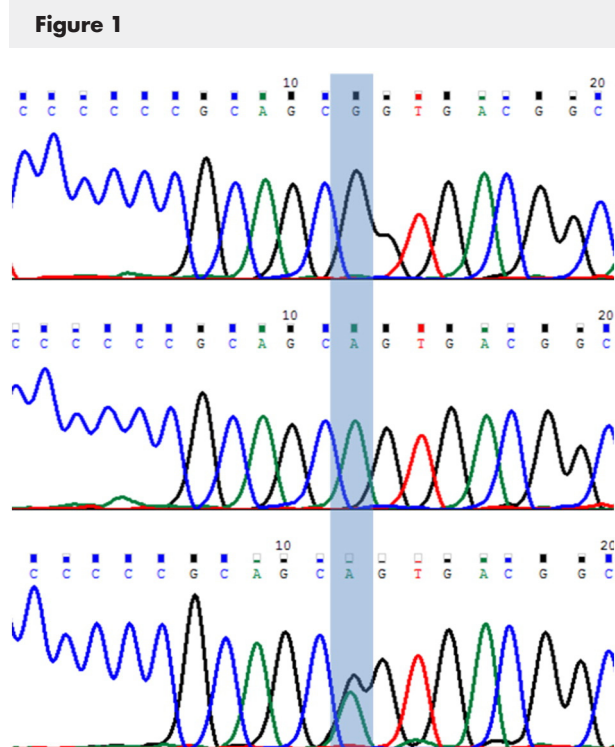
Methods

Study population

A prospective observational study was designed to assess the impact of polymorphisms of the *KCNE1* gene on susceptibility to AF associated with cardiac surgery. Patients undergoing cardiac surgery were prospectively recruited from the Onassis Cardiac Surgery Center of Athens, between January 2011 and May 2011. The study aimed for the consecutive enrollment of patients. Exclusion criteria included age <18 years, history of AF, or anatomic valvular heart disease predisposing to AF (atrial diameter on echocardiography >50 mm, or mitral stenosis). This study further excluded patients with mitral valve disease as the primary indication for cardiac surgery. However, we included cases necessitating intervention to the mitral valve if coronary artery disease was the primary indication for cardiac surgery. Each patient underwent a standardized interview and physical examination to identify past medical conditions, medication intake, and possible triggers for AF. All the patients received standard postsurgical care, including intensive care treatment for 24 to 72 hours postsurgery. Approval for the present study was obtained from the ethics committee of the Onassis Cardiac Surgery Centre, and all the study participants provided informed consent.

Clinical definitions and end points

New-onset AF occurring postoperatively and before hospital discharge was the study's end point. Qualifying episodes of AF were considered to be those episodes lasting >60 minutes requiring antiarrhythmic treatment or direct current cardioversion. All episodes were documented on telemetry and confirmed with 12-lead electrocardiogram. *Hypertension* was defined as systolic and/or diastolic blood pressure above the recommended upper limits by the European Society of Cardiology guidelines on the management of hypertension¹⁹ or treatment with an antihypertensive agent at the time of recruitment. *Diabetes mellitus* was defined as fasting glucose ≥ 126 mg/dL or oral glucose challenge ≥ 200 mg/dL after 2 hours or diabetes treated with oral antidiabetic agent, insulin, or both agents. *Hypercholesterolemia* was defined as a concentration of the serum cholesterol levels (≥ 200 mg/dL) or the use of lipid-lowering agents. Left ventricular ejection fraction was calculated using 2-dimensional echocardiography or left ventriculography during



Representative sequencing electrophoretograms depicting the SNP rs1805127 of the gene *KCNE1* (nucleic acid change, G112A; amino acid change, S38G).

cardiac catheterization. *Chronic renal failure* was defined as serum creatinine levels >2.0 mg/dL or treatment with dialysis.

Genotyping

Ten milliliters of blood was drawn from all the study participants. DNA was extracted following standard procedures.²⁰ Polymerase chain reaction (PCR) was performed to isolate a 508-fragment of the *KCNE1* gene framing the 112G>A locus and 6 previously described SNPs.²¹ In total, 192 PCR products were purified and subjected to direct sequencing at GATC Biotech (GATC Biotech, Konstanz, Germany) (Figure 1). For the remainder of the study, genotyping of the participant was performed by restriction fragment length polymorphism analysis. To the best of our knowledge, there is no known linkage disequilibrium between the polymorphism investigated in this study and other polymorphisms that can introduce bias in the reported associations.

Statistical analysis

Means and SDs were calculated for the continuous variables. Frequencies and percentages were calculated for the categorical variables. Continuous variables were analyzed using 1-way analysis of variance or independent-sample *t* test, whereas categorical variables were analyzed using the χ^2 or Fisher exact test as appropriate. The χ^2 test was used to test the deviation of genotype distribution from the predicted genotype frequencies based on the Hardy-Weinberg equilibrium. The

Table I. Demographic and clinical characteristics of the population studied

		No AF (n = 306)	AF (n = 203)	P
Age (mean ± SD)		64 (9)	68 (10)	<.0001
Age	<65	153 (50)	68 (33.5)	<.0001
	65-75	103 (33.7)	82 (40.4)	.133
	>75	50 (16.3)	53 (26.1)	.009
Female gender		42 (13.7)	34 (16.7)	.375
Risk factors				
Hypertension		180 (88.7)	259 (84.6)	.237
Diabetes		99 (32.4)	79 (38.9)	.130
Hyperlipidemia		267 (87.3)	172 (84.7)	.433
Current smoker		88 (43.3)	165 (46.1)	.585
Family history of CAD		131 (42.8)	79 (38.9)	.409
Myocardial infarction (history)		107 (35)	73 (36)	.850
Chronic renal failure		9 (2.9)	9 (4.4)	.463
Ejection fraction (mean ± SD)		52.4 (7.8)	51.5 (8)	.228
Ejection fraction	<35	2 (0.7)	2 (1)	.653
	35-44	44 (14.4)	33 (16.3)	.614
	45-54	84 (27.5)	69 (34)	.139
	>55	176 (57.5)	99 (48.8)	.06
Procedure characteristics				
CABG (isolated)		255 (83.3)	159 (78.3)	.165
CABG plus valve/aorta intervention		23 (7.5)	20 (9.8)	.416
Valve/aorta intervention (isolated)		28 (9.2)	24 (11.8)	.371
Off-pump CPB		20 (6.5)	8 (3.9)	.238
No. of grafts	1	32 (10.5)	18 (8.9)	.649
	2	104 (34)	66 (32.5)	.774
	>2	142 (46.4)	95 (46.8)	1.000
No. of arterial grafts	0	37 (12.1)	31 (15.3)	.184
	1	177 (57.8)	130 (64)	.167
	>1	92 (30.1)	42 (20.7)	.024
Concurrent valve repair		36 (11.8)	41 (20.2)	.011
Aortic valve replacement		32 (10.5)	40 (19.7)	.004
Mitral valve replacement/repair		6 (2)	3 (1.5)	1.000
Ascending aortic aneurysm		24 (7.8)	15 (7.4)	1.000
Pump duration (mean ± SD)		103 (44)	108 (37)	.263
Aortic clamp duration (mean ± SD)		74 (38)	76 (33)	.247
Perioperative medication				
β-Blockers preoperative		230 (75.2)	154 (75.9)	.916
Statins preoperative		257 (84)	156 (76.8)	.049
ACE inhibitors preoperative		205 (67)	144 (70.9)	.381
Amiodarone preoperative		—	—	—
β-Blockers postoperative		270 (88.2)	169 (83.3)	.116
Statins postoperative		224 (73.2)	143 (70.4)	.545
ACE inhibitors postoperative		104 (34)	59 (29.1)	.286
Amiodarone postoperative*		25 (8.2)	166 (81.8)	<.001
β-Blocker interruption		18 (5.9)	19 (9.4)	.163
Statin interruption		49 (16)	28 (13.8)	.529
ACE inhibitors interruption		128 (41.8)	98 (48.3)	.172
POAF risk index ²² (mean ± SD)		17 (11)	21 (12)	<.001

Values represent number or patients (percentages) unless otherwise indicated. Statistical significances are derived by the χ^2 /Fisher exact test analysis for categorical/dichotomous variables or independent-sample *t* test for continuous variables. CAD, Coronary artery disease; CABG, coronary artery bypass grafting; CPB, cardiopulmonary bypass; POAF, postoperative AF.

* Amiodarone postoperatively was given to patients after AF as antiarrhythmic treatment.

stepwise binary logistic regression analysis was used to assess factors independently associated with the study's outcome. The association between the 112G>A polymorphism of the *KCNE1* gene and postoperative AF was assessed by binary logistic regression analysis under a dominant, recessive, and additive genetic model.

Assuming a 30% event rate in the rare allele group and 0.45 rare allele frequency, with the given sample size, we will be able

to detect true odds ratios (ORs) for disease of 0.52 or 1.78 in the rare allele group relative to the common allele group with a probability (power) of 0.8. The Type I error probability associated with this test of the null hypothesis that this OR equals 1 is 0.05.

$P < .05$ was considered statistically significant. Analysis was performed with the SPSS version 17.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL) and the R statistical package (www.r-project.org).

Table II. Genotype and allele frequencies in the cohort

Genotype	Total cohort	No AF	AF	P*
GG	164 (32.2)	88 (28.8)	76 (37.4)	.042
AG	265 (52.1)	162 (52.9)	103 (50.7)	.651
AA	80 (15.7)	56 (18.3)	24 (11.8)	.062
G allele frequency	0.583	0.552	0.628	.016
Total	509	306 (60.1)	203 (39.9)	

* Statistical significances are derived by χ^2 /Fisher exact test.

The study was financially supported by University of Crete and Onassis Cardiac Surgery Center's research funds. No extramural funding was used to support this work. The authors are solely responsible for the design and conduct of this study, all study analyses, the drafting and editing of the manuscript, and its final contents.

Results

Clinical characteristics

In total, 509 patients were recruited in the study, with a mean age of 65 (SD 10), and 85.1% of these patients were male. Of the 509 patients, 203 (39.9%) presented at least 1 qualifying episode of AF postcardiac surgery. Clinical and demographic characteristics of the study population are summarized in Table I. Results of the univariate analysis showed that clinical factors associated with postoperative AF included age and type of surgery (aortic valve replacement and use of >1 arterial graft) (Table D).

Allele, genotype frequencies, and Hardy-Weinberg equilibrium

A 508-bp fragment of the coding sequence of *KCNE1* gene was screened for changes by direct sequencing, and 1 polymorphism was identified (112G>A). The allele frequency of the remaining 5 SNPs in our pilot cohort of 192 patients who underwent sequencing was <0.02, and they were not included in further analysis. Genotype and allele frequencies in the study's population are summarized in Table II. Observed allele frequencies were in accordance with expected frequencies by the Hardy-Weinberg equilibrium in the total cohort and the end point-positive and end point-negative subgroups (Table III).

The 112G>A polymorphism and incidence of postoperative AF

A higher frequency of G allele was observed in the postoperative AF group compared with the group without postoperative AF (0.628 vs 0.552, respectively, $P = .016$). Accordingly, the individual's relative risk of postoperative AF increased as the number of G alleles increased from 1.36 (95% CI 0.89-2.08) for G allele heterozygotes to 1.62 (95% CI 1.08-2.43) for G allele homozygotes ($P = .04$ for trend) (Figure 2).

Table III. Observed and expected genotype frequencies according to the Hardy-Weinberg equilibrium

	Observed			Expected			χ^2	P
	GG	AG	AA	GG	AG	AA		
Total cohort	164	265	80	172.72	247.57	88.72	2.52	.11
AF	76	103	24	80.08	94.84	28.08	1.5	.22
No AF	88	162	56	93.34	151.33	61.34	1.52	.22

The results of the multivariate stepwise binary regression analysis revealed that the abnormal ejection fraction, age, and type of surgery (aortic valve replacement) as well as the 112G>A genotype assessed under the dominant (GG or AG vs AA) and additive (risk of disease per no. of G alleles) effects were independent predictors of postoperative AF (Table IV). A model composing of these 4 factors (age, genotype, aortic valve replacement, and abnormal ejection fraction) could explain 10% of the variation in the binary outcome.

Two models including clinical factors and clinical and genotype factors were developed. A comparison of these models is summarized in Table V.

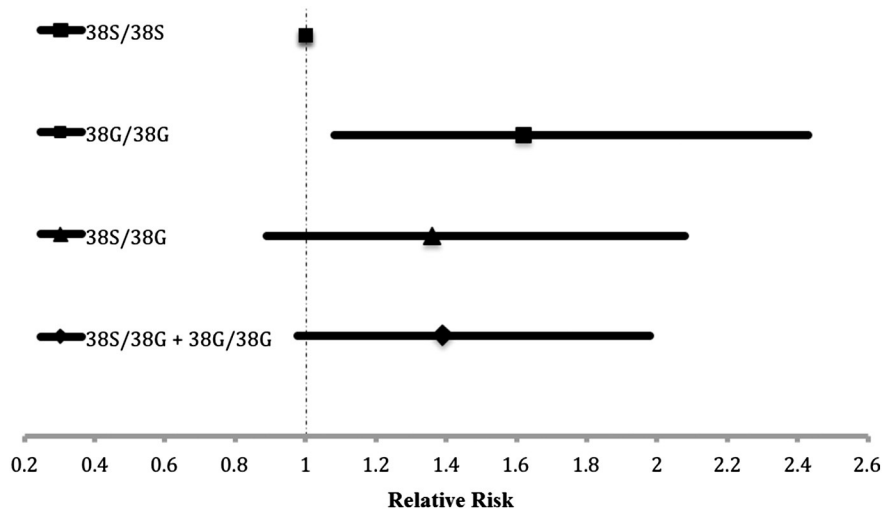
No association was observed between the 112G>A polymorphism and demographic or clinical factors, including severity of coronary artery disease and left ventricular systolic dysfunction.

Discussion

This is the first study assessing the *KCNE1* gene polymorphisms as potential predisposing factors for postoperative AF in white subjects. Our results showed an association between the number of G alleles and the risk of postoperative AF. Patients with 2 G alleles have an approximately 60% higher risk for postoperative AF, using the AA genotype as the baseline risk. Moreover, the multiple logistic regression analysis demonstrated that this effect was independent of patient- and operation-related factors, including periprocedural medication (β -blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, statins), and type of procedure. Our findings are in agreement with previous epidemiological observations that suggested an association between the 112G>A polymorphism and AF in general population^{17,18} and functional studies that demonstrated an important impact of the 112G>A polymorphism on the regulation of the I_{ks} current.¹⁶

Postoperative AF is the most common complication of cardiac surgery and an ideal setting for assessing genetic predisposition to AF.^{1,2} It provides an opportunity for prospective recruitment of an AF-naive population, possibly to present AF at a given time point and with an extremely high event rate. The reasons for some patients developing postoperative AF, whereas others do not, remain unclear. It has been hypothesized that

Figure 2



Relative risk for AF. Ratios were calculated compared with patients with minK 38S/38S genotype. Bars, 95% CIs.

Table IV. Clinical and genetic factors independently associated with postsurgery AF in stepwise binary logistic regression analysis

Recessive model	OR	95% CI		P
		Lower	Upper	
<i>Genotype</i>				
GG	1.477	0.978	2.233	.064
Age (y)	1.041	1.041	1.062	<.001
Aortic valve replacement	1.880	1.105	3.195	.020
Abnormal ejection fraction*	1.605	1.093	2.353	.016
<i>Dominant model</i>				
<i>Genotype</i>				
GG or AG	1.751	1.007	3.045	.047
Age (y)	1.042	1.021	1.063	<.001
Aortic valve replacement	1.845	1.082	3.144	.024
Abnormal ejection fraction*	1.600	1.088	2.353	.017
<i>Additive model</i>				
<i>Genotype</i>				
No. of G alleles	1.401	1.052	1.865	.021
Age (y)	1.043	1.022	1.064	<.001
Aortic valve replacement	1.869	1.094	3.194	.022
Abnormal ejection fraction*	1.585	1.076	2.331	.020

Dominant, recessive, and additive genetic models were assessed. Variables entered in step 1 model: age, gender, diabetes mellitus, hypertension, smoking, hyperlipidemia, family history of coronary artery disease, chronic renal failure, type of surgery, and number of arterial grafts.

*Defined as ejection fraction <0.55.

inflammation, oxidative stress, and sympathetic activation can potentially trigger AF in the fraction of postcardiac surgery patients predisposed to AF.¹ Several factors have been shown to confer susceptibility to AF post surgery, including clinical and genetic factors. Notably, some of the most potent clinical risk factors for postoperative AF (age and structural heart disease)

Table V. Comparison of prediction models with and without genotype data

	Clinical model*	Clinical/genotype model*
Log likelihood	655.9	649.5
HL χ^2 (df)	2.111 (8)	7.596 (8)
Nagelkerke's R^2	0.074	0.090
Area under the curve	0.638 (0.590-0.687)	0.655 (0.606-0.703)

*The clinical model includes age, abnormal ejection fraction, and aortic valve replacement. The clinical/genotype model includes the clinical factors plus number of G alleles. HL, Hosmer and Lemeshow.

also confer susceptibility to AF in the general population.^{5,22-24} In our analysis, as in most previous studies, age, type of surgery (aortic valve replacement), and impaired left ventricular systolic emerged as independent predictors of postsurgical AF.²²⁻²⁴

Genetic variability of the *KCNE1* gene has been previously associated with AF.^{17,18} *KCNE1* encodes the β -subunit of cardiac I_{ks} channel, and its expression in atrial tissue is documented both at the messenger RNA and protein level.¹⁸ The *KCNE1* 38G variant has been associated with a higher risk of AF in a number of different ethnic populations.^{17,18} Cardiac I_{ks} channels are capable of modulating the action potential duration and restitution properties of the atrial tissue as part of their contribution in the slowly activating delayed rectifier potassium current.

Currently, the functional role of *KCNE1* in the pathogenesis of postoperative AF is unclear. Ehrlich et al¹⁶ have demonstrated that the *KCNE1* 38G isoform is associated with a reduced I_{ks} current and increased action potential duration, possibly due to a decreased

Iks channel membrane expression. Furthermore, Heerd et al²⁵ showed that there is a strong correlation between atrial *KCNE1* down-regulation and postoperative AF in Sinclair swine.

For the present analysis, a prospective study design with a sufficient sample size was used to detect clinically relevant phenotype-genotype interactions, taking into consideration all possible clinical and demographic characteristics. Targeted SNP analysis was carried out, selecting the 112G>A *KCNE1* gene polymorphism due to the existing convincing evidence of its role in the pathophysiology of AF derived from both electrophysiological and genetic-epidemiological studies. Direct sequencing of a large part of the gene's coding sequence confirmed the existence of one polymorphism (112G>A) with clinically relevant allele frequency, in accordance with previously published data.²¹

The pathophysiologic background underlying this association is not clear. The role of *KCNE1* gene is not well defined, and the functional consequences of the S38G polymorphism are poorly understood. It is possible that the prolongation of the action potential duration associated with reduced Iks current provides a substrate for atrial arrhythmias that can become clinically evident in the presence of inflammatory, chemical, mechanical, or electrical triggers. However, the exact mechanism linking causative genetic variants with clinical outcome and susceptibility to AF remains to be elucidated.

Limitations

This is a single-center study consisting only of South European whites limited by the lack of external validations. Thus, the results obtained in this study cannot be extrapolated in different ethnic groups and should be further validated. Despite that, in our cohort, the S38G genotype appears to improve the predictive performance of clinical data, safe conclusions cannot be made without an external validation. Nevertheless, our findings are supported by previous epidemiological observations and functional studies.¹⁶⁻¹⁸

Every effort has been made to exclude history of AF from the recruited population. However, the presence of asymptomatic AF in our sample cannot be excluded, although an accurate interview weighted to symptoms associated with dysrhythmias has been performed. We used a short follow-up period (postoperative hospitalization), following the study design of previous studies in the field. Thus, AF episodes that occurred after hospital discharge were missed. There are likely factors that could predispose to postoperative AF that were not validated in this analysis including inflammatory and oxidative stress markers. Finally, results from the setting of postoperative AF, although suggestive of possible genotype-phenotype interactions, cannot be extrapolated in the general population.

Conclusion

In the present study, we confirmed the association of the 112G>A polymorphism of the *KCNE1* gene and postoperative AF in a cohort of patients undergoing cardiac surgery. In addition, we demonstrated that a number of patient- and surgery-related factors, including age, abnormal left ventricular ejection fraction, type of surgery, and the 112G>A genotype accounted for a significant part of the risk for postoperative AF. Prospective interventional studies using preoperative risk profile (clinical and genetic) to apply preventive strategies are, therefore, required to determine the potential clinical implications of this association.

See the online Appendix Supplementary Figure.

Disclosures

All authors have no conflicts of interest or relationship with the industry to declare related to this work.

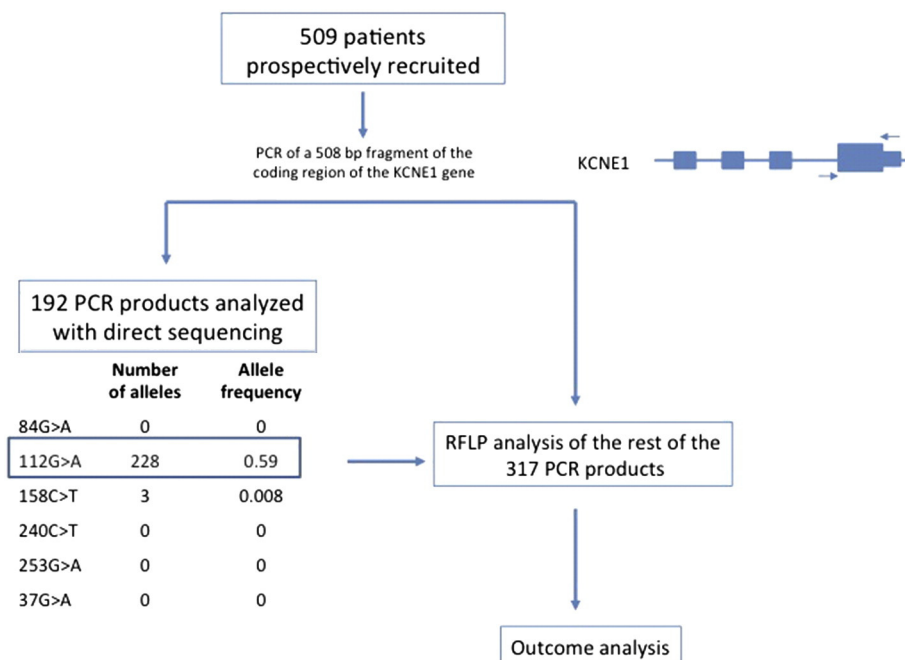
References

1. Maesen B, Nijs J, Maessen J, et al. Post-operative atrial fibrillation: a maze of mechanisms. *Eurpace* 2012;14:159-74.
2. Crystal E, Garfinkle MS, Connolly SS, et al. Interventions for preventing post-operative atrial fibrillation in patients undergoing heart surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;4:bCD003611.
3. Curtis JJ, Parker BM, McKenney CA, et al. Incidence and predictors of supraventricular dysrhythmias after pulmonary resection. *Ann Thorac Surg* 1998;66:1766-71.
4. Almassi GH, Schowalter T, Nicolosi AC, et al. Atrial fibrillation after cardiac surgery: a major morbid event? *Ann Surg* 1997;226:501-11.
5. Aranki SF, Shaw DP, Adams DH, et al. Predictors of atrial fibrillation after coronary artery surgery. Current trends and impact on hospital resources. *Circulation* 1996;94:390-7.
6. Brugada R, Tapscott T, Czernuszewicz GZ, et al. Identification of a genetic locus for familial atrial fibrillation. *N Engl J Med* 1997;336:905-11.
7. Ellinor PT, Lunetta KL, Albert CM, et al. Meta-analysis identifies six new susceptibility loci for atrial fibrillation. *Nat Genet* 2012;44(6):670-5.
8. Olesen MS, Bentzen BH, Nielsen JB, et al. Mutations in the potassium channel subunit *KCNE1* are associated with early-onset familial atrial fibrillation. *BMC Med Genet* 2012;13:24.
9. Ritchie MD, Denny JC, Zuvich RL, et al. Genome- and phenome-wide analyses of cardiac conduction identifies markers of arrhythmia risk. *Circulation* 2013;127(13):1377-85.
10. Olesen MS, Jabbari J, Holst AG, et al. Screening of *KCNN3* in patients with early-onset lone atrial fibrillation. *Eurpace* 2011;13:963-7.
11. Olesen MS, Refsgaard L, Holst AG, et al. A novel *KCNQ3* gain-of-function mutation associated with early-onset of persistent lone atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2013;98:488-95.
12. Garg A, Speckman RA, Bowcock AM. Multisystem dystrophy syndrome due to novel missense mutations in the amino-terminal head and alpha-helical rod domains of the lamin A/C gene. *Am J Med* 2002;112:549-55.
13. Sébillon P, Bouchier C, Bidot LD, et al. Expanding the phenotype of LMNA mutations in dilated cardiomyopathy and functional consequences of these mutations. *J Med Genet* 2003;40:560-7.

14. Tsai CT, Lai LP, Lin JL, et al. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and atrial fibrillation. *Circulation* 2004;109:1640-6.
15. Osteen JD, Sampson KJ, Kass RS. The cardiac IKs channel, complex indeed. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:18751-2.
16. Ehrlich JR, Zicha S, Coutu P, et al. Atrial fibrillation-associated minK 38G/S polymorphism modulates delayed rectifier current and membrane localization. *Cardiovasc Res* 2005;67:520-8.
17. Fatini C, Sticchi E, Genuardi M, et al. Analysis of minK and eNOS genes as candidate loci for predisposition to non-valvular atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2006;27:1712-8.
18. Lai LP, Su MJ, Yeh HM, et al. Association of the human minK gene 38G allele with atrial fibrillation: evidence of possible genetic control on the pathogenesis of atrial fibrillation. *Am Heart J* 2002;144:485-90.
19. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. The task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension, the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007;28:1462-536.
20. Tsapaki A, Zaravinos A, Apostolakis S, et al. Genetic variability of the distal promoter of the ST2 gene is associated with angiographic severity of coronary artery disease. *J Thromb Thrombolysis* 2010;30:365-71.
21. Ellinor PT, Petrov-Kondratov VI, Zakharova E, et al. Potassium channel gene mutations rarely cause atrial fibrillation. *BMC Med Genet* 2006;7:70.
22. Mathew JP, Fontes ML, Tudor IC, et al, Investigators of the Ischemia Research and Education Foundation; Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. A multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery. *JAMA* 2004;291:1720-1729.
23. Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, et al. Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort: the Framingham heart study. *JAMA* 1994;271:840-4.
24. Siebert J, Anisimowicz L, Lango R, et al. Atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting: does the type of procedure influence the early postoperative incidence? *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19:455-9.
25. Heerdt PM, Kant R, Hu Z, et al. Transcriptomic analysis reveals atrial *KCNE1* down-regulation following lung lobectomy. *J Mol Cell Cardiol* 2012;53(3):350-3.

Appendix

Supplementary Figure



Outline of the study design and the methods that have been used. Six polymorphisms have been previously identified in the 508-bp gene fragment (84G>A, 112G>A, 158C>T, 240C>T, 253G>A, 37G>A).²¹ Two were detected in our population. The 158C>T is a synonymous polymorphism with allele frequency in our sample 0.008. Thus, further analysis by restriction fragment length polymorphism was carried out only for the 112G>A polymorphism. The structure of the KCNE1 gene is also illustrated. Thin lines represent introns, whereas exons are depicted as boxes. Small boxes are noncoding regions, and large boxes are coding regions. Arrows indicate the location of PCR primers (gene size 65,585 bp).